اثر بربرین کلراید بر استرس اکسیداتیو هیپوکمپ موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین

حمید کلالیان مقدم[1*]، توراندوخت بلوچ نژاد مجرد[2]، مهرداد روغنی[3]، مهدی خاکساری[1]، پیراسته نوروزی[1]، مژگان فضلی[1]، ملیحه آهویی[1]

۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود

۲) گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳) مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه شاهد تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۱۵

چکیده

مقدمه: دیابت، خطر ابتلای سیستم اعصاب مرکزی(CNS) به اختلالاتی مانند سکته مغزی، تشنج، زوال عقل و اختلال شناختی را افزایش می دهد. بربرین یک آلکالوئید ایزوکوئینولین طبیعی است که اثربخشی آن بر اختلالات نورودژنراتیو در مطالعات اخیر گزارش شده است. هم چنین ثابت شده است، هیپرگلیسمی از طریق فرایندهای آنزیمی و غیر آنزیمی موجب القای اکسیداسیون خود به خودی گلوکز گردیده و با تحریک تولید قطعات اکسیژنی و نیتروژنی فعال، منجر به استرس اکسیداتیو می شود هم چنین تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژن(ROS) می تواند، سبب آسیب DNA و پروتئین ها شده، بر عملکرد گیرنده ها، آنزیم ها، انتقال پروتئین ها، و غیره تاثیر گذارده و آنزیم های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و یا آنزیم های مشارکت کننده در ترمیم را غیر فعال نماید.

مواد و روش ها: در این مطالعه ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی انتخاب و به پنج گروه: کنترل، کنترل تیمار شده با بربرین(۱۰۰mg/kg)، دیابتی، دیابتی تیمار شده با بربرین(۵۰mg/kg) و دیابتی تیمار شده با بربرین(۱۰۰mg/kg) تقسیم شدند. دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین(STZ) با دوز ۶۰ mg/kg به صورت درون صفاقی القاء گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با بربرین با دوز ۱۰۰mg/kg/day و ۵۰ به مدت هشت هفته به صورت خوراکی انجام گردید. قندخون در هفته های ۲، ۴، ۶ و ۸ پس از تزریق STZ با خون گیری از سیاهرگ دمی اندازه گیری شد. پراکسیداسیون لیپیدی، سطح نیتریت و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان شاخص های استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ اندازه گیری شد. در پایان داده های گروه ها با نرم افزار آماری prism 5 و آزمون های one way ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شدند.

یافته های پژوهش: هشت هفته پس از القای دیابت، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و افزایش سطح نیتریت در هیپوکامپ موش های دیابتی، نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. تجویز طولانی مدت بربرین(۱۰۰ mg/kg، ۵۰ روزانه) سبب بهبودی استرس اکسیداتیو در مغز موش های دیابتی گردید.

بحث و نتیجه گیری: پژوهش حاضر نشان داد که درمان با بربرین به طور معنی داری منجر به کاهش استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی شده با STZ گردید.

واژه های کلیدی: دیابت ملیتوس، بربرین، استرس اکسیداتیو، اختلال شناختی، موش صحرایی

* **نویسنده مسئول:** گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود

Email*: *h.kalalian@gmail.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]

مقدمه

دیابت ملیتوس به طور عمده با اختلالات دژنراتیو و عملکردی سیستم عصبی مرکزی همراه است،(۱). شواهد متعددی نشان می دهد مسیر مشترک نهایی که از آن طریق عوامل خطر ابتلا به چندین بیماری از جمله دیابت، آثار مخرب خود را اعمال می نمایند، استرس اکسیداتیو است. گونه های اکسیژن فعال(ROS) که از رادیکال های آزاد اکسیژن و دیگر ترکیبات شیمیایی تشکیل شده، می - توانند منجر به پیشرفت استرس اکسیداتیو در بدن و در نتیجه سبب مرگ نورونی گردند که باعث نوروپاتولوژی مرتبط با دیابت می شود،(۲). علاوه بر این، ROS می تواند اکسید نیتریک(NO) را درگیر کند و قندخون بالا نیز سطح سوپراکسید دیسموتاز(SOD) را که یک آنزیم مهم آنتی اکسیدان است کاهش داده و پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش دهد،(۳). بافت مغز غنی از فسفولیپیدهایی است که می تو اند مورد حمله گونه های بسیار واکنش پذیر اکسیژن(ROS) برای شروع پراکسیداسیون لیپید قرار گیرد،(۴،۵). پراکسیداسیون لیپید منجر به تولید آلدئیدهای سمی گردیده که یکی از سمی ترین آن ها، مالون دی آلدئید است. (MDA) مالون دی آلدئید ترکیبی بی رنگ و محصول نهایی حاصل از تجزیه پر اکسید چربی است که در حال حاضر به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته می شود. از این رو می توان با اندازه گیری میزان MDA به مقدار آسیب لیپیدهای سلولی در برابر اکسیداسیون پی برد،(۶). بربرین آلکالوئید ایزوکوئینولین است که بنا بر مطالعات دارای آثار ضد اضطرابی، ضد درد، ضد التهابی، آنتی سایکوتیکی، ضد افسردگی و نیز دارای آثار محافظتی بر حافظه است،(۷،۸). تعدادی از مطالعات بالینی و پاراکلینیکی آثار مفید بربرین را در دیابت نشان داده اند که به طور عمده به: افزایش بیان انسولین، بازسازی سلول های B و توان آنتی اکسیدانی آن نسبت داده می شود،(۹،۱۰). علاوه بر این، بربرین فعالیت آنزیم استیل کولین استراز را مهار کرده و نقش مهمی در سندرم متابولیک دارد.(۱۱)

