

Ameliorative effect of ellagic acid against diabetes-induced memory deficit in rats: the role of oxidative stress

Safoura Raoufi*, Abdolrahman Sarihi, Alireza Komaki, Siamak Shahidi

Department of Physiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

* Corresponding author e-mail: safooraraufi@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Diabetes mellitus is associated with memory impairment. Ellagic acid (EA) is a natural polyphenol with anti-diabetic and neuroprotective effects. The aim of the present study was to investigate the protective effect of ellagic acid on diabetes induced memory impairment and to evaluate the role of its antioxidant effect.

Materials and Methods: Male Wistar rats were randomly divided into four groups (n=8): control, diabetic, diabetic receiving 25 mg/kg of EA, and diabetic receiving 50 mg/kg of EA. Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of 60 mg/kg of streptozotocin (STZ). After receiving EA (once a day) by oral gavage for four weeks, passive avoidance learning (PAL) test was used to evaluate memory. Finally, oxidative stress related factors including malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) were evaluated in the hippocampal tissue separated from the animal brains under deep anesthesia.

Results: Diabetic animals showed marked reductions in step-through latency (STLr) and elevation in time spent in the dark compartment (TDC) in the retention trial and elevation of MDA level and diminution of TAC compared to controls significantly. Treatment of diabetic rats with EA markedly increased STLr, decreased TDC and enhanced TAC (by both EA doses) and reduced MDA (at a dose of 50 mg/kg of EA).

Conclusion: The results displayed learning and memory improving effect of EA in diabetic rats via attenuating oxidative stress.

Keywords: Diabetes mellitus, Ellagic Acid, Memory, Oxidative stress, Streptozotocin

Received: Apr 23, 2023

Revised: Jul 01, 2023

Accepted: Aug 21, 2023

How to cite this article: Raoufi S, Sarihi A, Komaki A, Shahidi S. Ameliorative effect of ellagic acid against diabetes-induced memory deficit in rats: the role of oxidative stress. Daneshvar Medicine 2023; 31(3):1-13. doi: 10.22070/DANESHMED.2023.17657.1346

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

اثر بهبوددهنده الازیک اسید بر اختلال حافظه ناشی از دیابت در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی: نقش استرس اکسیداتیو

صفورا رئوفی*، عبدالرحمن صریحی، علیرضا کمکی، سیامک شهیدی

گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

Email: safooraraufi@yahoo.com

*نویسنده مسئول: صفورا رئوفی

چکیده

مقدمه و هدف: دیابت ملیتوس با اختلال حافظه همراه است. الازیک اسید (EA) پلی فنولی طبیعی با اثرات ضددیابتی و حفاظت‌کننده عصبی است. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر حفاظتی الازیک اسید بر اختلال حافظه ناشی از دیابت و ارزیابی نقش اثر ضداسترس اکسیداتیو این ترکیب بود.

مواد و روش‌ها: موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر، نژاد ویستار به‌طور تصادفی به چهار گروه (n=8) کنترل، دیابتی، دیابتی دریافت‌کننده دوز ۲۵ mg/kg EA و دیابتی دریافت‌کننده دوز ۵۰ mg/kg EA تقسیم شدند. دیابت به‌وسیله تزریق داخل صفاقی تک‌دوز ۶۰ mg/kg از استرپتوزوتوسین (STZ) القا شد. پس از ۴ هفته دریافت داخل معده‌ای (گاواژ) EA (یک بار در روز)، بررسی حافظه توسط تست حافظه احترازی غیرفعال (PAL) انجام شد. در انتها فاکتورهای مرتبط با استرس اکسیداتیو شامل مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) در بافت هیپوکامپ که تحت بیهوشی عمیق از مغز حیوانات جدا شد ارزیابی شدند.

نتایج: حیوانات دیابتیک به‌صورت قابل توجه کاهش زمان تأخیر در ورود به قسمت تاریک (STLr) و افزایش زمان باقیماندن در محفظه تاریک (TDC) را در تست PAL و همچنین افزایش MDA و کاهش TAC را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. درمان موش‌های دیابتیک با الازیک اسید به شکل معنادار سبب افزایش STLr، کاهش TDC و افزایش TAC (به‌وسیله هر دو دوز EA) و کاهش MDA (به‌وسیله دوز ۵۰ mg/kg EA) شد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها اثر بهبوددهنده حافظه الازیک اسید را در حیوانات دیابتی از طریق تضعیف استرس اکسیداتیو نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: دیابت، الازیک اسید، حافظه، استرس اکسیداتیو، استرپتوزوتوسین

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۰۲/۰۳

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۰۴/۱۰

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۳۰

مقدمه

دیابت ملیتوس اختلالی متابولیک است که ناشی از ترشح ناکافی انسولین، مقاومت به انسولین یا هر دوی آنهاست. این بیماری به‌وسیله مقادیر بالای گلوکز خون و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها مشخص می‌شود (۱). شواهد زیادی بر اثرات آسیب‌زای دیابت بر سیستم عصبی مرکزی و اختلال شناختی ناشی از آن دلالت می‌کند و دیابت را به‌عنوان یک عامل خطر برای ایجاد بیماری آلزایمر و زوال عقل نشان می‌دهد (۲). هایپرگلیسمی، التهاب عصبی، استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندریایی، تغییرات نوروترنسمیتری، آپوپتوز عصبی، نورونز تغییر یافته، کاهش حمایت نوروتروفیک، و اختلال عملکرد مسیرهای سیگنالینگ سلولی می‌توانند در پاتوفیزیولوژی آسیب مغزی و نقایص رفتاری مرتبط با دیابت دخیل باشند (۳-۵).

دیابت به‌وسیله افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی منجر به آسیب اکسیداتیو اجزای سلولی می‌شود (۶). افزایش ROS ناشی از هایپرگلیسمی با افزایش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از قبیل $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ ، باعث التهاب نورونی و مرگ سلولی در مغز می‌شود (۷، ۸).

هیپوکامپ به‌عنوان یک مرکز مهم در یادگیری و حافظه، نسبت به افزایش قند خون حساس است و نوروهای آن در دیابت فوق‌العاده آسیب‌پذیر هستند (۹). بر اساس مطالعات مختلف در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی‌شده به‌وسیله استرپتوزوتوسین (STZ)، اختلالات شناختی ایجاد می‌شود که با نقایص ساختاری و عملکردی در نواحی مختلف مغز مانند هیپوکامپ و قشر مغز مرتبط هستند (۱۰، ۱۱).

