

تأثیر تجویز سیستمیک انسولین بر حافظه و یادگیری فضایی موش‌های صحرایی نر

احمد رحمانی^۱، ناصر نقدی^۲، جواد صالحی^۳، علی گری^۳

۱. استادیار دانشگاه زنجان*

۲. استاد انستیتو پاستور ایران

۳. استادیار دانشگاه زنجان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۰۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۹

چکیده

هدف از این پژوهش، تعیین تأثیر تجویز صفاقی انسولین بر عملکرد حرکتی موش‌های صحرایی در ماز آبی می‌باشد. برای این منظور، تعداد ۴۰ سر رت نر از نژاد آلبینو ویستار به صورت تصادفی در چهار گروه آزمایشی قرار گرفتند (هر گروه ۱۰ سر رت). تزریق انسولین در چهار دوز (صفر، یک، شش و ۱۲ واحد بر کیلوگرم) و در طول یک هفته (روزانه یک بار) انجام شد. آموزش و آزمون حیوانات با استفاده از ماز آبی موریس صورت گرفت. جهت تحلیل آماری، آزمون تحلیل واریانس مختلط بین گروهی و درون گروهی (SPANOVA) به کار رفت. یافته‌ها نشان داد که در مرحله اکتساب، اثر اصلی زمان برای مسافت طی شده و زمان تأخیر معنادار است ($P < 0.001$). همچنین، تزریق صفاقی انسولین بدون تأثیر معنادار بر سطوح گلوکز سرم در تمامی دوزها موجب کاهش مسافت طی شده ($P < 0.001$) و به صورت وابسته به دوز، باعث کاهش زمان تأخیر ($P = 0.004$) در مرحله اکتساب شد. در آزمون یادداری نیز انسولین به صورت وابسته به دوز (یک و ۱۲ واحد بر کیلوگرم) موجب کاهش زمان تأخیر در رسیدن به سکوی پنهان گردید. در نتیجه، تجویز محیطی انسولین دارای اثرات مرکزی بوده و می‌تواند موجب ارتقای عملکرد حرکتی از طریق بهبود حافظه و یادگیری فضایی شود.

واژگان کلیدی: انسولین، عملکرد حرکتی، یادگیری فضایی، حافظه فضایی

مقدمه

از زمان کشف انسولین در سال ۱۹۲۲ تاکنون، این پپتید به‌عنوان هورمون اصلی تنظیم‌کننده قند خون سیستمیک شناخته شده است و نقش مهمی در برخی از اعمال دستگاه عصبی مرکزی نیز دارد. گیرنده‌های انسولین به‌شکل کاملاً متراکم در سیناپس‌های نواحی هیپوکامپ، کرتکس انتورینال و قشر پیشانی قرار گرفته‌اند؛ جایی که سیگنال‌دهی انسولین در سیناپتوزن و تغییر وضعیت سیناپسی مشارکت می‌کند. همچنین، انسولین می‌تواند استفاده از گلوکز در هیپوکامپ و سایر نواحی مغز را تنظیم کرده و حافظه را تسهیل کند (۱). هیپوکامپ دارای نقش کلیدی در حافظه و راهبری فضایی در جوندگان است (۲) و ناحیه CA1 هیپوکامپ، سرشار از گیرنده‌های انسولین می‌باشد. گزارش‌ها حاکی از آن است که پس از کسب تجربه یادگیری فضایی، بیان ژن و میزان پروتئین گیرنده انسولین در ناحیه CA1 افزایش می‌یابد که این امر با شکل‌گیری حافظه کوتاه‌مدت در ارتباط است (۳). همچنین، پژوهش‌های انجام‌شده نشان داده‌اند که پس از تثبیت حافظه بلندمدت، بیان ژن گیرنده انسولین در ناحیه CA1 افزایش می‌یابد (۴). مطالعاتی که اثرات تجویز انسولین بر حافظه را بررسی کرده‌اند، نتایج متناقضی را ارائه می‌دهند. مطالعه انجام‌شده توسط کوف و باراتی نشان می‌دهد که تزریق صفاقی انسولین پس از تمرین، موجب تخریب وابسته به دوز در مرحله یادداری می‌شود (۵). در همین راستا، آکانمو^۱ و همکاران (۲۰۰۹) اعلام کردند که تزریق صفاقی انسولین به‌طور معناداری حافظه کوتاه‌مدت فضایی موش را تخریب می‌کند. آن‌ها خاطر نشان ساختند که اثر مشاهده‌شده، وابسته به دوز می‌باشد (۶). سایر پژوهش‌ها نیز نشان داده‌اند که اثر تخریبی ناشی از انسولین در فواصل یادداری طولانی باقی می‌ماند. باین‌حال، این گروه از پژوهشگران سطح گلوکز سرم را گزارش نکرده‌اند. به‌عبارت‌دیگر، در این دسته از پژوهش‌ها مشخص نشده است که تخریب عملکرد شناختی ناشی از افت قند خون در اثر تجویز انسولین است یا عامل دیگری سبب بروز این مشکل گردیده است؟ در این راستا، به‌خوبی ثابت شده است که گلوکز می‌تواند از طریق افزایش سنتز و یا رهاسازی استیل‌کولین مغز، موجب تعدیل ذخیره حافظه شود (۷). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اختلال ناشی از انسولین را می‌توان به‌وسیله تزریق وابسته به دوز گلوکز مرتفع کرد؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که تأثیر کاهنده تجویز محیطی انسولین بر گلوکز خون و متعاقب آن اثر کاهش گلوکز بر حافظه می‌تواند اثرات انسولین بر عملکرد شناختی را مختل نماید. از سوی دیگر، برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تجویز محیطی انسولین می‌تواند از اختلالات حافظه جلوگیری کند؛ به‌عنوان نمونه، آگراوال^۲ و همکاران

