

تأثیر میدان شعوری فرادرمانی بر ساختار و عملکرد هیپوکمپ و سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های دیابتی STZ

محمدعلی طاهری^۱، ندا خالدی^{۲*}

* نویسنده مسئول: ندا خالدی

ایمیل: neda.khaledi@outlook.com

۱. بخش تحقیق و توسعه‌ی ساینس‌فکت، مرکز تحقیقات کازمواینتل، انتاریو، کانادا

۲. دانشگاه خوارزمی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، ایران، تهران

DOI: <http://doi.org/10.61450/joci.FA.v3i15.199>

چکیده

بیماری دیابت یک مشکل رو به رشد است که به ساختار و عملکرد مغز آسیب می‌رساند. به ویژه هیپوکمپ که برای یادگیری و حافظه بسیار مهم است، تحت تأثیر اختلال در هموستازی گلوکز قرار می‌گیرد. میدان‌های شعوری طاهری (TCFs) را که ماهیتی غیرفیزیکی دارند محمدعلی طاهری معرفی کرده است. می‌توان تأثیر این میدان‌ها را بر موضوعات گوناگون، مانند موجودات زنده و غیرزنده بررسی کرد. هدف این مطالعه بررسی تأثیر نوعی از TCFs به نام میدان شعوری فرادرمانی بر ساختار و عملکرد هیپوکمپ در موش‌های دیابتی است. موش‌های نر ویستار ($n=48$ ، وزن: 10 ± 150 گرم، سن: ۸ هفته) به چهار گروه ($n=12$) شامل کنترل (C)، تحت تأثیر میدان شعوری فرادرمانی (T)، کنترل دیابتی (D)، میدان شعوری فرادرمانی + دیابتی (DT) تقسیم شدند. میدان شعوری فرادرمانی به مدت هشت هفته بر گروه‌های دیابتی (DT) و T اعمال شد. تزریق داخل صفاقی محلول STZ (50 mg/kg) برای القای دیابت استفاده شد. عملکردهای شناختی با استفاده از ماز آبی موریس ارزیابی شد. در پایان آزمایش، موش‌ها قربانی شدند و مغزهای آن‌ها برای رنگ‌آمیزی Nissl پردازش شدند تا تعداد نورون‌های زنده در هیپوکمپ کمی‌سازی شود. رنگ‌آمیزی H&E، از نظر بی‌نظمی و از دست دادن سلول‌ها در نواحی مغزی گروه دیابتی تغییرات قابل توجهی نشان داد. بر اساس رنگ‌آمیزی Nissle، درمان با فرادرمانی در گروه‌های دیابتی، به‌طور معناداری مرگ سلول‌ها را در نواحی CA3 و DG هیپوکمپ کاهش داد. علاوه بر این، نرخ تخریب سلول‌های بتا و آپوپتوز سلولی، به‌طور مقایسه‌ای، در گروه DT کاهش یافت اما معنادار نبود. داده‌های ماز آبی موریس نشان داد عملکرد شناختی گروه‌های دیابتی نسبت به گروه غیردیابتی ضعیف‌تر بود. گروه T در تمام روزها زمان بیش‌تری در ناحیه هدف گذراند، در حالی که گروه DT در روز دوم بهتر از گروه D عمل کرد. اگرچه مسافت طی‌شده در گروه‌های فرادرمانی به‌طور معناداری بیش‌تر بود اما زمان صرف‌شده در منطقه‌ی هدف برای گروه‌های T و DT نشان‌دهنده‌ی احتمال بهبود در حفظ حافظه بود. در نتیجه، این آزمایش شواهدی از تأثیرات فرادرمانی بر ساختار و عملکرد هیپوکمپ در مدل حیوانی ارائه می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: میدان‌های شعوری طاهری، فرادرمانی، عملکرد شناختی، دیابت ملیتوس، شبکه‌ی شعور کیهانی

مقدمه

دیابت، نوعی مشکل متابولیک جدی در جهان محسوب می شود. انواع گوناگون دیابت با هیپرگلیسمی، مقاومت به انسولین و کمبود نسبی انسولین مشخص می شود [۱]. مطالعات نشان داده اند تغییرات سبک زندگی (تغییراتی مانند کاهش وزن، افزایش تحرک و مصرف کم تر گلوکز و منابع پر کالری) می تواند از بیماری و پیشرفت آن جلوگیری کند [۲].