هم چنین مشخص شده که اثر ضد فراموشی بربرین مربوط به افزایش فعالیت کولینرژیک سیستم عصبی مرکزی و محیطی است،(۱۲). به تازگی نیز گزارش شده که بربرین اثرات مفیدی بر روی سلامت و عملکرد سیتم عصبی داشته و نیز می تواند نورون ها را از آسیب های مختلف مغز حفاظت کند،(۱۳). بنا بر این، در این مطالعه ما اثر تجویز طولانی مدت بربرین(خوراکی) را بر بهبود استرس اکسیداتیو هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش ها

حیوانات: تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار(انستیتو پاستور، تهران، ایران) با وزن gr ۲۸۵-۲۲۵ در حیوان خانه دارای تهویه مطبوع و با چرخه روشنایی/تاریکی قرار داده شدند میزان دمای محیط ۲۳-۲۱ درجه سانتی گراد و رطوبت آن۴۰-۳۰ درصد بود و به طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. قابل ذکر است که نکات اخلاقی در رابطه با نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق دستورالعمل NIH در تمام مدت کار رعایت گردیده است. موش ها به طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند: گروه کنترل دیابتی، دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید(mg/kg ۵۰)، دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید(mg/kg ۱۰۰)، کنترل سالم و گروه غیردیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید(mg/kg ۱۰۰). داروهای به کار رفته در این مطالعه نیز شامل: بربرین هیدروکلراید و استرپتوزوتوسین(شرکت سیگما آلدریچ، سنت لوئیس، MO) بود. تمامی داروها در دو برابر حجم آب حل شد به جزء STZ، که در بافر سیترات(pH =۴/۴) حل شد. داروها در زمان مصرف حل و آماده می شد. القای دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین(۵۵mg/kg) حل شده در بافر سیترات(۰/۱M با pH=۴/۴) انجام شد. به منظور کاهش مرگ و میر موش های تحت تزریق STZ ناشی از شوک قندخون، موش های تحت تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۲۴ ساعت پس از تزریق STZ، به جای آب محلول گلوکز ۵ درصد دریافت نمودند. برای اندازه گیری قندخون ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ ، نمونه خون از سیاهرگ دمی گرفته شد. حیوانات کنترل، تحت تزریق حجم معادل از نرمال سالین قرار گرفتند. یک هفته پس از تزریق STZ، نمونه خون ناشتای حیوانات گرفته شد و غلظت گلوکز سرم با استفاده از روش اکسیداسیون گلوکز(Zistshimi، تهران) اندازه گیری گردید. حیونات با قندخون بالاتر از ۲۵۰mg/dl به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. روزی که در آن قندخون تایید شد، به عنوان روز صفر تعیین شد.

یک هفته بعد از تزریق STZ، بربرین کلراید به صورت خوراکی در دوزهای mg/kg/day ۱۰۰ و ۵۰ به مدت ۱۲ هفته تجویز شد. تست های بیوشیمیایی در پایان مطالعه به شرح زیر انجام شد.

تعیین غلظت مالون دی آلدئید هیپوکامپ: رت ها با کتامین(دوزmg/kg ۱۰۰) بیهوش شده، مغز جدا شد و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]

سومین بخش قدامی چپ از بلوک مغز میانی چپ جدا شده، وزن شد و سپس بافت هموژنیزه ۱۰ درصد در محلول سالین سرد ۰/۹ درصد تهیه شد، برای حذف ذرات، از سانتریفیوژ(۱۰۰۰×g، ۴ درجه سانتی گراد، ۱۰ دقیقه) استفاده شد محلول رویی به دست آمده، جمع‌آوری شد و در دمای ۸۰° - نگهداری شد تا مورد سنجش قرار گیرد. غلظت MDA(ماده فعال اسید تیوباربیتوریک= TBARS) در محلول رویی جمع آوری شده اندازه گیری شد. به طور خلاصه، تری کلرواستیک اسید و معرف TBARS به محلول رویی اضافه شد، پس از آن مخلوط شده و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۸۰ دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. سپس بر روی یخ خنک گردید، نمونه ها در دور ۱۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و قدرت جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. نتایج TBARS به عنوان معادل MDA با استفاده از منحنی استاندارد تترا اتانوکسی پروپان بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز هیپوکامپ: اساس این اندازه گیری بر مهار احیا نیتروبلوتترازولیوم توسط سیستم گزانتین-گزانتین اکسیداز به عنوان تولید کننده سوپراکسید می باشد. در این آزمایش از محلول کاری شامل: گزانتین، گزانتین اکسیداز در بافر پتاسیم فسفات و نیتروبلوتترازولیوم استفاده شد. جذب نوری هر نمونه در طول موج نوری ۵۵۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه هر ۳۰ ثانیه یک بار خوانده شد. برای به دست آوردن درصد مهار احیا NBT انجام شده توسط آنزیم SOD، داده های به دست آمده از فرمول مربوطه بر اساس دستورالعمل کیت استفاده شد. با انطباق درصد مهار بر روی منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم به دست آمد و فعالیت آن برحسب واحد بین الملل در میلی گرم پروتئین گزارش شد.(۱۴)