-
1. Kopf & Baratti
 2. Akanmu
 3. Agrawal

(۲۰۰۸) نشان دادند که تزریق صفاقی انسولین در موش‌ها اثر ضد فراموشی دارد. در بررسی آن‌ها تزریق انسولین با دوز یک واحد/کیلوگرم، از اثرات تخریبی اسکوپولامین بر حافظه جلوگیری کرد (۸). علاوه بر تجویز انسولین به صورت محیطی (سیستمیک)، انسولین به شکل مرکزی نیز به صورت مستقیم به درون دستگاه مرکزی عصبی القا می‌شود. تزریق مرکزی انسولین بدون آن که تغییری در سطح گلوکز خون ایجاد کند، موجب افزایش سطح انسولین مغز می‌شود. علاوه بر آن، با توجه به این که انسولین تزریق شده به مغز بر گلوکز خون تأثیرگذار نیست می‌توان اثر انسولین را از اثر هیپوگلیسمی و یا هیپرگلیسمی جدا کرد. حاج علی و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهشی اعلام کردند که تجویز انسولین درون بطن سوم مغز به صورت وابسته به دوز، بر حافظه فضایی تأثیر دارد. در پژوهش آن‌ها انسولین با دوزهای دو، چهار و هشت هزارم واحد تأثیر معناداری بر عملکرد رت‌ها در ماز آبی نداشت. در حالی که دوزهای بالاتر (۱۶ و ۳۲ هزارم واحد) به طور معناداری عملکرد حیوانات را بهبود بخشید (۹). در سایر پژوهش‌ها تزریق مستقیم انسولین به درون هیپوکمپ نیز موجب بهبود حافظه فضایی گردیده است (۱۰، ۱۱). با این حال، این روش مورد انتقاد قرار گرفته است؛ زیرا این قبیل مطالعات، دوزهای فراتر از حد فیزیولوژیک انسولین را مورد استفاده قرار می‌دهند و روش‌های به کاررفته در آن‌ها نیز اغلب آزارنده بوده و با بالا رفتن گلوکز محیطی و اپی نفرین همراه است؛ از این رو، این عوامل تفسیر هرگونه اثر انسولین را با مشکل مواجه می‌سازند (۱۰). از طرف دیگر، تجویز مرکزی انسولین با اصول اخلاقی پژوهش منافات داشته و در مورد نمونه‌های انسانی کاربرد ندارد؛ بنابراین، انواع روش‌های مداخله سیستمیک انسولین مورد توجه قرار گرفته است. چندین مطالعه اثرات تجویز محیطی انسولین بر عملکرد شناختی انسان را بررسی کرده‌اند. کرن^۱ و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که تزریق سیستمیک انسولین در شرایطی که قند خون طبیعی باشد، موجب پیشرفت معنادار در حافظه کلامی و توجه انتخابی در انسان می‌شود (۱۲). از سوی دیگر، گزارش شده است که یک‌بار تجویز انسولین با دوز ۴۰ واحد، حافظه کلامی را در افراد سالم بهبود نمی‌بخشد (۱۳). در این راستا، فن^۲ و همکاران (۲۰۱۱) اثر تجویز حاد انسولین با دوز ۴۰ واحد از طریق بینی را بر عملکرد شناختی بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی بررسی کردند. آن‌ها بیان کردند که این درمان تأثیر معناداری بر حافظه کلامی یا توجه پایدار ندارد (۱۴). در مقابل، سایر مطالعات نشان داده‌اند که درمان حاد با انسولین از طریق تجویز درون بینی، حافظه کلامی را در بیماران مبتلا به آلزایمر و نیز در افرادی که دارای اختلال خفیف شناختی هستند بهبود می‌بخشد (۱۵). برخی از مطالعات نیز بین شاخص مقاومت به انسولین و عملکرد شناختی در افراد مسن ارتباطاتی پیدا کرده‌اند (۱۶). همچنین، گزارش شده که تجویز محیطی

1. Kern
2. Fan

انسولین در شرایط قند خون طبیعی یا بالا، موجب بهبود حافظه در مبتلایان به آلزایمر گردیده؛ در حالی که قند خون بالا به تنهایی چنین تأثیری نداشته است. اطلاعاتی نیز در دست است که مقاومت به انسولین می‌تواند حافظه دیداری را در افراد جوان چاق تحت تأثیر قرار دهد (۱۷). مرور پژوهش‌ها در این زمینه نشان می‌دهد که تأثیر

انسولین بر حافظه، بحث‌برانگیز بوده و نیازمند بررسی بیشتری است؛ از این رو هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر تزریق صفاقی انسولین بر رفتار حرکتی متأثر از حافظه و یادگیری فضایی در موش‌های صحرائی نر می‌باشد. فرض ما بر این بود که تجویز سیستمیک انسولین می‌تواند عملکرد حرکتی حیوانات در ماز آبی را در مرحله اکتساب و یادداری تحت تأثیر قرار دهد.

روش پژوهش

این پژوهش از نوع تجربی بوده و به شکل مداخله‌ای انجام شده است. رت‌های نر بالغ از نژاد آلبینو - ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم (سه ماهه) از انستیتو پاستور ایران تهیه گشته و سپس، به صورت تصادفی در گروه‌های آزمایشی جایگزین شدند. محل نگهداری حیوانات دارای دوره روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته (شروع تاریکی هفت بعد از ظهر)، دمای 25 ± 2 سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰٪ بود و آب و غذا به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار داشت. کلیه آزمایش‌ها بر اساس اصول کمیته اخلاق انستیتو پاستور ایران و مطابق با مقررات نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. به منظور سازگاری با شرایط، قبل از اعمال هرگونه دست‌کاری و اجرای پروتکل، حیوانات به مدت یک هفته در محل جدید نگهداری شدند.