الاژیک اسید، ماده‌ای پلی‌فنلی غیرفلانوئیدی است که در میوه‌جات و دانه‌های غذایی مختلف از قبیل انگور، توت‌فرنگی، انار و گردو وجود دارد (۱۲). این ترکیب دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدتکثیر و ضددیابتی است (۱۳-۱۶). الاژیک اسید از التهاب عصبی و اکسیداسیون عصبی جلوگیری می‌کند و خواص حفاظت‌کننده عصبی، ضدافسردگی، ضداضطراب، ضد درد و بهبوددهنده شناختی آن در مدل‌های آزمایشگاهی مختلف

گزارش شده است (۱۷-۲۱). الاژیک اسید از طریق جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی قادر به کاهش آسیب اکسیداتیو است (۲۲-۲۴). این ترکیب سطوح MDA و TOS را در عصب سیاتیک و مغز موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی کاهش داده است (۲۲). الاژیک اسید از اختلالات شناخت و حافظه و یادگیری به دنبال آسیب تروماتیک مغز جلوگیری کرده است (۲۵). بهبود اختلال حافظه و کاهش آسیب اکسیداتیو و التهابی در سلول‌های مغزی در آلزایمر توسط الاژیک اسید گزارش شده است (۲۶). در پیری ناشی از دی‌گالاکتوز الاژیک اسید اثرات ضد استرس اکسیداتیو، ضدالتهاب و ضد آپوپتوز را در مغز و کبد اعمال کرده است (۲۷). EA در مدل نوروتوکسیسیته ناشی سدیم آرسنات توانسته است اثرات نروپروتکتیو به‌صورت کاهش MDA ، $TNF-\alpha$ ، $IL-1\beta$ و افزایش TAC و گلوتاتیون در بافت مغز موش‌های بزرگ آزمایشگاهی این مدل نشان دهد و سبب بهبود حافظه درازمدت در این حیوانات شود (۲۸).

با توجه به مکانیسم‌های احتمالی در پاتوژنز اختلال حافظه و یادگیری ناشی از دیابت و ویژگی‌های ذکر شده در مورد الاژیک اسید، این مطالعه به‌منظور بررسی اثر تجویز EA بر اختلال حافظه و استرس اکسیداتیو هیپوکامپ در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی مبتلا به دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین (STZ) انجام شد.

مواد و روش‌ها

موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر، نژاد ویستار (۲۵۰-۲۰۰ گرم) از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ابن سینا همدان تهیه شدند و در شرایط استاندارد اتاق حیوانات در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 50 ± 5 درصد تحت چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص قرار گرفتند. تمام آزمایش‌ها مطابق با دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه اخلاق IR.UMSHA.REC.1395.113 انجام شد.

گیوتینی بسته‌شده و شوک الکتریکی (۵۰ mA, 1.2 Hz, 1.5 s) اعمال می‌شد و پس از ۳۰ ثانیه، موش به قفس خود بازگردانده می‌شد. پس از ۲ دقیقه، این روش تکرار می‌شد و در صورت ورود موش به محفظه تاریک شوک الکتریکی اعمال می‌شد. نهایتاً زمانی که موش به مدت ۱۲۰ ثانیه متوالی در محفظه روشن باقی می‌ماند، تمرین آموزش پایان می‌یافت و تعداد ورود به محفظه تاریک (number of trials, NTA) ثبت می‌شد.

تست حافظه (Retention test): ۲۴ ساعت پس از تمرین آموزش موش‌ها در محفظه روشن قرار گرفتند و پس از ۵ ثانیه درب گیوتین بالا می‌رفت و تأخیر در ورودی به محفظه تاریک (stepthrough latency, STLr) و زمان سپری‌شده در محفظه تاریک در غیاب شوک الکتریکی (time spent into the dark compartment, TDC) تا ۳۰۰ ثانیه ثبت می‌شد (۲۹).

تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی

هیپوکامپ تحت بیهوشی عمیق با کتامین زایلان از مغز حیوانات جدا شده و بی‌فاصله با غوطه‌وری در نیتروژن مایع منجمد می‌شد و تا زمان پردازش در دمای -۸۰°C ذخیره می‌شد.

اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA) به‌عنوان نشانگر شاخص پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده روش تیوباربیتریک اسید (TBARS) انجام می‌شد.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) از طریق سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش‌دهنده فریک (FRAP) مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش‌های آماری

داده‌ها به‌صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شد. آزمون تجزیه و تحلیل یک‌طرفه (One-way analysis of variance, ANOVA) و پس از آن آزمون تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای همه تست‌ها مقدار p کوچک‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه (n=8) کنترل (دریافت‌کننده حلال EA)، دیابتی، دریافت‌کننده دوز ۲۵ mg/kg EA و دیابتی دریافت‌کننده دوز ۶۰ mg/kg EA تقسیم شدند. دیابت به‌وسیله تزریق داخل صفاقی تک‌دوز ۶۰ mg/kg از استرپتوزوتوسین (Santa Cruz, USA) القا شد. ۳ روز بعد از تزریق STZ قند خون ناشتا اندازه‌گیری شد و مقادیر بالای ۲۵۰ mg/dl به‌عنوان معیار دیابتی‌شدن حیوانات در نظر گرفته شد. سپس دریافت داخل معده‌ای (گاواژ) الاژیک اسید (Sigma Aldrich, USA) یا حلال آن یک بار در روز به مدت ۲۸ روز انجام شد. در انتها بررسی حافظه توسط تست حافظه احترازی غیرفعال (PAL) انجام شد. در پایان مراحل آزمایش نمونه‌های هیپوکامپ خارج شد و بررسی فاکتورهای مرتبط با استرس اکسیداتیو شامل مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در بافت هیپوکامپ صورت گرفت. دوزهای EA بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شدند. سالیین حاوی ۱۰ درصد DMSO به‌عنوان حلال EA استفاده شد.

آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال (PAL)

دستگاه: دستگاه شامل دو محفظه تاریک و روشن با ابعاد مساوی (۲۰ سانتی‌متر \times ۲۰ سانتی‌متر \times ۳۰ سانتی‌متر) بود که یک در گیوتین مانند بین آنها وجود داشت. کف هر دو محفظه میله‌های فولادی ضدزنگ قرار داشت. کف محفظه تاریک با استفاده از مولد شوک (شرکت بهبود پرداز ایران) برقرار می‌شد.

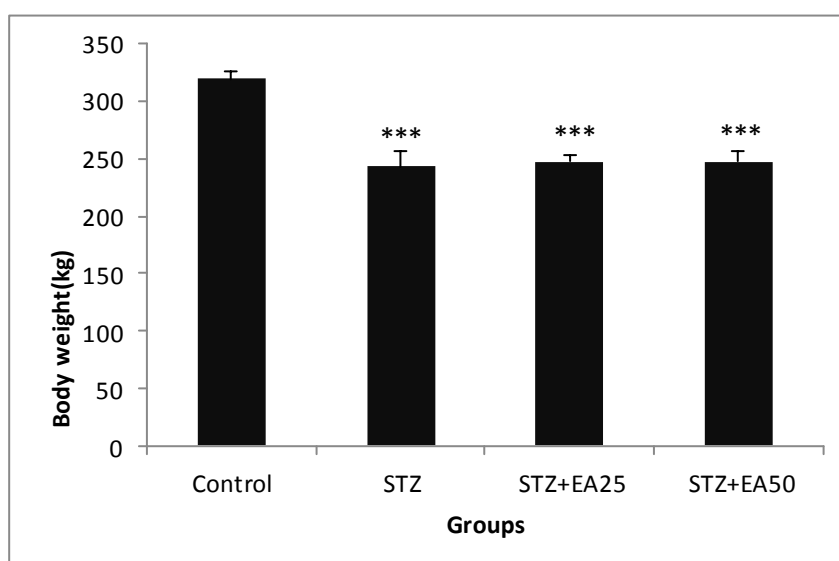
آموزش (Training): ابتدا برای سازگاری با دستگاه، موش‌ها در محفظه‌ای روشن قرار می‌گرفتند و ۵ ثانیه بعد درب گیوتینی باز می‌شد. موش‌ها تمایل طبیعی برای ورود به محیط تاریک دارند. با ورود موش به محفظه تاریک، در بسته می‌شد و پس از ۳۰ ثانیه موش‌ها از محفظه تاریک خارج می‌شدند و در قفس قرار می‌گرفتند. تمرین سازگاری پس از ۳۰ دقیقه تکرار می‌شد. نیم ساعت بعد تمرین آموزش شروع می‌شد به این صورت که ۵ ثانیه پس از قرارگیری موش در محفظه روشن درب گیوتینی باز می‌شد. تأخیر ورود حیوان به محفظه تاریک (step-through latency, STLa) ثبت می‌شد. سپس درب

نتایج

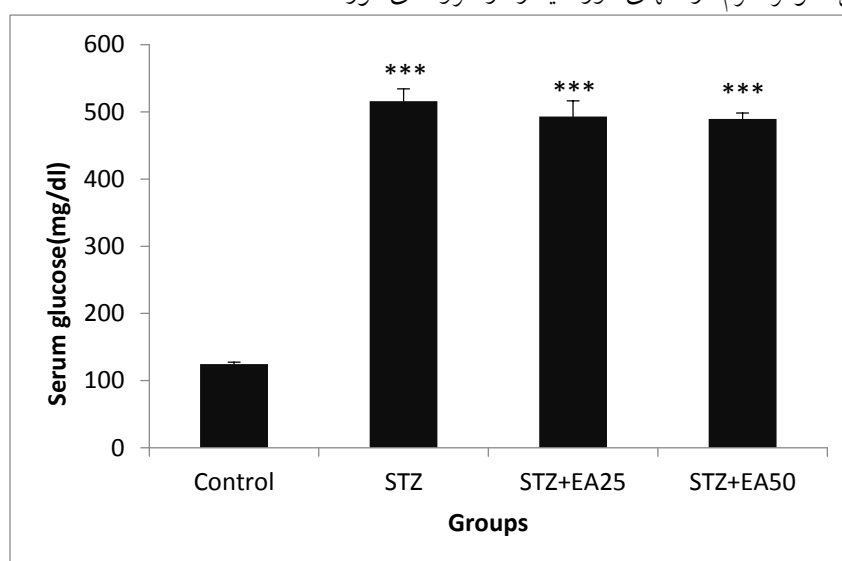
وزن بدن و گلوکز پلاسما جهت پایش وضعیت عمومی حیوانات در شروع و پایان مطالعه بررسی شدند. پیش از القای دیابت بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معناداری در وزن بدن حیوانات وجود نداشت. در انتهای مطالعه وزن بدن حیوانات دیابتی درمان نشده و نیز حیوانات دیابتی درمان شده با هر دو دوز الاژیک اسید در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنادار نشان داد ($P < 0.001$).

پیش از القای دیابت تفاوت معناداری در میزان گلوکز پلاسما بین گروه‌های آزمایشی وجود نداشت. در پایان مطالعه در حیوانات دیابتی درمان نشده گلوکز پلاسمای افزایش یافته در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0.001$). هیچ‌یک از دوزهای الاژیک اسید نتوانست جلوی افزایش گلوکز پلاسما را در موش‌های صحرایی دیابتی بگیرد.