سنجش نیتریت هیپوکامپ: سنجش میزان نیتریت بر اساس واکنش گریس انجام شد. به علت این که سنجش مستقیم نیتریک اکساید در بافت های زنده مشکل است، میزان نیتریت و نیترات به عنوان شاخصی برای نیتریک اکساید محسوب می شود. محلول کاری شامل سولفانیل آمید ۱ درصد، نفتیلن اتیلن دی آمید دی هیدرو کلرید ۰/۱ درصد و ارتو فسفریک اسید ۲/۵ درصد بود. برای سنجش آن ml ۱ از بافت هموژنیزه و ml ۱ از محلول گریس استفاده شد. مخلوط این دو به مدت ۱۰دقیقه در درجه حرارت اتاق نگهداری شد و جذب نوری آن در طول موج نوری ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و برای منحنی استاندارد از رقت های مختلف نیتریت سدیم استفاده گردید.(۱۴)

سنجش محتوای پروتئینی: سنجش محتوای پروتئینی مایع رویی با روش برادفورد و استفاده از سرم آلبومین گاوی(شرکت سیگما، سنت لوئیس، MO) به عنوان استاندارد انجام شد.(۵)

تجزیه و تحلیل آماری: در این تحقیق نتایج به صورت Mean±SEM بیان شد. برای مقایسه داده های سنجش های بیوشیمیایی از آزمون one-way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. نرم افزار آماری مورد استفاده PRISM, Graph Pad software Inc, USA بوده و P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

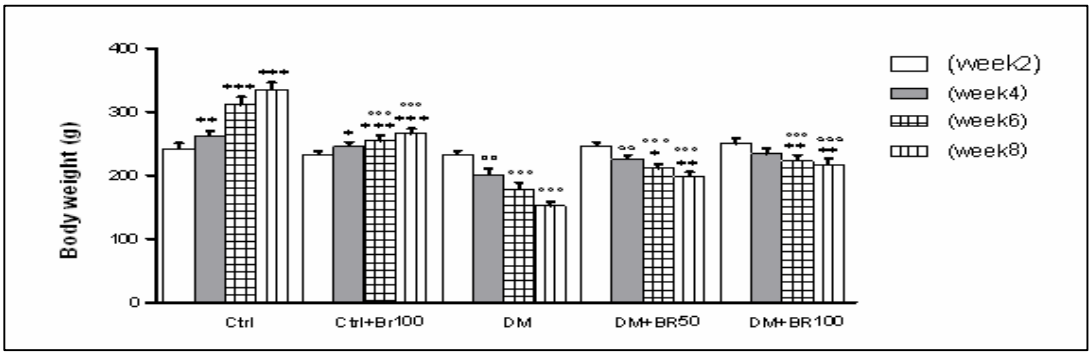
دو هفته پس از تزریق STZ، دو تا از موش های گروه تحت درمان با بربرین با توجه به عوارض ناشی گاواژ مردند و از مطالعه حذف شدند. وزن موش های گروه دیابتی کنترل در هفته سوم کاهش معنی داری($P<0.01$) نسبت به گروه کنترل سالم داشت. علاوه بر این، در هفته پنجم پس از تزریق STZ، درمان مزمن با بربرین(۱۰۰mg/kg و ۵۰) سبب افزایش معنی دار وزن بدن در موش های صحرایی دیابتی تحت درمان شد.(به ترتیب $P<0.05$و $P<0.001$)(نمودار شماره ۱) هم چنین در موش صحرایی دیابتی نیز سطح گلوکز سرم خونی بیش از گروه کنترل بود($P<0.001$) و درمان موش صحرایی دیابتی شده با بربرین در هر دو دوز(۱۰۰mg/kg و ۵۰) طی مدت ۶ هفته باعث کاهش قابل توجهی در گلوکز سرم($P<0.001$) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی گردید. علاوه بر این، در گروه کنترل تحت درمان با بربرین(دوز ۱۰۰mg/kg) نیز کاهش در وزن و سطح گلوکز سرم بیش از گروه کنترل بود.(نمودار شماره ۲)

دیابت(ناشی از STZ) منجر به افزایش قابل ملاحظه ای در سطح مالون دی آلدئید هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل شد.(نمودار شماره ۳) تجویز بربرین(۵۰،۱۰۰mg/kg) سبب کاهش قابل توجه سطح مالون دی آلدئید در هیپوکامپ هموژنه شده نسبت به گروه دیابتی کنترل گردید. به طور مشابه، میزان نیتریت در هیپوکامپ هموژنه گروه شاهد دیابتی به طور قابل توجهی افزایش یافته بود و در گروه تحت درمان با بربرین به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش یافته بود.(نمودار شماره ۴)