تزریق انسولین به شکل سیستمیک یا محیطی (صفاقی (i.p.)) با دوزهای ۰، ۱، شش و ۱۲ واحد بر کیلوگرم انجام شد. بدین منظور، حیوانات به صورت تصادفی در چهار گروه کنترل - سالین، انسولین دوز یک، انسولین دوز شش و انسولین دوز ۱۲ جایگزین شدند که تعداد آزمودنی‌ها در هر گروه ۱۰ سر موش صحرائی نر بود. سپس، محلول انسولین بر اساس وزن حیوانات با ترکیب داروی انسولین رگولار و نرمال سالین و بر اساس مقادیر ذکر شده تهیه گردید. تزریق محلول انسولین در گروه‌های مربوطه به مدت یک هفته انجام شد.

برای تعیین میزان گلوکز پس از بی‌هوشی خفیف به وسیله اتر، یک میلی‌لیتر خون از قلب حیوان گرفته شد. پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه (به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار

درجه سانتی‌گراد)، سرم جدا گشت و در دمای ۷۰- درجه نگهداری شد. برای اندازه‌گیری گلوکز از کیت «گلوکز، کلرومتریک آنزیماتیک، تهران، ایران» استفاده گردید. بعد از اتمام هفت روز تجویز دارو، آموزش حیوانات در ماز آبی موریس (MWM) شروع شد. ماز آبی، یک مخزن فلزی با دیواره سیاه‌رنگ به قطر ۱۳۶ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر است که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متری با آب 20 ± 1 درجه پر شده و به‌طور فرضی به چهار منطقه مساوی تقسیم می‌شود. یک سکو از جنس پلکسی‌گلاس (با قطر ۱۵ سانتی‌متر) در ربع دایره شمال شرقی و $1/5$ سانتی‌متری زیر سطح آب قرار داده می‌شود. تکلیف حیوان، پیدا کردن سکوی نهفته و قرار گرفتن بر روی آن می‌باشد. اتاقی که ماز در آن قرار داشت دارای اجسام و علائم تعبیه‌شده مانند پوستر قفسه و پنجره بود. فعالیت حرکتی حیوان از طریق یک دوربین مجهز به اشعه مادون قرمز و نیز نرم‌افزار «اتو-ویژن ورژن ۷» که در بالای مرکز ماز قرار داشت کنترل و ثبت می‌گردید. با استفاده از این سیستم، امکان ثبت دقیق مدت‌زمان رسیدن به سکو، مسافت طی‌شده و سرعت شنای موش فراهم می‌شد. ملاک عملکرد حرکتی حیوانات، یافتن سکوی پنهان در کمترین زمان و مسافت می‌باشد؛ بدین معنی که با بهبود یادگیری فضایی، زمان پیدا کردن سکو و نیز مسافتی که موش شنا می‌کند کاهش می‌یابد. پروتکل آموزش در مرحله اکتساب شامل یک بلاک چهار کوششی در روز به‌مدت چهار روز بود. در هر کوشش، رت به‌صورت تصادفی از یکی از چهار منطقه به داخل آب رها می‌شد. پس از دست‌یابی به سکو، به رت اجازه داده می‌شد که به‌مدت ۲۰ ثانیه روی آن باقی بماند. این زمان به رت این امکان را می‌دهد که با توجه به نشانه‌های فضایی خارج از ماز، محل سکو را به‌خاطر بسپارد. در صورتی که موش پس از گذشت ۶۰ ثانیه قادر به پیدا کردن سکو نبود، توسط آزمونگر به سمت سکو هدایت شده و به‌مدت ۲۰ ثانیه روی آن استراحت می‌کرد. پس از پایان مرحله اکتساب، حیوانات به‌مدت چهار روز در قفس نگهداری شدند. سپس، برای اندازه‌گیری حافظه فضایی (مرحله یادداری) آزمون MWM تکرار شد.

در این پژوهش، میانگین اطلاعات ($M \pm S.E.M$) ارائه شده است. از سوی دیگر، با توجه به این که این پژوهش در مرحله اکتساب شامل مقایسه‌های بین گروهی و درون‌گروهی می‌باشد، تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس مختلط بین گروهی و درون‌گروهی (SPANOVA) صورت گرفته

1. Glucose, Colorimetric Enzymatic, Parsazmun, Tehran, Iran.
2. Morris Water Maze
3. Etho-Vision ver.7
4. Acquisition
5. Recall

است. در مرحله یادداری نیز برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شده است.

نتایج

تحلیل واریانس مختلط بین گروهی - درون گروهی برای ارزیابی تأثیر مداخله گروه (دوزهای مختلف انسولین) بر رفتار حرکتی (مسافت طی شده و تأخیر زمانی در دسترسی به سکوی پنهان) حیوانات در چهار دوره زمانی (روز اول تا چهارم) اجرا شد.

در مسافت طی شده تا سکوی پنهان، آزمون موخلی نشان داد که فرض کرویت برقرار نیست ($F_{(5)}^2=23.3, P<0.001$)؛ بنابراین، با توجه به میزان اپسیلون ($0.75 <$)، درجات آزادی با استفاده از تخمین کرویت گرین‌هاوس-گیزر اصلاح گردید. براساس یافته‌ها مشخص شد که هیچ تعامل معناداری بین گروه - روز وجود نداشته ($F_{(6.52, 84.8)}=1.32, P=0.255$)؛ اما، اثر اصلی قابل توجهی برای زمان (روز) وجود دارد ($F_{(2.18, 84.8)}=145.5, P<0.001, \eta^2=0.789$). براساس مقیاس کوهن، مجذور جزئی ایتا نشان می‌دهد که اندازه اثر به دست آمده بسیار بزرگ است. آزمون بونفرونی نیز نشان داد که مسافت طی شده تا سکوی پنهان در طول چهار دوره زمانی کاهش معناداری داشته است. جدول ۱ میانگین مسافت طی شده را در چهار دوره زمانی نشان می‌دهد.