الف. مقایسه میانگین وزن بدن در انتهای دوره تیمار در گروه‌های مورد مطالعه؛



ب. مقایسه میانگین گلوکز سرم در انتهای دوره تیمار در گروه‌های مورد مطالعه



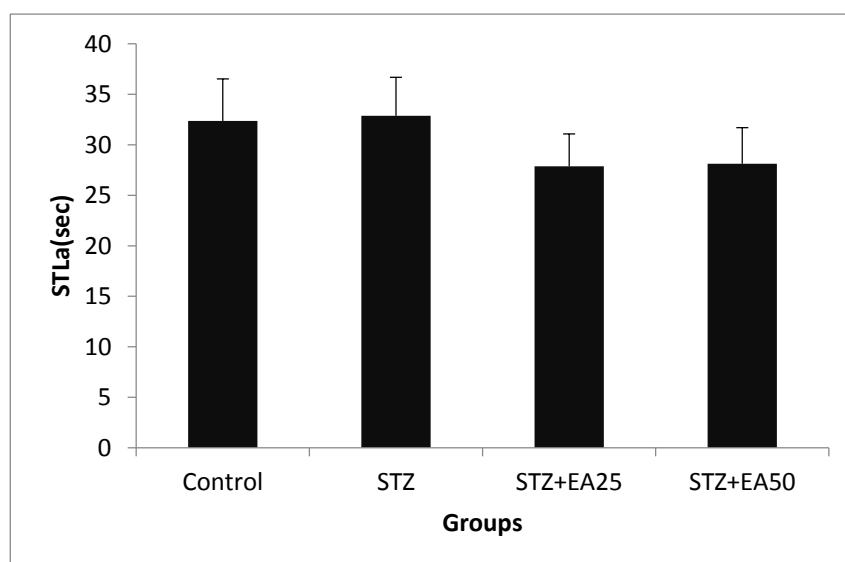
نمودار ۱. بررسی اثر ۲۸ روز تجویز داخل صفاقی الاژیک اسید در دو دوز ۲۵ و ۵۰ mg/kg بر وزن بدن و گلوکز سرم در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی شده توسط تزریق داخل صفاقی تک‌دوز ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین مقادیر بر اساس $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ هستند. *** : $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه کنترل).

تأثیر درمان بر یادگیری احترازی غیرفعال

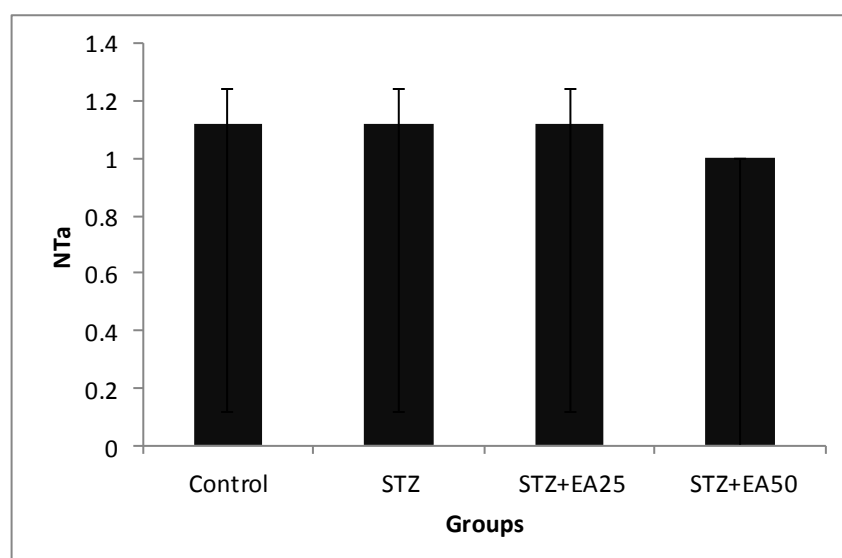
با توجه به نتایج ANOVA یک‌طرفه، تفاوت معناداری در تأخیر در ورود به بخش تاریک دستگاه قبل از شوک الکتریکی (STLa)، و نیز تعداد شوک‌های لازم برای اکتساب (NTa) بین گروه‌های آزمایشی در مرحله اکتساب وجود نداشت. در مرحله آزمون که ۲۴ ساعت پس از اکتساب انجام می‌شد. در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به شکل معنادار کاهش یافت ($P<0.01$) در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده الاژیک اسید با

دوزهای ۲۵mg/kg ($P<0.05$) و ۵۰mg/kg ($P<0.01$) نسبت به گروه دیابتی به صورت معنادار افزایش یافت. زمان ماندن در قسمت تاریک (TDC) در روز تست در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری نشان داد ($P<0.0001$) در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده هر دو دوز الاژیک اسید نسبت به گروه دیابتی کاهش معناداری داشت ($P<0.01$).

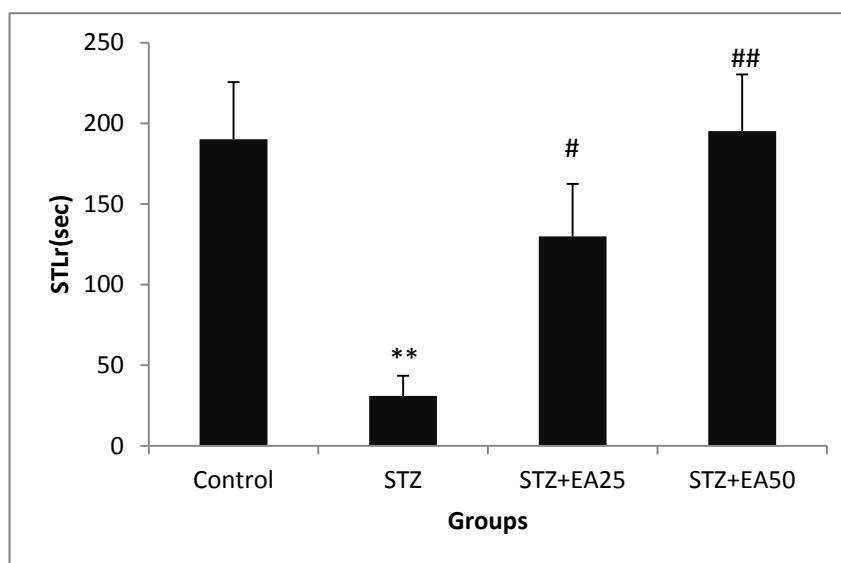
الف) مقایسه میانگین تعداد شوک‌های دریافتی تا رسیدن به معیار یادگیری (NTa) در گروه‌های مورد مطالعه؛