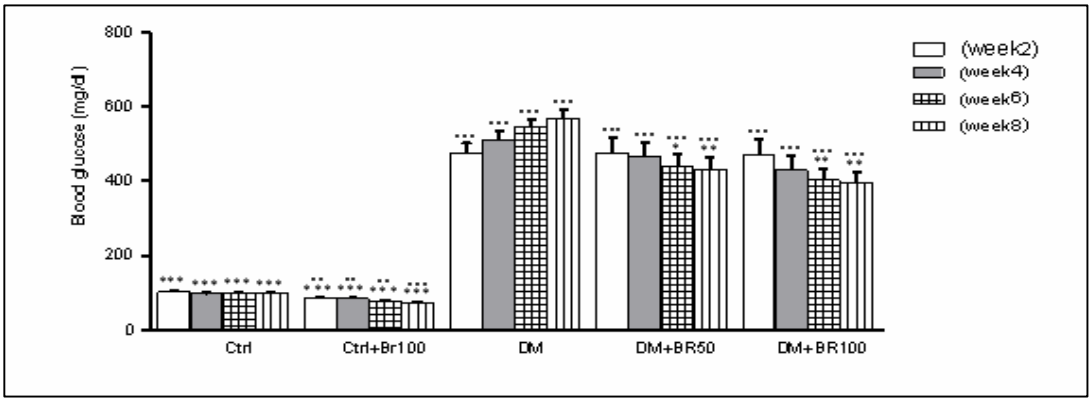
سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت های ناحیه هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی کاهش معنی داری

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]

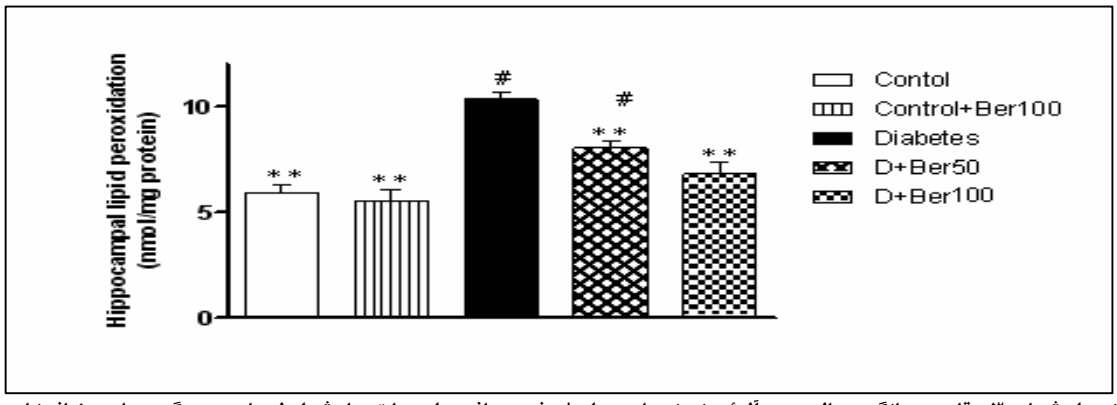
نسبت به گروه کنترل غیردیابتی نشان داد. درمان با بربرین(۵۰،۱۰۰mg/kg) به طور قابل توجهی سبب افزایش معنی دار سطح سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با موش صحرایی کنترل دیابتی گردید.($P<0.05$) بربرین به خودی خود سطح GSH را تحت تاثیر قرار نمی دهد.(نمودار شماره ۵)



نمودار شماره ۱. مقایسه وزن بدن حیوانات در هفته دوم، چهارم، ششم و هشتم نتایج به صورت(میانگین±انحراف معیار) بیان شده است.
تفاوت معنی دار با گروه دیابتی($P<0.05$)*،($P<0.01$)،($P<0.001$)*****
تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل($P<0.05$)^{o}،($P<0.01$) ^{oo}، ($P<0.001$) ^{ooo}

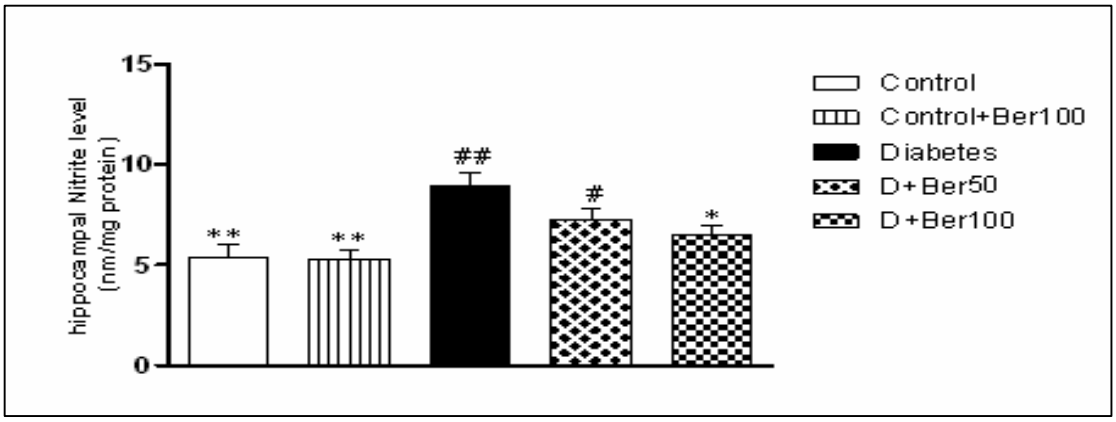


نمودار شماره ۲. مقایسه قندخون حیوانات در هفته دوم، چهارم، ششم و هشتم نتایج به صورت(میانگین±انحراف معیار) بیان شده است.
تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی($P<0.05$)*، ($P<0.01$)، ($P<0.001$)*****
تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل($P<0.05$)^{o}، ($P<0.01$) ^{oo}، ($P<0.001$) ^{ooo}