از سوی دیگر، مشخص شد که اثر اصلی گروه معنادار است ($F_{(3,39)}=12.42, P<0.001, \eta^2=0.489$). مجذور جزئی ایتا اندازه اثر بزرگی را برای تأثیر تجویز انسولین بر دست‌یابی به سکوی پنهان نشان می‌دهد. همچنین، آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که تمامی دوزهای انسولین (یک، شش و ۱۲ واحد برکیلوگرم) بر کاهش مسافت طی شده مؤثر هستند (شکل ۱- ب). جدول ۲ میانگین مسافت طی شده در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

در مورد تأخیر زمانی در رسیدن به سکوی پنهان، آزمون موخلی نشان داد که فرض کرویت برقرار نیست ($F_{(5)}^2=30.59, P<0.001$)؛ بنابراین با توجه به میزان اپسیلون ($0.75 <$)، درجات آزادی با استفاده از تخمین کرویت گرین‌هاوس-گیزر اصلاح گردید. همچنین، مشخص شد که تعامل معناداری بین گروه - روز وجود نداشته ($F_{(6.46, 83.92)}=1.99, P=0.06$)، اما اثر اصلی قابل توجهی برای زمان (روز) وجود دارد ($F_{(2.15, 83.92)}=153.24, P<0.001, \eta^2=0.797$). مجذور جزئی ایتا نیز نشان می‌دهد که اثر به دست آمده بسیار بزرگ است. علاوه بر این، آزمون بونفرونی نشان داد که تأخیر زمانی در دست‌یابی

به سکوی پنهان در طول چهار دوره زمانی کاهش معناداری داشته است. جدول ۱ تأخیر زمانی در چهار روز مرحله اکتساب را نشان می‌دهد.

از سوی دیگر، اثر اصلی گروه معنادار می‌باشد ($F_{(3,39)} = 5.26, P=0.004, \eta^2=0.288$). براساس مقیاس کوهن، مجذور جزئی ایستا اندازه اثر بزرگی را برای تأثیر انسولین بر کاهش تأخیر زمانی دستیابی به سکوی پنهان نشان می‌دهد. آزمون تعقیبی بونفرونی نیز نشان داد که تنها تجویز انسولین با دوز ۱۲ واحد بر کیلوگرم، بر کاهش تأخیر زمانی مؤثر است (شکل ۱- الف). میانگین تأخیر زمانی گروه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

همچنین، اطلاعات مربوط به سرعت شنا تفاوت معناداری را بین گروه‌ها نشان نداد؛ یعنی، تزریق دوزهای مختلف انسولین تأثیری بر میزان انگیختگی حیوانات نداشته است (اطلاعات نشان داده نشده است).

در مورد تأثیر تجویز انسولین بر فعالیت حرکتی در مرحله یادداری، آزمون ANOVA نشان داد که در تأخیر زمانی در دستیابی به سکو ($F_{(3,39)} = 16.61, p<0.001, \eta^2=0.561$) تفاوت معناداری میان گروه‌ها وجود دارد. آزمون تعقیبی نیز نشان داد که در مورد تأخیر زمانی رسیدن به سکو، دوزهای یک و ۱۲ واحد موجب بهبود زمان می‌شود. در حالی که دوز شش واحد تأثیر معناداری در این مورد ندارد. در شکل (۱- ج) تفاوت بین گروه‌ها نشان داده شده است. جدول ۲ نیز میانگین مسافت و زمان را در مرحله یادداری نشان می‌دهد.

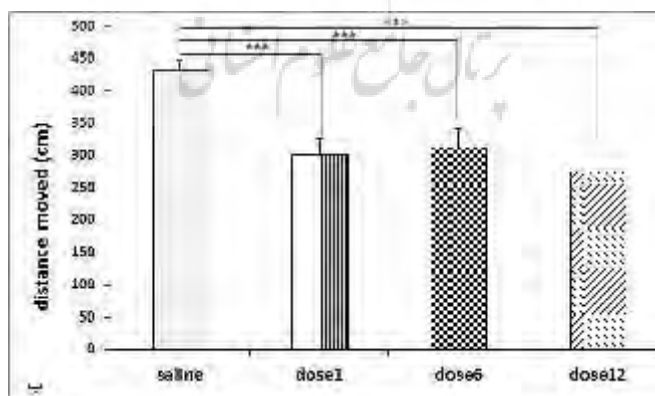
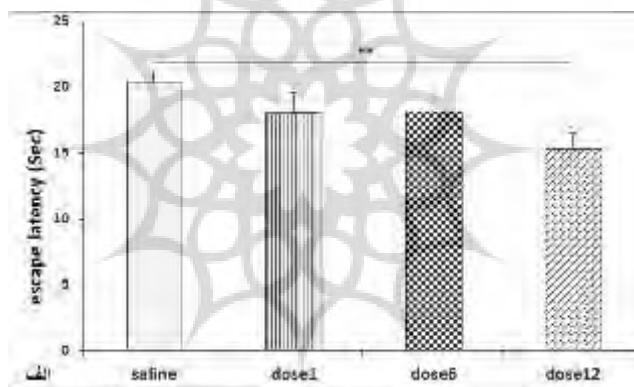
علاوه بر این، یافته‌ها نشان داد که تجویز انسولین میزان گلوکز خون را تحت تأثیر قرار نداده است شکل (۱- د). در نتیجه، سطوح گلوکز خون در نتایج به دست آمده در ماز آبی تأثیرگذار نمی‌باشد.