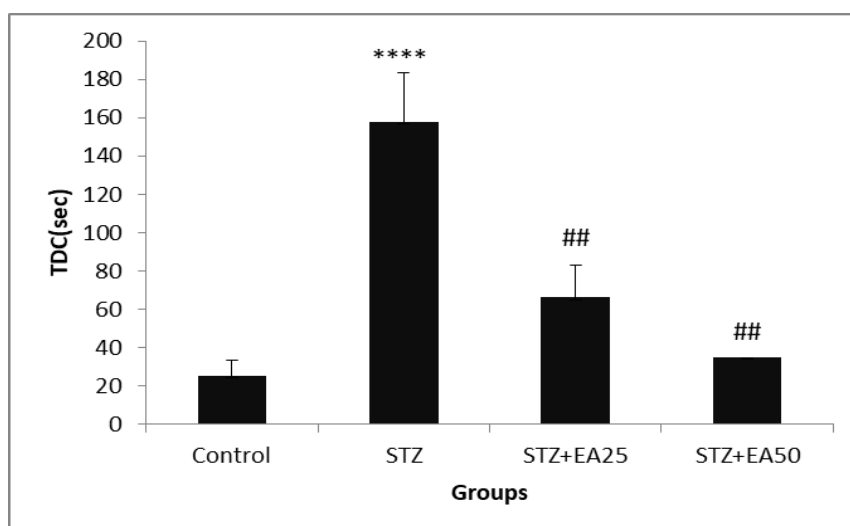
ب) مقایسه میانگین زمان تأخیر در ورود به قسمت تاریک دستگاه در مرحله سازش (STLa) در گروه‌های مورد مطالعه؛



ج) مقایسه میانگین زمان تأخیر در نخستین ورود به قسمت تاریک دستگاه در مرحله به خاطرآوری (STLr) در گروه‌های مورد مطالعه؛



د) مقایسه میانگین زمان ماندن در قسمت تاریک در مرحله به خاطرآوری (TDC) در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۲. بررسی اثر ۲۸ روز تجویز داخل صفاقی الازیک اسید در دو دوز ۲۵ و ۵۰ mg/kg بر شاخص‌های تست حافظه احترازی غیرفعال در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی‌شده توسط تزریق داخل صفاقی تک‌دوز ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین.

مقادیر بر اساس Mean ± SEM هستند.

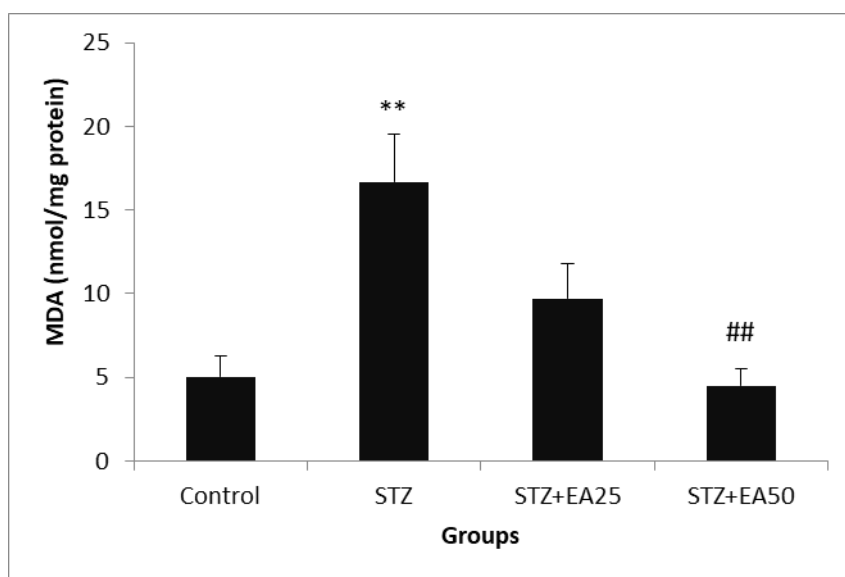
****: p < 0.0001 (در مقایسه با گروه کنترل) و #: p < 0.01 (در مقایسه با گروه دیابتی)

شاخص‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی هیپوکامپ

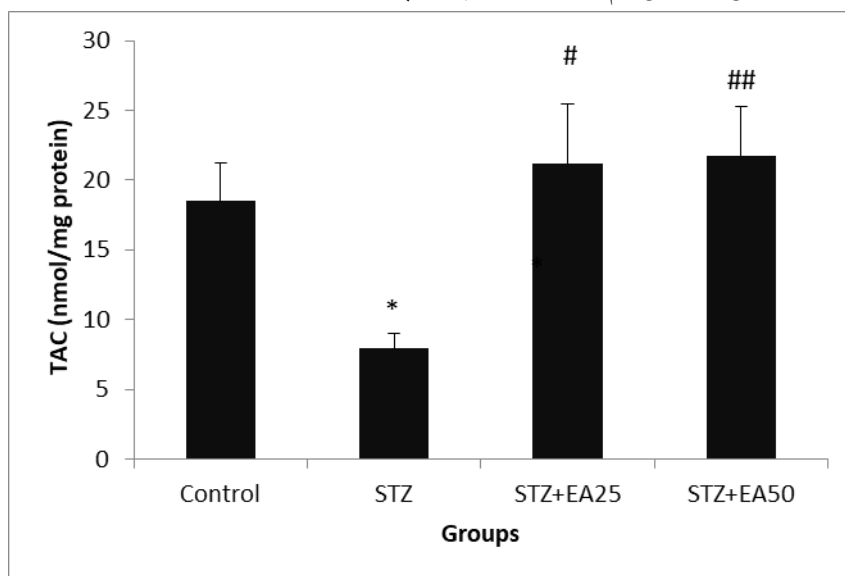
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار نشان داد (P < 0.001). افزایش معنادار TAC در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده الازیک اسید با دوزهای ۲۵ mg/kg (P < 0.05) و ۵۰ mg/kg (P < 0.01) نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد.

میزان مالون دی آلدئید (MDA) هیپوکامپ در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری نشان داد (P < 0.01)، و در گروه دیابتی درمان‌شده با الازیک اسید با دوز ۵۰ mg/kg نسبت به گروه دیابتی کاهش معنادار داشت (P < 0.01).

الف) مقایسه میانگین مالون دی آلدئید (MDA) در هیپوکامپ در گروه‌های مورد مطالعه؛



ب) مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) در هیپوکامپ در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۳-۳. نمودار ۲. بررسی اثر ۲۸ روز + داخل صفاقی الازیک اسید در دو دوز ۲۵ و ۵۰ mg/kg بر شاخص‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی هیپوکامپ در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی شده توسط تزریق داخل صفاقی تک‌دوز ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین.

مقادیر بر اساس Mean ± SEM هستند. * : $p < 0.05$

(در مقایسه با گروه کنترل)، ** : $p < 0.01$ (در مقایسه با گروه کنترل)، # : $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی) و ## : $p < 0.01$ (در مقایسه با گروه دیابتی).