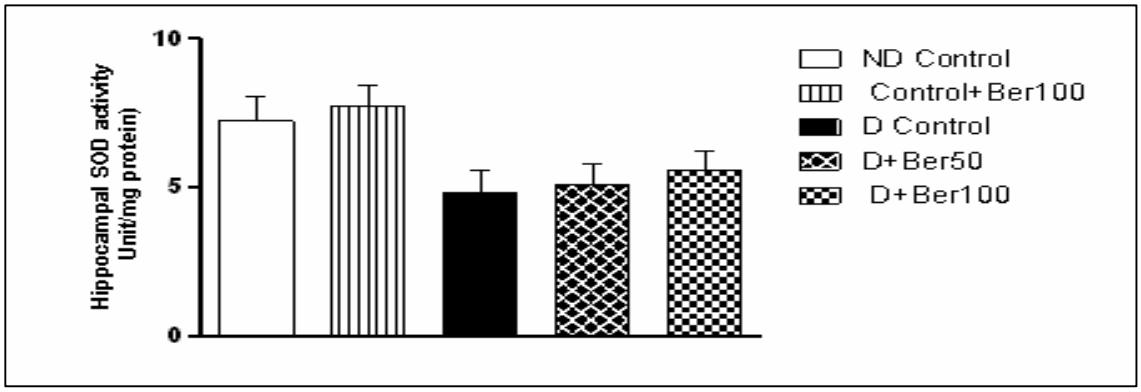


نمودار شماره ۳. مقایسه میانگین مالون دی آلدئید نمونه ها پس از ۸ هفته دریافت دارو، یا تحمل شرایط دیابت بین گروه های مختلف نتایج به صورت(میانگین±انحراف معیار) بیان شده است.
تفاوت معنی دار با گروه دیابتی ($P<0.05$)*، ($P<0.01$)، تفاوت معنی دار با گروه کنترل($P<0.05$)#**

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]



نمودار شماره ٤. مقایسه میانگین نیتریت نمونه ها پس از ۸ هفته دریافت دارو یا تحمل شرایط دیابت بین گروه های مختلف نتایج به صورت(میانگین±انحراف معیار) بیان شده است.
تفاوت معنی دار با گروه دیابتی(P<0.05)*، (P<0.01)، تفاوت معنی دار با گروه کنترل(P<0.05)#، (P<0.01)##**



نمودار شماره ٥. مقایسه میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز(SOD) نمونه ها پس از ۸ هفته دریافت دارو، یا تحمل شرایط دیابت بین گروه های مختلف نتایج به صورت(میانگین±انحراف معیار) بیان شده است. تفاوت معنی داری بین گروه ها با(P<0.05) مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه نشان داده شد که تجویز بربرین در موش های صحرایی دیابتی، به مدت هشت هفته، علاوه بر کاهش قندخون، به طور معنی داری سبب کاهش استرس اکسیداتیو گردید. در واقع کاهش معنی دار سطح نیتریت و فرآورده های پراکسیداسیون لیپید و افزایش فعالیت سوپراکسیددسموتاز نشان‌دهنده تاثیر بربرین در پیشگیری از ایجاد نوروپاتی در گروه های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می باشد. پاتولوژی نوروپاتی دیابت از چندین مکانیسم مرتبط تشکیل شده است،(۱۵،۱۶). هیپرگلیسمی از طریق فرایندهای آنزیمی و غیر آنزیمی موجب القای اکسیداسیون خود به خودی گلوکز گردیده و با تحریک تولید قطعات اکسیژنی و نیتروژنی فعال،(۱۷)، منجر به استرس اکسیداتیو می شود،(۱۸). و تقریباً در این زمینه دارویی که به طور مسقیم قادر به درمان نوروپاتی دیابتی باشد، وجود ندارد.(۱۹)

مطالعات مشابه نشان داده است که در افراد مبتلا به دیابت هر دو عامل یعنی تولید ترکیبات واکنش گر اکسیژن دار(ROS) افزایش و دفاع آنتی اکسیدانی کاهش می یابد،(۲۰). لذا این پاتولوژی ما را بر آن داشت تا ضمن ارزیابی میزان استرس اکسیداتیو در ناحیه هیپوکامپ نمونه های دیابتی و تحت درمان به بررسی مکانیسم عملکرد بربرین در مهار استرس اکسیداتیو با ۳ شاخص: میزان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]