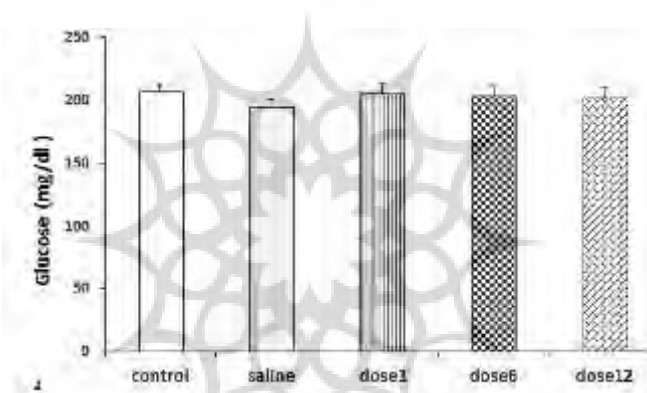
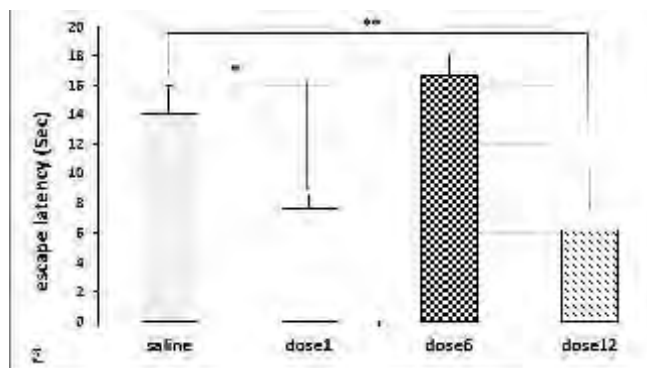
جدول ۱- شاخص‌های فعالیت حرکتی در طول چهار روز مرحله اکتساب

روز	تعداد	مسافت طی شده (سانتی‌متر)		تأخیر زمانی (ثانیه)	
		M	S.E.	M	S.E.
اول	۴۳	۶۲۴/۴۲	۲۵/۶۵	۳۲/۳۷	۱/۱۹
دوم	۴۳	۳۴۷/۵۲	۲۰/۳۸	۱۷/۴۲	۰/۹۶
سوم	۴۳	۲۰۶/۰۶	۱۶/۷۶	۱۱/۵۶	۰/۷۹
چهارم	۴۳	۱۳۶/۹۳	۷/۷	۸/۴۲	۰/۵۳

جدول ۲- میانگین مسافت طی شده و تأخیر زمانی گروه‌ها در دست‌یابی به سکوی پنهان

مرحله	گروه	تعداد	مسافت طی شده (سانتی‌متر)		تأخیر زمانی (ثانیه)	
			S.E.	M	S.E.	M
اکتساب	کنترل - سالین	۱۲	۴۳۱/۲۷	۱۹/۵۶	۲۰/۴۵	۰/۹۷
	انسولین ۱	۱۱	۲۹۹/۵۶	۲۰/۴۳	۱۶/۸۶	۱/۰۰۸
	انسولین ۶	۹	۳۰۹/۹۲	۲۲/۵۸	۱۷/۴۶	۱/۱۱
	انسولین ۱۲	۱۱	۲۷۴/۱۸	۲۰/۴۳	۱۵/۰۳	۱/۰۰۸
یادداری	کنترل - سالین	۱۲	۲۱۶/۴۶	۱۸/۱۶	۱۴	۱/۲
	انسولین ۱	۱۱	۱۱۳/۷۳	۱۸/۹۷	۷/۷۳	۱/۲۵
	انسولین ۶	۹	۱۰۱/۰۹	۲۰/۹۷	۱۷/۱۴	۱/۳۸
	انسولین ۱۲	۱۱	۹۱/۹	۱۸/۹۷	۵/۸۸	۱/۲۵





شکل ۱- نتایج آزمون تحلیل واریانس مختلط در مورد اثر انسولین بر عملکرد حرکتی

الف) تأخیر زمانی در رسیدن به سکو در مرحله اکتساب

ب) مجموع مسافت طی شده تا سکو در مرحله اکتساب

ج) تأخیر زمانی در رسیدن به سکو در مرحله یادداری

د) سطوح گلوکز سرم

مقادیر ارائه شده بر اساس $M \pm S.E.M$ است. *، **، *** و * به ترتیب نشان دهنده $P < 0.001$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.05$ می باشد.

بحث و نتیجه گیری

تجویز سیستمیک انسولین در گروه‌های عادی، تأثیر مثبتی را بر یادگیری و حافظه حیوانات نشان داد که این تأثیر وابسته به دوز بود. این یافته با نتایج پژوهش آگراوال و همکاران (۲۰۰۸) مبنی بر تأثیر مثبت تزریق محیطی انسولین در برابر تخریب حافظه ناشی از تزریق اسکوپولامین همخوانی دارد (۸).

علاوه بر این، نتیجه پژوهش حاج علی و همکاران (۲۰۰۹) که نشان دادند تزریق مرکزی انسولین موجب بهبود (وابسته به دوز) فعالیت حرکتی در مرحله بازیابی می شود نیز با یافته پژوهش حاضر همسو است (۹). هم راستا با این نتایج، در مطالعات انسانی نیز اثربخشی انسولین بر حافظه گزارش شده است. در پژوهشی، تزریق سیستمیک انسولین تحت شرایط قند خون طبیعی، پیشرفت معنادار حافظه را در توجه کلامی و انتخابی ایجاد کرد (۱۲). همچنین، بندیکت و همکاران نشان دادند که تجویز انسولین از طریق بینی می تواند حافظه و خلق را بهبود بخشد (۱۸)؛ اما در مقابل، تعدادی از مطالعات نشان داده اند که تزریق صفاقی انسولین پس از تمرین، اثر تخریبی وابسته به دوز بر یادداری دارد (۵). در این زمینه، آکانمو و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که تزریق صفاقی انسولین موجب تخریب معنادار و وابسته به دوز حافظه فعال فضایی (در ماز Y) می شود (۶). در برخی از مطالعات نیز عدم تأثیر تجویز انسولین بر یادگیری و حافظه فضایی گزارش شده است (۱۹). ناهمخوانی یافته حاصل از این پژوهش با پژوهش های ذکر شده را می توان به عواملی مانند اختلاف در نوع آزمون، آزمودنی ها و نیز تفاوت در نوع و میزان تجویز انسولین نسبت داد. در پژوهش های یاد شده، نوع آزمون رفتاری و نوع نژاد حیوانات مورد آزمون نیز با پژوهش حاضر متفاوت بود. همچنین، از دوزهای متفاوت انسولین استفاده شد. در یک مورد نیز تزریق از نوع مرکزی می باشد. در توجیه این موارد پژوهش ها نشان داده اند که نوع آزمون رفتاری (۲۰) و نژاد حیوانات (۲۱) می تواند در کسب نتایج مختلف اثرگذار باشد. همچنین، تأثیر انسولین وابسته به دوز بوده (۹، ۱۹) و تنوع در مقادیر تجویز شده در پژوهش های مختلف نیز می تواند موجب تفاوت در یافته ها شود. از سوی دیگر، در هیچ یک از پژوهش های فوق میزان گلوکز سرم گزارش نشده است؛ بنابراین، مشخص نیست که آیا افت عملکرد مربوط به تأثیر انسولین بر غلظت گلوکز بوده است یا خیر؟ علاوه بر این، تجویز محیطی و مرکزی انسولین، مراکز جداگانه ای را در مغز تحت تأثیر قرار می دهد که این امر می تواند اثرات متفاوتی را بر رفتار حیوان داشته باشد؛ برای مثال، تجویز محیطی انسولین سطح استیل کولین را در آمیگدال افزایش می دهد. در حالی که تجویز مغزی بطنی بر میزان استیل کولین موجود در مغز میانی، هسته های دم دار، پل مغزی و بصل النخاع می افزاید (۹) که این امر نیز می تواند از دیگر دلایل احتمالی غیر همسو بودن یافته های پژوهش حاضر با سایر پژوهش ها باشد.