بر اساس نتایج مطالعات اخیر، سطوح بالای گلوکز به عنوان دلیل اصلی آسیب به سیستم عصبی در نظر گرفته می شود [۳]. ساختار هیپوکمپ بخشی از سیستم لیمبیک است که منطقه ی کلیدی مغز برای بسیاری از اشکال یادگیری و حافظه است؛ به ویژه به تغییرات در هموستاز گلوکز حساس است و نورو های آن در برابر دیابت بسیار آسیب پذیرند [۳]. احتمال دارد بیماری دیابت منجر به حجم کم هیپوکمپ و مغز شود [۴].

تخریب سلول های بتا عامل اساسی اختلال در تولید انسولین در هر دو دیابت نوع ۱ (T1D) و مراحل پیشرفته ی دیابت نوع ۲ (T2D) است. در T1D یک پاسخ خودایمنی، سلول های بتا را هدف قرار می دهد و به اشتباه آن ها را از بین می برد؛ در نتیجه، تولید انسولین به میزان قابل توجهی کم می شود. این امر تنظیم سطح گلوکز خون را به خطر می اندازد و نیاز به تجویز انسولین خارجی دارد. در T2D، قرار گرفتن مداوم در معرض افزایش گلوکز خون و عوامل متابولیک، منجر به اختلال و تخریب تدریجی سلول های بتا می شود. کاهش پاسخ دهی سلول های بتا به گلوکز، همراه با مقاومت به انسولین در بافت های محیطی، به ترشح ناکافی انسولین کمک می کند و به مرور زمان هیپرگلیسمی را تشدید می کند [۵].

مطالعات مختلف نشان داده دیابت به طور عمده با بیماری های ساختاری و عملکردی سیستم عصبی مرکزی مرتبط است و شواهد زیادی وجود دارد که نشان می دهد مسیری که از طریق اثرات تخریب عصبی دیابت آغاز می شود، استرس اکسیداتیو است. گونه های فعال اکسیژن (ROS) که از رادیکال های آزاد اکسیژن و سایر ترکیبات شیمیایی تشکیل شده اند، می توانند استرس اکسیداتیو را در بدن افزایش دهند [۶]. این فرایند در نهایت باعث مرگ نورو ها شده و با آسیب عصبی وابسته به دیابت، بر حافظه و یادگیری بیماران دیابتی اثر مستقیم می گذارد [۷].

برای درمان و کنترل دیابت روش های مختلفی مانند طب سنتی، انواع ورزش، درمان دارویی، سلول های بنیادی، طب مکمل و جایگزین (CAM) ارائه شده است که با توجه به عوارض جانبی درمان های دارویی و کاهش اثربخشی آن ها در طول زمان، محققان برای آن که روش های جدید و راه های بهبود یافته ای برای مدیریت دیابت و عوارض آن کشف کنند، انگیزه پیدا می کنند [۸]. تاکنون تاثیر بیش از ۱۲۰۰ گیاه دارویی در کاهش قند خون یا کاهش عوارض آن مشخص شده است. در طول ۱۰-۲۰ سال گذشته، مطالعات آزمایشگاهی و بالینی متعددی روی گیاهان دارویی مورد استفاده در درمان دیابت، انجام شده است که برخی از آن ها اثرات قابل توجهی در کاهش قند خون در بیماران دیابتی دارند [۹].

بررسی «شعور» و جایگاه آن در گفتمان علمی در دوران معاصر توجه

قابل توجهی به خود جلب کرده است [۱۰، ۱۱]. هدف از این مطالعه بررسی پتانسیل میدان شعوری فرادرمانی در کاهش پیامدهای مرتبط با دیابت در هیپوکمپ و پانکراس است.

مواد و روش ها

حیوانات آزمایشگاهی

به این منظور، ۴۸ موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن: 150 ± 10 گرم، سن: ۸ هفته) از موسسه ی پاستور ایران انتخاب شدند. موش ها به چهار گروه کنترل (C)، میدان شعوری فرادرمانی (T)، کنترل دیابتی (D) و میدان شعوری فرادرمانی + دیابت (DT) تقسیم شدند. در این مطالعه آشناسازی یک هفته ای برای تطبیق با شرایط محیط کنترل شده ی جدید (رطوبت 55 ± 5 ، دما: 20 ± 5 درجه ی سانتی گراد)، چرخه ی نور تا تاریکی ۱۲ تا ۱۲ ساعت (چراغ های ۶: از ساعت ۰۰ تا ۱۸:۰۰) اعمال شد.