بحث

در مطالعه حاضر ما به بررسی نقش احتمالی الاژیک اسید در بهبود اختلال حافظه ناشی از دیابت در مدل ایجادشده با استرپتوزوتوسین همراه با بررسی استرس اکسیداتیو پرداختیم.

بر اساس نتایج به دست آمده، ۲۸ روز تجویز الاژیک اسید در دو دوز ۲۵ و ۵۰ mg/kg اثرات بهبوددهنده حافظه نشان داد، اما اثر کاهنده قند خون نداشت. استرپتوزوتوسین با ایجاد آسیب مستقیم در سلول‌های بتای جزایر پانکراس سبب ایجاد هایپرگلیسمی می‌شود (۳۰). ما نیز افزایش قند خون را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی بعد از دریافت استرپتوزوتوسین مشاهده کردیم و این یافته توسط مطالعات دیگری نیز تأیید می‌شود (۳۱، ۳۲). بروز دیابت قندی در موجودات آزمایشگاهی نظیر موش بزرگ آزمایشگاهی و جامعه انسانی با اختلالاتی در روندهای شناختی و حافظه و یادگیری، آتروفی مغز، و افزایش احتمال ابتلا به دمانس همراه است. هرچند که مکانیسم بروز این اختلالات در جامعه دیابتی به خوبی شناخته نشده است ولی مشخص شده است که دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ که از نواحی اصلی مرتبط با این روندها محسوب می‌شوند به میزان زیاد به دنبال دیابتی شدن تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در این ارتباط، بروز دیابت قندی موجب تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی نواحی مغزی شامل هیپوکامپ شده و سطح فاکتورهای رشد شبه‌انسولین و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در برخی نواحی مغز کاهش می‌یابد (۳۳).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر نیز، دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین سبب کاهش عملکرد شناختی در آزمون احترازی غیرفعال شد. به این صورت که در مرحله تست برای به خاطر آوری، در گروه دیابتی کاهش زمان تأخیر در اولین ورود به قسمت تاریک دستگاه (STLr) و افزایش زمان ماندن در قسمت تاریک (TDC) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد که این نتیجه همسو با نتایج مطالعات متعددی است (۳۴، ۳۵).

پاتولوژی کاهش عملکرد شناختی ناشی از دیابت به طور کامل شناخته شده نیست؛ با این حال فاکتورهای احتمالی مؤثر در آن شامل هایپرگلیسمیا، التهاب مغز و استرس اکسیداتیو و آسیب‌های سلولی و مولکولی ناشی از آنها هستند (۵). افزایش تولید ROS به دنبال هایپرگلیسمی باعث التهاب نورونی در مغز می‌شود. این افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سبب تحریک تولید سایتوکاینهای پیشالتهابی از قبیل $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ می‌شود که نوروتوکسیک هستند و در اختلالات شناختی همراه با دیابت نقش دارند (۷، ۳۶).

در مطالعه حاضر کاهش TAC و افزایش میزان MDA در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. این نتایج در راستای گزارشات مبنی بر افزایش میزان MDA و TOS و کاهش TAC و کاهش فعالیت کاتالاز و سوپراکساید دسموتاز در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین هستند (۳۷، ۳۸).

در توضیح مکانیسم احتمالی مرتبط با این یافته به این مسئله اشاره می‌کنیم که هایپرگلیسمی سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود که بر سیستم عصبی محیطی و مرکزی اثر می‌گذارد (۳۹). افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) در شرایط هایپرگلیسمیک منجر به آسیب میتوکندریایی در نرون‌های دیابتیک می‌شود (۴۰). توکسیسیتی ناشی از رادیکال‌های آزاد افزایش یافته در حیوانات دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین نشان داده شده است (۴۱). به علاوه در دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین فعالیت و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندوزن کاهش می‌یابد (۴۲)؛ بنابراین تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد ممکن است در مقابل عوارض دیابت اثرات حفاظتی ایجاد کند.

بر اساس شواهد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی متعددی اثر مهاری در ایجاد اختلالات شناختی ناشی از دیابت نشان داده‌اند. به طور مشابه در مطالعه ما نیز تجویز خوراکی الاژیک اسید

به مدت ۲۸ روز توانست کاهش زمان تأخیر در نخستین ورود به قسمت تاریک دستگاه (STLr) و افزایش زمان ماندن در قسمت تاریک (TDC)، در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی را برگشت دهد. اثر آنتی‌اکسیدانی الاژیک اسید یکی از مکانیسم‌های اصلی است که ممکن است در اثر بهبوددهنده حافظه این ترکیب نقش مهمی ایفا کند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی الاژیک اسید از قبیل جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش تولید ROS نشان داده شده است (۲۲، ۲۳، ۲۶). در همین راستا در مطالعه حاضر، درمان با الاژیک اسید سبب افزایش TAC و کاهش MDA در رتهای دیابتی شد. در تأیید این نتایج گزارش شده است که الاژیک اسید در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی مدل آلازیمر اختلال شناختی را بهبود بخشیده و به‌وسیله کاهش MDA و افزایش فعالیت کاتالاز و GSH در جهت کاهش استرس اکسیداتیو عمل کرده است (۲۶). به‌علاوه الاژیک اسید در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی آسیب اکسیداتیو عصب سیاتیک و بافت مغز را با کاهش MDA و TOS در این بافت‌ها سرکوب کرده است (۲۲).

در مطالعه ما الاژیک اسید در دوز و مدت زمان تجویز شده هایپرگلیسمیا را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی برطرف نکرد؛ بنابراین اثرات بهبودی حافظه به‌دست‌آمده مرتبط با کاهش قند خون نیست. اگرچه استفاده از سایر دوزها و سایر دوره‌های مصرف این ترکیب جهت بررسی اثرکاهنده قند خون در مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود.