نخستین سازوکار احتمالی تأثیر انسولین بر عملکرد حافظه، اثر تنظیمی آن بر جذب انرژی به همان شیوه ای است که در وضعیت سیستمیک نیز روی می دهد. در تأیید این دیدگاه گزارش شده است که تجمع فسفوکراتین در هیپوکمپ پس از تزریق مرکزی انسولین افزایش می یابد که این امر نشان دهنده

آن است که مصرف انرژی در هیپوکمپ، به انسولین وابسته است (۲۲). علاوه بر این، نشان داده شده است که ناقل گلوکز وابسته به انسولین در چندین ناحیه از مغز از جمله هیپوکمپ وجود دارد (۲۳). همچنین، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تجویز گلوکز چه به صورت محیطی (۲۴) و چه به صورت مرکزی (۲۵)، موجب بهبود حافظه می‌گردد. در مقابل، ژائو و همکاران (۲۰۰۴) معتقد هستند که بهبود حافظه به وسیله انسولین ممکن است به دلیل تنظیم گلوکز نباشد (۲۶)؛ زیرا، اساساً مغز دو نوع ناقل گلوکز را نیز بیان می‌کند که به انسولین حساس نیستند (GLUT1 و GLUT3). تنها میزان کمی از ناقل گلوکز حساس به انسولین (GLUT4) در CNS بیان می‌شود که اغلب در مخچه و به میزان بسیار کمی در هیپوکمپ وجود دارد. ژائو و همکاران بر اساس این حقیقت که گیرنده‌های انسولین در CNS ممکن است به لحاظ عملکردی متفاوت باشند و نیز با توجه به جذب غیر حساس به انسولین گلوکز و متابولیسم آن در سلول‌های مغز بیان کردند که عملکرد حافظه از طریق متابولیسم گلوکز نمی‌باشد (۲۶). سازوکار احتمالی دیگر تأثیر انسولین بر حافظه، اثرات غیر متابولیک آن بر هیپوکمپ است. یکی از این اثرات غیر متابولیک، عمل تنظیم عصبی انسولین بر فعالیت سیناپسی و پاسخ‌های پس سیناپسی می‌باشد (۲۷). موارد فوق می‌تواند تأییدی بر یافته‌های پژوهش حاضر باشد. در پژوهش حاضر با این که تجویز دوزهای مختلف انسولین در سطوح گلوکز گروه‌های تحت مداخله تأثیر نداشت؛ اما توانست یک اثر مثبت وابسته به دوز را بر عملکرد شناختی ایجاد کند. همچنین، شواهد موجود نشان می‌دهد که انسولین می‌تواند انتقال وابسته به گلو تامات و گابا را تنظیم کند؛ برای مثال، قرار گرفتن اندک موجودات تک‌یاخته‌ای در معرض انسولین، باعث بیان زیاد گیرنده‌های $NMDA^3$ شده و جریانات گیرنده‌های $NMDA$ را از طریق تقویت پاسخ این گیرنده‌ها تنظیم می‌کند (۲۸، ۲۹). نتایج مشابهی نیز در برش‌های مقطعی هیپوکمپ یافته شده است (۲۹).

تأثیر مثبت انسولین توسط پروتئین تیروزین کیناز (PTK) و بازدارنده‌های پروتئین کیناز سرکوب می‌شود. این موضوع نشان می‌دهد که پروتئین تیروزین کینازها و فعالیت پروتئین کیناز، یک عنصر مهم در اثرات انسولین بر گیرنده‌های $NMDA$ می‌باشد (۲۸). انسولین، واحدهای فرعی گیرنده‌های $NMDA$ هیپوکمپ را به طور موقت فسفریله می‌کند و به نظر می‌رسد که ممکن است فسفریلاسیون گیرنده، علت تأثیر مثبت انسولین باشد (۳۰). علاوه بر اثرات انسولین بر فعالیت گیرنده $NMDA$ ، قادر

-
1. GLUT4
 2. Zhao
 3. N-Methyl-D-aspartic acid
 4. Subunits

به افزایش تنظیمی گیرنده NMDA بوده و می‌تواند انتقال سیناپسی تحریکی را نیز تنظیم کند (۳۱). با علم به این که گیرنده‌های NMDA نقش مهمی در شکل‌پذیری سیناپسی، یادگیری و حافظه دارند می‌توان دریافت که اثرات انسولین بر حافظه ممکن است تا اندازه‌ای از طریق تنظیم انتقال NMDA صورت گیرد (۲۶).