القای دیابت

برای ایجاد چاقی، موش های دیابتی در ۴ هفته ی اول در معرض رژیم غذایی پرچرب شامل ۲۲٪ چربی، ۴۸٪ کربوهیدرات و ۲۰٪ پروتئین از موسسه ی سرم سازی رازی در ایران قرار گرفتند (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۸). دیابت نوع دو با حل کردن ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم STZ (سیگما) در بافر سیترات (pH 4.5) و تزریق درون صفاقی القا شد. ۲۴ ساعت پس از تزریق، نمونه ی خون از دم گرفته شد. دستگاه قند خون (Beurer GL42، آلمان) برای تعیین دیابتی بودن موش ها (بیش از ۲۵۰ میلی گرم در روز) سطح گلوکز را اندازه گیری کرد [۱۲].

کاربرد میدان شعوری فرادرمانی

فرادرمانی در دو گروه اعمال شد و برای اطمینان از این که گروه های کنترل تحت تاثیر فرادرمانی قرار نگیرند، گروه های تحت تاثیر فرادرمانی در اتاق جداگانه در آزمایشگاه نگهداری شدند. مدت درمان ۸ هفته بود و گروه های تحت درمان هر روز به مدت ۱۰ دقیقه و ۶ روز در هفته فرادرمانی دریافت کردند. نمونه های بدون تیمار فرادرمانی به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند.

آزمون های شناختی

این آزمایش ها چهار هفته پس از القای دیابت انجام شد تا زمانی برای ایجاد تغییرات رفتاری مرتبط با دیابت فراهم شود و سپس در پایان مطالعه (پس از ۸ هفته برای ارزیابی تاثیر پروتکل های درمانی مختلف) تکرار شد.

آزمون ماز آبی موریس (MWM)

ماز آبی موریس حوضچه ای مدور (قطر ۱۵۰ سانتی متر، ارتفاع ۶۰ سانتی متر) است که چهار ربع شمال شرقی (NE)، شمال غربی (NW)، جنوب شرقی (SE) و جنوب غربی (SW)، پر شده از آب (20 ± 1 درجه ی سانتی گراد، رطوبت 55 ± 5 درصد) و سکوی فرار دارد. همچنین، دوربینی بالای ماز معلق بود که تاخیر فرار، فاصله ی

استخر استفاده شد. آب استخر با اضافه کردن شیر خشک، مات شد و به این شیوه سکو را «نامرئی» کردیم. مکان سکو نسبت به نشانه‌های دورتر ثابت شده بود. موش‌ها در ۱۸ تلاش در قالب شش بلوک (سه آزمایش در هر بلوک) تمرین کرده بودند و فواصل بین تکرار حدود ۱۰ دقیقه بود. پس از هر آزمایش، آب را به هم می‌زدیم تا از تاثیر مسیرهای بو به عنوان نشانه‌های ناخواسته جلوگیری شود. موش‌ها اجازه داشتند در هر آزمایش از یکی از چهار مکان (شمال، جنوب، شرق و غرب) شروع به شنا کنند. انتخاب مکان برای هر موش و هر آزمایش تصادفی بود. موش باید در مدت ۶۰ ثانیه به سمت سکو فرار می‌کرد و اگر این اتفاق نمی‌افتاد، آن‌ها را به آرامی به سمت سکو مخفی که به مدت ۱۰ ثانیه آن‌جا بودند، هدایت می‌کردیم. موش‌ها با حوله خشک می‌شدند و پس از هر آزمایش به قفس خود بازگردانده می‌شدند. پارامترهای ثبت‌شده در این بلوک‌های آموزشی عبارت بودند از تاخیر رسیدن به سکو، مسافت طی شده در ماز تا رسیدن به سکو و نزدیکی (درصد زمان صرف‌شده در ربع محل قرارگیری سکو).