مطالعات پیشین گزارش کرده‌اند که الاژیک اسید در مقابل التهاب و آپوپتوز اثرات حفاظتی ایجاد می‌کند. بر اساس گزارش Rizk و همکاران درمان با الاژیک اسید آسیب نورونی ناشی از عوامل توکسیک را از طریق کاهش سایتوکاینهای پیشالتهابی مانند TNF- α و تضعیف مارکرهای استرس اکسیداتیو از قبیل MDA و اعمال اثرات ضد آپوپتوز مانند کاهش کاسپاز ۳ برطرف کرده است

(۴۳). به‌طور مشابهی الاژیک اسید از طریق مهار واکنش‌های التهابی و آپوپتوز موش‌های بزرگ آزمایشگاهی را در مقابل آسیب مغزی ایسکمیک حفاظت کرده است (۴۴). مطالعه دیگری اثر نوروپروتکتیو الاژیک اسید را نشان داده است که توانسته است نوسی سپشن و اختلال شناختی را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پارکینسونی بهبود بخشد (۴۵)؛ بنابراین در مطالعه ما نیز ممکن است چنین مکانیسم‌های ضدالتهابی و ضدآپوپتوزی در اثر حفاظتی الاژیک اسید در مقابل اختلال حافظه دیابتی اتفاق افتاده باشد. همچنین فاکتورهای نوروتروفیک نقش مهمی در بقای نورونی و حفظ عملکرد فیزیولوژیک مغز دارند و کاهش این فاکتورها از قبیل BDNF در هیپوکامپ موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی به همراه پیشروی اختلالات شناختی مشاهده شده است (۴۶)؛ بنابراین درمان با الاژیک اسید ممکن است از طریق افزایش فاکتورهای نوروتروفیک سبب حفاظت عصبی و بهبود حافظه در حیوانات دیابتی شده باشد. در این رابطه، پیشنهاد شده است که پلیفنولها می‌توانند از طریق تقویت فاکتورهای نوروتروفیک نقش حفاظت‌کننده عصبی ایفا کنند (۴۷).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه اثر بهبوددهنده حافظه الاژیک اسید را در حیوانات دیابتی از طریق تضعیف استرس اکسیداتیو در بافت هیپوکامپ نشان داد که می‌تواند پیشنهاددهنده استفاده از این ترکیب در بهبود اختلال حافظه در دیابت باشد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه مطابق با دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه اخلاق IR.UMSHA.REC.1395.113 انجام شد.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

منابع

- Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes research and clinical practice*. 2014;103(2):137-49.
- Ristow M. Neurodegenerative disorders associated with diabetes mellitus. *Journal of molecular medicine*. 2004;82:510-29.
- Fang S-C, Xie H, Chen F, Hu M, Long Y, Sun H-B, et al. Simvastatin ameliorates memory impairment and neurotoxicity in streptozotocin-induced diabetic mice. *Neuroscience*. 2017;355:200-11.
- Hamed SA. Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications. *Expert review of clinical pharmacology*. 2017;10(4):409-28.
- Martín-Gallán P, Carrascosa A, Gussinyé M, Domínguez C. Oxidative stress in childhood type 1 diabetes: results from a study covering the first 20 years of evolution. *Free radical research*. 2007;41(8):919-28.
- Bashan N, Kovsan J, Kachko I, Ovadia H, Rudich A. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. *Physiological reviews*. 2009.
- Kuhad A, Bishnoi M, Tiwari V, Chopra K. Suppression of NF- κ β signaling pathway by tocotrienol can prevent diabetes associated cognitive deficits. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2009;92(2):251-9.
- Pari L, Murugan P. Tetrahydrocurcumin prevents brain lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of medicinal food*. 2007;10(2):323-9.
- Reagan LP, Magarinos AM, McEWEN BS. Neurological changes induced by stress in streptozotocin diabetic rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1999;893(1):126-37.
- Kucukatay V, Ađar A, Gumuslu S, Yargiđođlu P. Effect of sulfur dioxide on active and passive avoidance in experimental diabetes mellitus: relation to oxidant stress and antioxidant enzymes. *International Journal of Neuroscience*. 2007;117(8):1091-107.
- Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life sciences*. 2003;73(15):1907-16.
- Priyadarsini KI, Khopde SM, Kumar SS, Mohan H. Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidant. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2002;50(7):2200-6.
- Ateřřahín A, Āeribaři AO, Yuce A, Bulmus Ö, Āikim G. Role of ellagic acid against cisplatin- induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2007;100(2):121-6.
- Umesalma S, Sudhandiran G. Differential inhibitory effects of the polyphenol ellagic acid on inflammatory mediators NF- κ B, iNOS, COX- 2, TNF- α , and IL- 6 in 1, 2- dimethylhydrazine- induced rat colon carcinogenesis. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2010;107(2):650-5.
- Umesalma S, Sudhandiran G. Ellagic acid prevents rat colon carcinogenesis induced by 1, 2 dimethyl hydrazine through inhibition of AKT-phosphoinositide-3 kinase pathway. *European journal of pharmacology*. 2011;660(2-3):249-58.
- Malini P, Kanchana G, Rajadurai M. Antibabetic efficacy of ellagic acid in streptozotocin-induced diabetes mellitus in albino wistar rats. *Asian J Pharm Clin Res*. 2011;4(3):124-8.
- Hassoun EA, Vodhanel J, Abushaban A. The modulatory effects of ellagic acid and vitamin E succinate on TCDD- induced oxidative stress in different brain regions of rats after subchronic exposure. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2004;18(4):196-203.
- Kaur R, Parveen S, Mehan S, Khanna D, Kalra S. Neuroprotective effect of ellagic acid against chronically scopolamine induced Alzheimer' s type memory and cognitive dysfunctions: Possible behavioural and biochemical evidences. *Int J Preven Med Res*. 2015;1(2):45-64.
- Shukitt-Hale B, Lau FC, Carey AN, Galli RL, Spangler EL, Ingram DK, et al. Blueberry polyphenols attenuate kainic acid-induced decrements in cognition and alter inflammatory gene expression in rat hippocampus. *Nutritional neuroscience*. 2008;11(4):172-82.
- Shahidi S, Komaki A, Raoufi S, Salehi I, Zarei M, Mahdian M. Ellagic Acid ameliorates Streptozotocin-Induced Diabetic Hyperalgesia in Rat: Involvement of Oxidative Stress. *Basic and Clinical Neuroscience*. 2021;12(6):861-872.
- Girish C, Raj V, Arya J, Balakrishnan S. Evidence for the involvement of the monoaminergic system, but not the opioid system in the antidepressant-like activity of ellagic acid in mice. *European Journal of Pharmacology*. 2012;682(1-3):118-25.
- Uzar E, Alp H, Cevik MU, Fırat U, Evliyaoglu O, Tufek A, et al. Ellagic acid attenuates oxidative stress on brain and sciatic