انسولین علاوه بر تأثیر بر گیرنده‌های NMAD می‌تواند حمل نوع دیگری از گیرنده وابسته به گلوتامین به نام گیرنده AMPA را نیز تنظیم کند. گیرنده‌های AMPA دارای نقش حیاتی در یادگیری و حافظه هستند؛ زیرا، مطالعات نشان داده‌اند که تبدیل (وابسته به رشد و فعالیت) سیناپس‌های گلوتامینرژیک خاموش به سیناپس‌های فعال، به حمل گیرنده‌های AMPA به این سیناپس‌ها بستگی دارد. جالب آن که از طریق افزودن مزمن انسولین، این‌گونه تبدیل سیناپس‌های خاموش به سیناپس‌های فعال شتاب می‌گیرد (۳۲).

همچنین، از جمله گیرنده‌هایی که دارای نقش مهمی در عملکردهای مختلف عصبی از قبیل یادگیری و حافظه می‌باشند، گیرنده‌های GABA هستند (۳۳). شواهد موجود نشان می‌دهد که انسولین از طریق گیرنده‌های گابا نیز می‌تواند بر یادگیری و حافظه فضایی تأثیر بگذارد. در مجموع، انسولین می‌تواند تجمع چندین ناقل شیمیایی مانند استیل‌کولین را نیز تنظیم نماید که این تنظیم، سازوکار احتمالی دیگری است که انسولین از طریق آن بر عملکرد حرکتی متأثر از یادگیری تأثیر می‌گذارد (۱۵).

این پژوهش شواهدی را مبنی بر این که انسولین علاوه بر اثرات شناخته‌شده مانند تأثیر بر دیابت ممکن است بتواند موجب بهبود عملکرد شناختی - حرکتی نیز شود ارائه کرد؛ از این رو برخلاف گزارش‌های موجود، تجویز محیطی انسولین به‌عنوان یک روش کاربردی می‌تواند موجب بهبود یادگیری، حافظه و در نتیجه، ارتقای عملکرد حرکتی شود. با این حال، شناخت سازوکار دقیق مداخلات دارویی نیاز به مطالعات بیشتر و بررسی هم‌زمان شاخص‌های رفتاری و فیزیولوژیک دارد.

پیام مقاله: انسولین علاوه بر اثرات شناخته شده، بر یادگیری و حافظه نیز موثر بوده و استفاده مناسب از آن می‌تواند به عنوان یکی از روش‌های ارتقاء عملکرد حرکتی و شناختی مورد توجه علمی و عملی قرار گیرد.

1. A-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
2. Gamma-aminobutyric acid (GABA) receptors

منابع

- 1) Craft S, Baker L D, Montine T J, Minoshima S, Watson G S, Claxton A, et al. Intranasal Insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: A pilot clinical trial. *Archives of Neurology*. 2012; 69(1): 29-38.
- 2) Morris R G. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*. 1981; 12(2): 239-60.
- 3) Zhao W, Chen H, Xu H, Moore E, Meiri N, Quon M J, et al. Brain insulin receptors and spatial memory correlated changes in gene expression, tyrosine phosphorylation, and signaling molecules in the hippocampus of water maze trained rats. *Journal of Biological Chemistry*. 1999; 274(49): 34893-902.
- 4) Dou J T, Chen M, Dufour F, Alkon D L, Zhao W Q. Insulin receptor signaling in long-term memory consolidation following spatial learning. *Learn Mem*. 2005; 12(6): 646-55.
- 5) Ghasemi R, Haeri A, Dargahi L, Mohamed Z, Ahmadiani A. Insulin in the brain: Sources, localization and functions. *Molecular Neurobiology*. 2013; 47(1): 145-71.
- 6) Akanmu M A, Nwabudike N L, Ilesanmi O R. Analgesic, learning and memory and anxiolytic effects of Insulin in mice. *Behav Brain Res*. 2009; 196(2): 237-41.
- 7) Kopf S R, Baratti C M. Effects of posttraining administration of glucose on retention of a habituation response in mice: Participation of a central cholinergic mechanism. *Neurobiology of Learning and Memory*. 1996; 65(3): 253-60.
- 8) Agrawal R, Tyagi E, Shukla R, Nath C. Effect of Insulin and melatonin on acetylcholinesterase activity in the brain of amnesic mice. *Behavioural Brain Research*. 2008; 189(2): 381-6.
- 9) Haj-Ali V, Mohaddes G, Babri S. Intracerebroventricular Insulin improves spatial learning and memory in male Wistar rats. *Behavioral Neuroscience*. 2009; 123(6): 1309.
- 10) McNay E C, Ong C T, McCrimmon R J, Cresswell J, Bogan J S, Sherwin R S. Hippocampal memory processes are modulated by insulin and high-fat-induced Insulin resistance. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2010; 93(4): 546-53.
- 11) Moosavi M, Naghdi N, Maghsoudi N, Zahedi Asl S. The effect of intrahippocampal Insulin microinjection on spatial learning and memory. *Hormones and Behavior*. 2006; 50(5): 748-52.
- 12) Kern W, Peters A, Fruehwald-Schultes B, Deininger E, Born J, Fehm H L. Improving influence of Insulin on cognitive functions in humans. *Neuroendocrinology*. 2001; 74(4): 270-80.
- 13) Benedict C, Hallschmid M, Schmitz K, Schultes B, Ratter F, Fehm H L, et al. Intranasal Insulin improves memory in humans: Superiority of insulin aspart. *Neuropsychopharmacology*. 2006; 32(1): 239-43.
- 14) Fan X, Copeland P M, Liu E Y, Chiang E, Freudenreich O, Goff D C, et al. No effect of single-dose intranasal Insulin treatment on verbal memory and sustained attention in patients with schizophrenia. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2011; 31(2): 231-4.