نیتریت، میزان مالون دی آلدئید و میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز بافت هیپوکامپ بپردازیم. در مجموع شواهد متعددی اختلالات مرتبط با استرس اکسیداتیو را در بیماران دیابتی نشان داده و ارتباط معنی داری را بین کنترل قندخون و بهبود این اختلالات نشان داده اند،(۲۸،۲۹). نتایج مطالعات نشان می دهد که عملکرد بربرین در کاهش گلوکز سلول های کبدی مشابه متفورمین، مستقل از انسولین بوده تاثیری بر ترشح انسولین ندارد. هم چنین قادر است به عنوان یک عامل مؤثر حساس به انسولین و انسولینوتروپیک در مطالعات کشت سلولی عمل کند،(۲۱)، آزمایشات دیگری نشان داد که بربرین آثار هیپوگلیسمی خود را حداقل تا حدودی به سبب مهار آنزیم α–گلوکوزیداز اعمال می کند. علاوه بر این، ممکن است تا حدودی انتقال قند از اپیتلیوم روده به خون را نیز کاهش دهد،(۲۲). در این بررسی نیز درمان طولانی مدت با بربرین(۵۰،۱۰۰mg/kg) سبب کاهش سطح گلوکز خون و افزایش وزن بدن در موش های صحرایی دیابتی گردید که به خوبی مطالعات قبلی را تایید می‌نماید،(۲۳،۲۴). NO پس از سنتز، قادر است با ملکول اکسیژن واکنش کرده و N2O3 تولید کند که N2O3 نیز به نوبه خود با ملکول های اکسیژن از قبیل: سوپر اکسید(O_2^-) واکنش کرده و پراکسی نیتریت(-ONOO) تولید می کند که این ماده موجب تخریب بافت ها می شود،(۲۵)، لذا میزان نیتریت می تواند به عنوان شاخصی معتبر،(۲۶)، برای ارزیابی استرس اکسیداتیو در نمونه ها به کار رود،(۲۷،۲۸). بررسی میزان نیتریت در بافت هیپوکامپ نشان دهنده افزایش آن در گروه دیابتی(DM) و گروه دیابتی + BR50 mg/kg در مقایسه با گروه کنترل بود. به علاوه، در گروه دیابتی + BR 100 mg/kg میزان نیتریت هیپوکامپ در مقایسه با گروه دیابتی کاهش معنی داری یافت که این یافته هماهنگ با سایر شواهد است،(۲۶). پراکسیداسیون لیپید منجر به تولید آلدئیدهای سمی گردیده که یکی از سمی ترین آن ها، مالون دی آلدئید است. این ماده محصول نهایی تجزیه پراکسید چربی است که در حال حاضر به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته می شود،(۲۹). در این مطالعه میزان مالون دی آلدئید در حیوانات گروه دیابتی افزایش چشمگیری یافت و درمان این حیوانات با بربرین توانست موجب کاهش میزان آن گردد. هم چنین بربرین در گروه کنترل تغییری در میزان مالون دی آلدئید ایجاد نکرد که مشابه نتایج سایر محققین است،(۳۰). یکی از دلایل میزان بالای پراکسیداسیون چربی و نیتریت در موش های صحرایی دیابتی کاهش سطوح سوپراکسیددسموتاز است که یک آنتی اکسیدان قوی درون زا است. گونه های بسیار واکنش پذیر اکسیژن(ROS) به وسیله تعدادی از مکانیسم های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی حذف می شوند. یکی از آنزیم های مهم در این زمینه آنزیم سوپراکسید دسموتاز است،(۳۱). هم چنین در این مطالعه آشکار شد که دیابت درمان نشده سبب کاهش سطح سوپراکسید دسموتاز در منطقه هیپوکامپ می شود که با نتایج پژوهش های انجام شده در این زمینه هم خوانی دارد تجویز بربرین به موش های دیابتی، باعث کاهش معنی دار سطح نیتریت و فرآورده های پراکسیداسیون لیپید و افزایش فعالیت سوپراکسید دسموتاز شد.

علاوه بر این بربرین به عنوان یک پاک کننده مستقیم و یک آنتی اکسیدان غیر مستقیم در سلول عمل می کند. هم چنین بربرین به طور مستقیم انواع گونه های اکسید کننده را خنثی می کند و همان طور که در بالا اشاره شد، سلول ها را از آسیب اکسیداتیو با تحریک سنتز GSH و ارتقای فعالیت آنزیم های مختلف آنتی اکسیدان، از جمله GSH-Px محافظت می –کند،(۳۲،۳۳). شواهدی وجود دارد که بربرین می تواند سنتز NO را تنظیم کند. هم چنین بربرین سطوح نیتریک اکساید سینتاز(iNOS) را افزایش می دهد و دارای اثر مهاری روی آنزیم های سیکلواکسیژناز می باشد،(۳۴)، بدین ترتیب، ممکن است خواص ضد التهابی و محافظت نورونی بربرین ناشی از ایجاد تعادل در سیستم NO باشد،(۳۵،۳۶). بربرین به راحتی می تواند از سد خون مغزی عبور کرده و پس از انتقال به سلول های عصبی، با سرعت آرام دفع شود که نشان از اثر مستقیم آن روی سلول های عصبی و تجمع در هیپوکامپ است اگر چه هنوز مکانیسم دقیق اثر محافظت نورونی بربرین در هیپوکامپ حیوانات دیابتی آشکار نیست اما فرضیه های مختلفی پیشنهاد شده است،(۳۷). مکانیسم های دیگر شامل اثر مهاری بربرین بر نوراپی نفرین، افزایش القای H2O2 [Ca2i] می باشد،(۳۸). در مجموع این مطالعه نشان داد که کاهش استرس اکسیداتیو عاملی است که به وسیله آن بربرین فعالیت محافظت نورونی خود را در هیپوکامپ موش صحرایی دیابتی شده با STZ ایفا می نماید که با تایید آن در آزمایش های بالینی می تواند در پیشگیری و احتمالا در درمان اختلالات شناختی عصبی بیماران دیابتی مورد استفاده قرار گیرد،(۷،۳۹). البته جهت بررسی مکانیسم های آن مطالعات بیشتری مورد نیاز می باشد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]