- nerve and improves histopathology of brain in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurological Sciences*. 2012;33:567-74.
23. Chao P-c, Hsu C-c, Yin M-c. Anti-inflammatory and anti-coagulatory activities of caffeic acid and ellagic acid in cardiac tissue of diabetic mice. *Nutrition & metabolism*. 2009;6(1):1-8.
 24. Gupta GD, Bansal N, Kaur J. P3- 130: Ellagic Acid Restored Oxidative Homeostasis in Rat Brains of Colchicine- Induced Dementia. *Alzheimer's & Dementia*. 2016;12:P869-P.
 25. Farbood Y, Sarkaki A, Dianat M, Khodadadi A, Haddad MK, Mashhadizadeh S. Ellagic acid prevents cognitive and hippocampal long-term potentiation deficits and brain inflammation in rat with traumatic brain injury. *Life Sciences*. 2015;124:120-7.
 26. Kiasalari Z, Heydarifard R, Khalili M, Afshin-Majd S, Baluchnejadmojarad T, Zahedi E, et al. Ellagic acid ameliorates learning and memory deficits in a rat model of Alzheimer's disease: an exploration of underlying mechanisms. *Psychopharmacology*. 2017;234:1841-52.
 27. Chen P, Chen F, Zhou B. Antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of ellagic acid in liver and brain of rats treated by D-galactose. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-10.
 28. Goudarzi M, Amiri S, Nesari A, Hosseinzadeh A, Mansouri E, Mehrzadi S. The possible neuroprotective effect of ellagic acid on sodium arsenate-induced neurotoxicity in rats. *Life sciences*. 2018;198:38-45.
 29. Dehbani Z, Komaki A, Etaee F, Shahidi S, Taheri M, Komaki S, et al. Effect of a hydro-alcoholic extract of *Melissa officinalis* on passive avoidance learning and memory. *Journal of Herbmed Pharmacology*. 2019;8(2):120-5.
 30. Solanki ND, Bhavsar SK. An evaluation of the protective role of *Ficus racemosa* Linn. in streptozotocin-induced diabetic neuropathy with neurodegeneration. *Indian journal of pharmacology*. 2015;47(6):610.
 31. Fatani AJ, Al- Rejaie SS, Abuhashish HM, Al- Assaf A, Parmar MY, Ola MS, et al. Neuroprotective effects of *Gymnema sylvestre* on streptozotocin-induced diabetic neuropathy in rats. *Experimental and therapeutic medicine*. 2015;9(5):1670-8.
 32. Ahmet İ, Büyükşekerci M, Ulusoy HB. Antinociceptive effect of mirtazapine in rats with diabetic neuropathy. *Nöro Psikiyatri Arşivi*. 2016;53(1):12.
 33. Biessels GJ, ter Laak MP, Kamal A, Gispen WH. Effects of the Ca²⁺ antagonist nimodipine on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. *Brain research*. 2005;1035(1):86-93.
 34. Hasanein P, Shahidi S. Effects of combined treatment with vitamins C and E on passive avoidance learning and memory in diabetic rats. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2010;93(4):472-8.
 35. Jabbarpour Z, Shahidi S, Saidijam M, Sarihi A, Hassanzadeh T, Esmaeili R. Effect of tempol on the passive avoidance and novel object recognition task in diabetic rats. *Brain research bulletin*. 2014;101:51-6.
 36. Umegaki H. Pathophysiology of cognitive dysfunction in older people with type 2 diabetes: vascular changes or neurodegeneration? *Age and ageing*. 2010;39(1):8-10.
 37. Colak S, Geyikoğlu F, Aslan A, Deniz GY. Effects of lichen extracts on haematological parameters of rats with experimental insulin-dependent diabetes mellitus. *Toxicology and industrial health*. 2014;30(10):878-87.
 38. Mehanna OM, El Askary A, Al-Shehri S, El-Esawy B. Effect of phosphodiesterase inhibitors on renal functions and oxidant/antioxidant parameters in streptozocin-induced diabetic rats. *Archives of physiology and biochemistry*. 2018;124(5):424-9.
 39. Coppey LJ, Gallett JS, Davidson EP, Dunlap JA, Yorek MA. Effect of treating streptozotocin-induced diabetic rats with sorbinil, myo-inositol or aminoguanidine on endoneurial blood flow, motor nerve conduction velocity and vascular function of epineurial arterioles of the sciatic nerve. *International journal of experimental diabetes research*. 2002;3(1):21-36.
 40. Pacher P, Obrosova IG, Mabley JG, Szabó C. Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications. *Emerging new therapeutical strategies. Current medicinal chemistry*. 2005;12(3):267-75.
 41. Sen CK. Oxygen toxicity and antioxidants: state of the art. *Indian journal of physiology and pharmacology*. 1995;39(3):177-96.
 42. Toleikis PM, Godin DV. Alteration of antioxidant status in diabetic rats by chronic exposure to psychological stressors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1995;52(2):355-66.
 43. Rizk HA, Masoud MA, Maher OW. Prophylactic effects of ellagic acid and rosmarinic acid on doxorubicin-induced neurotoxicity in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2017;31(12):e21977.
 44. Chen S-Y, Zheng K, Wang Z-q. Neuroprotective effects of ellagic acid on neonatal hypoxic brain injury via inhibition of inflammatory mediators and down-regulation of JNK/p38 MAPK activation. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2016;15(2):241-51.
 45. Dolatshahi M, Farbood Y, Sarkaki A, Mansouri SMT, Khodadadi A. Ellagic acid improves hyperalgesia and cognitive deficiency in 6-hydroxidopamine induced rat

- model of Parkinson' s disease. Iranian journal of basic medical sciences. 2015;18(1):38.
46. Ola MS, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Abuhashish HM, Parmar MY, Alhomida AS, et al. Flavonoid, morin inhibits oxidative stress, inflammation and enhances neurotrophic support in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Neurological sciences. 2014;35(7):1003-8.
47. Carito V, Ceccanti M, Chaldakov G, Tarani L, De Nicolò S, Ciafrè S, et al. Polyphenols, nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and the brain. Bioactive Nutraceuticals and Dietary Supplements in Neurological and Brain Disease: Elsevier; 2015. p. 65-71.