- 15) Reger M, Watson G, Frey I W, Baker L, Cholerton B, Keeling M, et al. Effects of intranasal Insulin on cognition in memory-impaired older adults: Modulation by APOE genotype. *Neurobiology of Aging*. 2006; 27(3): 451-8.
- 16) Moatassem S, Amer M S K, Nermien N, Adly Mohamed O. El maraghy Insulin resistance and cognitive functions in a sample of prefrail, frail and non-frail elderly. *Scientific Research*. 2014; 3(2): 177-86.
- 17) Limbers C A, Steadman J, Bryant W, Stephen M. Cognitive functioning and Insulin regulation in obese youth. *Open Journal of Medical Psychology*. Vol.3 No.1 (2014), Article ID:41652,6 pages.
- 18) Benedict C, Hallschmid M, Hatke A, Schultes B, Fehm H L, Born J, et al. Intranasal Insulin improves memory in humans. *Psychoneuroendocrinology*. 2004; 29(10): 1326-34.
- 19) Moosavi M, Naghdi N, Maghsoudi N, Zahedi Asl S. Insulin protects against stress-induced impairments in water maze performance. *Behavioural Brain Research*. 2007; 176(2): 230-6.
- 20) Saadati H. Effects of exercise on memory retrieval in passive avoidance learning in young male wistar rats. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2012; 3(1): 41-48.
- 21) Pecoraro N, Ginsberg A B, Warne J P, Gomez F, la Fleur S E, Dallman M F. Diverse basal and stress-related phenotypes of Sprague Dawley rats from three vendors. *Physiology & Behavior*. 2006; 89(4): 598-610.
- 22) Henneberg N, Hoyer S. Short-term or long-term intracerebroventricular (icv) infusion of Insulin exhibits a discrete anabolic effect on cerebral energy metabolism in the rat. *Neuroscience letters*. 1994; 175(1):153-6.
- 23) Vannucci S J, Koehler-Stec E M, Li K, Reynolds T H, Clark R, Simpson I A. GLUT4 glucose transporter expression in rodent brain: Effect of diabetes. *Brain Research*. 1998; 797(1): 1-11.
- 24) Hall J L, Gonder-Frederick L, Chewning W, Silveira J, Gold P. Glucose enhancement of performance of memory tests in young and aged humans. *Neuropsychologia*. 1989; 27(9): 1129-38.
- 25) Lee M K, Graham S N, Gold P E. Memory enhancement with posttraining intraventricular glucose injections in rats. *Behavioral Neuroscience*. 1988; 102(4): 591.
- 26) Zhao W-Q, Chen H, Quon M J, Alkon D L. Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory. *European Journal of Pharmacology*. 2004; 490(1): 71-81.
- 27) Park C R, Seeley R J, Craft S, Woods S C. Intracerebroventricular Insulin enhances memory in a passive-avoidance task. *Physiology & behavior*. 2000; 68(4): 509-14.
- 28) Liao G Y, Leonard J P. Insulin modulation of cloned mouse NMDA receptor currents in *Xenopus* oocytes. *Journal of Neurochemistry*. 1999; 73(4): 1510-9.
- 29) Liu L, Brown J C, Webster W W, Morrisett R A, Monaghan D T. Insulin potentiates N-Methyl-D-aspartate receptor activity in *Xenopus* oocytes and rat hippocampus. *Neurosci Lett*. 1995; 192(1): 5-8.

- 30) Christie J, Wenthold R, Monaghan D. Insulin causes a transient tyrosine phosphorylation of NR2A and NR2B NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Journal of Neurochemistry*. 1999; 72(4): 1523-8.
- 31) Skeberdis V A, Lan J-y, Zheng X, Zukin R S, Bennett M V. Insulin promotes rapid delivery of N-Methyl-D-aspartate receptors to the cell surface by exocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001; 98(6): 3561-6.
- 32) Plitzko D, Rumpel S, Gottmann K. Insulin promotes functional induction of silent synapses in differentiating rat neocortical neurons. *European Journal of Neuroscience*. 2001; 14(8): 1412-5.
- 33) Ormond J, Woodin M A. Disinhibition-mediated LTP in the hippocampus is synapse specific. *Front Cell Neurosci*. 2011; 5(17): 145.

ارجاع دهی به روش ونکوور

رحمانی احمد، نقدی ناصر، صالحی جواد، گرزلی علی. تأثیر تجویز سیستمیک انسولین بر حافظه و یادگیری فضایی موش‌های صحرایی نر. رفتار حرکتی. زمستان ۱۳۹۴؛ ۷(۲۲): ۷۰-۵۵.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

The effect of systemic administration of insulin on spatial memory and learning in male rats

A. Rahmani¹, N. Naghdi², J. Salehi³, A. Gorzi³

1. Assistant Professor at University of Zanjan*
2. Professor at Pasteur Institute of Iran
3. Assistant Professor at University of Zanjan

Received date: 2015/02/08

Accepted date: 2015/08/26

Abstract

Thus the aim of the current study was to determine whether intraperitoneal (i.p.) administration of insulin improves the water maze motor performance of the rats. Forty male wistar rats were randomly assigned to four groups (each 10 rats). Insulin was injected (0, 1, 6, and 12 U/Kg) once daily for one week. Animals training and testing were conducted using the Morris water maze. Data analyzed using split plot ANOVA (SPANOVA). Results showed significant main effect of time for distance and escape latency in acquisition stage ($P < 0.001$). Also, intraperitoneal injection of insulin, without any significant effect on serum glucose levels, significantly reduced distance moved ($P < 0.001$) and escape latency ($P = 0.004$). Moreover, in retention test, insulin reduced escape latency to hidden platform in a dose dependent manner (dose 12 & 1 U/Kg). Therefore, peripheral administration of insulin has central effects and can enhance motor performance via improvement of spatial learning and memory.

Keywords: Insulin, Motor performance, Spatial learning, Memory

*Corresponding author

E-mail: rahmani203@gmail.com