سپاسگزاری

مطالعه حاضر بخشی از پروژه پایان نامه دکتری بود که به تصویب رسید و توسط بخش مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران پشتیبانی گردید.

References

1.Northam EA, Rankins D, Lin A, Wellard RM, Pell GS, Finch SJ, et al. Central Nervous System Function in Youth With Type 1 Diabetes 12 Years After Disease Onset. Diabetes Care 2009; 32:445-50.

2.Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are Oxidative Stress− Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β-Cell Dysfunction? Diabetes 2003;52:1-8.

3.Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. Rev Diabetic Stud 2010;7:15-9.

4.Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, et al. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Clin Chim Acta 2004;340:107-15.

5.Ulusu NN, Sahilli M, Avci A, Canbolat O, Ozansoy G, Ari N, et al. Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. Neurochem Res 2003;28:815-23.

6.Garcia YJ, Rodriguez-Malaver AJ, Penaloza N. Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. J Neurosci Method 2005;144:127-35.

7.Kulkarni SK, Dhir A. Berberine: A plant alkaloid with therapeutic potential for central nervous system disorders. Phytother Res 2010;24:317-24.

8.Kulkarni SK, Dhir A. On the mechanism of antidepressant-like action of berberine chloride. Eur J Pharmacol 2008;589:163-72.

9.Kong WJ, Zhang H, Song DQ, Xue R, Zhao W, Wei J, et al. Berberine reduces insulin resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin. receptor expression. Metab Clin Experimen 2009; 58:109-19.

10.Zhou JY, Zhou SW, Tang JL, Zhang KB, Guang LX, Huang YP, et al. Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat dieti-nduced diabetic rats. Eur J Pharmacol 2009;606:262-8.

11.Huang L, Shi AD, He F, Li XS. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of berberine derivatives as potent acetylcholinesterase inhibitors. Bioorgan Med Chem 2010;18:1244-51.

12.Peng W-H, Lo K-L, Lee Y-H, Hung T-H, Lin Y-C. Berberine produces antidepressant-like effects in the forced swim test and in the tail suspension test in mice. Life Sci 2007;81:933-8.

13.Xu D, Yang W, Zhou C, Liu Y, Xu B. Preventive effects of berberine on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats. Planta Med 2010;76:1809-13.

14.Bagheri M, Joghataei MT, Mohseni S, Roghani M. Linköping University Post Print;2010.

15.Vincent AM, Callaghan BC, Smith AL, Feldman EL. Diabetic neuropathy: cellular mechanisms as therapeutic targets. Nat Rev Neurol 2011;7:573-83.

16.Callaghan BC, Hur J, Feldman EL. Diabetic neuropathy: one disease or two? Curr Opin Neurol 2012;25:536-41.

17.Al-Nimer MS, Al-Ani FS, Ali FS. Role of nitrosative and oxidative stress in neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. J Neurosci Rural Pract 2012;3:41-4.

18.Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. Diabetic neuropathy: Mechanisms to management. Pharmacology & Therapeutics 2008;120:1-34.

19.Zhang M, Chen L. Berberine in type 2 diabetes therapy: a new perspective for an old antidiarrheal drug? Acta Pharmaceutica Sinica B 2012;2:379-86.

20.Figueroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy. Rev Endocr Metab Disord 2008;9:301-14.

21.Ko BS, Choi SB, Park SK, Jang JS, Kim YE, Park S. Insulin sensitizing and insu-

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]

linotropic action of berberine from Cortidis rhizoma. Biol Pharm Bull 2005; 28:1431-7.
22.Pan GY, Wang GJ, Sun JG, Huang ZJ, Zhao XC, Gu Y, et al. [Inhibitory action of berberine on glucose absorption]. Yao Xue Xue Bao 2003; 38:911-4.
23.Lee YS, Kim WS, Kim KH, Yoon MJ, Cho HJ, Shen Y, et al. Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states. Diabetes 2006;55:2256-64.
24.Leng SH, Lu FE, Xu LJ. Therapeutic effects of berberine in impaired glucose tolerance rats and its influence on insulin secretion. Acta Pharmacol Sin 2004; 25:496-502.
25.Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. Rev Diabet Stud 2010;7:15-25.
26.Nunes SF, Figueiredo IV, Soares PJ, Costa NE, Lopes MC, Caramona MM. Semicarbazide-sensitive amine oxidase activity and total nitrite and nitrate concentrations in serum: novel biochemical markers for type 2 diabetes? Acta Diabetol 2009; 46:135-40.
27.Yamagishi S, Matsui T. Nitric oxide, a janus-faced therapeutic target for diabetic microangiopathy-Friend or foe? Pharmacol Res 2011;64:187-94.
28.Ischiropoulos H, Zhu L, Beckman JS. Peroxynitrite formation from macrophage-derived nitric oxide. Arch Biochem Biophy 1992;298:446-52.
29.Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radical Bio Med 1990; 9:515-40.
30.Ramsey C. Forecasting risk. Risk management will become increasingly critical in accountable care models. Health Manag Technol 2011;32:22-8.
31.Mizobuchi N, Nakata H, Horimi T, Takahashi I. [Serum superoxide dismutase (SOD) activity in diabetes mellitus]. Rinsho Byori. 1993;41(6):673-8.
32.Ashby DM, Habib D, Dringenberg HC, Reynolds JN, Beninger RJ. Subchronic MK-801 treatment and post-weaning social isolation in rats: Differential effects on locomotor activity and hippocampal long-term potentiation. Behavioural Brain Research 2010;212:64-70.
33.Baydas G, Reiter RJ, Yasar A, Tuzcu M, Akdemir I, Nedzvetskii VS. Melatonin reduces glial reactivity in the hippocampus, cortex, and cerebellum of streptozotocin-induced diabetic rats. Free Radical Bio Med 2003;35:797-804.
34.Yoo HJ, Kang HJ, Jung HJ, Kim K, Lim CJ, Park EH. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and anti-nociceptive activities of Saururus chinensis extract. J Ethnopharmacol 2008;120:282-6.
35.Kulkarni SK, Dhir A. Possible involvement of l-arginine-nitric oxide (NO)-cyclic guanosine monophosphate (cGMP) signaling pathway in the antidepressant activity of berberine chloride. Eur J Pharmacol 2007;569:77-83.
36.Ingkaninan K, Phengpa P, Yuenyongsawad S, Khorana N. Acetylcholinesterase inhibitors from Stephania venosa tuber. J Pharm Pharmacol 2006;58:695-700.
37.Zhu FQ, Qian CY. Berberine chloride can ameliorate the spatial memory impairment and increase the expression of interleukin-1 beta and inducible nitric oxide synthase in the rat model of Alzheimer's disease. Bmc Neurosci 2006;7:134-9.
38.Peng WH, Hsieh MT, Wu CR. Effect of long-term administration of berberine on scopolamine-induced amnesia in rats. Jpn J Pharmacol 1997;74:261-6.
39.Murphy KPSJ, Errington ML, Bliss TVP. Long-term potentiation: A synaptic model for learning and memory. Ser Biophys Biocyber 1998;4:452-7.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]

The Effect of Berberine Chloride on Hippocampus Oxidative Stress of Streptozotocin-diabetic Rats

Kalalianmoghadam H[1], Balochnejadmojarad T[2], Raoghani M[3], Khaksari M[1], Pirasteh N[1], Mojgan F[1], Ahooee M[1]*

(Recived: August 4, 2013 Accepted: November 6, 2013)

Abstract

Introduction: Diabetes mellitus increases the risk of central nervous system (CNS) disorders such as stroke, seizures, dementia, and cognitive impairment. Berberine, a natural isoquinolne alkaloid, is reported to exhibit beneficial effect in various neurodegenerative and neuropsychiatric disorders. Through Enzymatic and non-enzymatic processes, hyperglycemia induces glucose spontaneous oxidation and leads to oxidative stress by stimulating the production of active oxygen and nitrogen. Also, overproduction of ROS can cause DNA and proteins damage and affect the function of receptors, enzymes, transport proteins, and inactive antioxidant defense system enzymes or enzymes involved in the repair.

Material & Methods: In this study, the male wistar rats (n = 90) were randomly allocated into five groups: control, control berberine-treated (100 mg/kg), diabetic, berberine-treated diabetic (50, 100 mg/kg) groups. Diabetes was induced intraperinoneally STZ administration at the dose of 60mg/kg. Berberine was orally administered at doses of 50 and 100 mg/kg/day one week after STZ injection for a period of 8 weeks. Blood samples were taken from the tail vein 2, 4, 6, 8 weeks after STZ injection to measure blood glucose levels. Lipid peroxidation, nitrite levels and superoxid dismutase activity were evaluated as biomarkers of oxidative stress. Data were analyzed using Prism-5, one-way ANOVA and Tukey tests.

Findings: Eight weeks after diabetes induction we observed an increased lipid peroxidation, decreased superoxide dismutase activity, and elevated nitrite levels in the hippocampus of STZ-diabetic rats than the control brains. In contrast, chronic treatment with berberine (50 and 100 mg/kg, p.o., once daily) lowered hyperglycemia, oxidative stress, and prevented the up regulation of GFAP in the brain of diabetic rats.

Discussion & Conclusion: The present study demonstrated that treatment with berberine resulted in an obvious reduction of oxidative stress in hippocampus of STZ - induced diabetic rats.

Keywords: Diabetes Mellitus; Berberine; oxidative stress; Cognitive dysfunction; Rat.

1.Dept of Physiology, Faculty of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran
2.Dept of Physiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3.Neuroscience Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
**(Corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-13]