آزمون پروب

در آزمون پروب (آزمون پروب فوری) سکو را از استخر جدا کردیم و به موش اجازه دادیم به مدت ۶۰ ثانیه شنا کند. آزمون پروب پس از بلوک آموزشی پنجم انجام شد و سپس موش‌ها بلوک ششم تمرین را داشتند که در ارزیابی شناختی لحاظ نشده بود. برای ارزیابی ماندگاری ۲۴ ساعته، موش‌ها ۲۴ ساعت بعد، آزمون پروب دیگری انجام دادند (سکو از استخر برداشته شد) [۱۳].

آماده‌سازی و برش نمونه

بافت‌ها در فرمالدئید ۱۰٪ قرار گرفتند و پس از دو ساعت خارج شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در محلول فرمالدئید تازه قرار داده شدند و بعد با استفاده از اتانول (۷۰٪ برای ۲۴ ساعت، ۹۰٪ برای یک ساعت و ۱۰۰٪ به مدت یک ساعت) آب‌گیری شدند. سپس در زایلن، تمیز و در پارافین قالب‌گیری شدند. مقاطع تاج با میکروتوم (Leica RM ۲۰۲۵، آلمان) با ضخامت پنج میکرومتر برش داده شد، روی لام‌های شیشه‌ای گذاشته و با روش‌های مختلف رنگ‌آمیزی شدند [۱۴].

رنگ‌آمیزی بافتی

رنگ‌آمیزی هموتوکسیلین و ائوزین (H&E)

هیپوکمپ و پانکراس چپ با پارافورمالدئید خنثی ۱۰٪ تثبیت شدند، از طریق غلظت‌های فزاینده‌ی الکل اتیلیک آب‌گیری شدند، در زایلن پاک‌سازی شدند، در پارافین قالب‌گیری شدند و بعد با استفاده از میکروتوم به صورت دستی برش داده شدند تا مقاطع ضخیم پنج میلی‌متری به دست آید. برش‌ها با غلظت‌های فزاینده‌ی اتیل الکل پارافین‌زدایی و هیدراته شدند و با هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. بافت‌های رنگ‌آمیزی‌شده در الکل ۸۰٪ و سپس اتیل الکل ۹۵٪ آب‌گیری شدند، در دو تغییر اتیل الکل ۱۰۰٪ قرار داده شدند و با دو تغییر زایلن تمیز شدند. معاینات هیستوپاتولوژیک با استفاده از میکروسکوپ کنتراست فاز با

رسیدن به سکو و درصد زمانی را که موش در هدف گذرانده بود، ثبت می‌کرد. سطح سکوی فرار به صورت ثابت یک سانتی‌متری زیر آب پوشانده شد. MWM در آزمایشگاه با علائم و رنگ‌های مختلف (دایره، مثلث و مربع) که به عنوان پروتکل آموزشی و آزمونی بسیار خوب و مرتبط برای ارزیابی تاثیر هر تمرینی بر یادگیری و حافظه شناخته می‌شود، احاطه شده بود. به هر موش هشت آزمایش در روز برای سه روز متوالی داده شد. فاصله‌ی میان آزمایش‌ها سه دقیقه بود. برای هر آزمایش هر نقطه‌ای در آب که رهاسازی انجام می‌شد، به صورت تصادفی تغییر می‌کرد. موش‌ها برای سازگارشدن با ماز، به مدت سه دقیقه در آب بدون سکو قرار داده شدند تا سه ساعت قبل از تمرین شنا کنند. سپس، هر موش به آرامی از ناحیه‌ی دم در آب قرار داده شد و برای جلوگیری از استرس در نقاط شروع مختلف، رو به دیواره‌ی استخر قرار گرفت. بعد به آن‌ها اجازه داده شد برای یافتن سکوی پنهان، شنا کنند. هر آزمایش تا زمانی که موش سکوی پنهان را کشف کند یا حداکثر ۶۰ ثانیه طول کشید. علاوه بر این، به هر موش اجازه داده شد به مدت ۳۰ ثانیه استراحت کند. آزمایشگر هر موش صحرایی را که نتوانست سکو را در زمان تعیین‌شده پیدا کند، برداشت و روی سکو قرار داد. موش‌ها پس از آخرین آزمایش، با حوله خشک شدند و به قفس بازگردانده شدند. برای ارزیابی ذخیره‌ی حافظه، یک روز پس از آخرین آزمایش اکتسابی، یک آزمایش حافظه‌ی فضایی انجام و سکو از ماز خارج شد. هر موش ۶۰ ثانیه را صرف جست‌وجوی ماز آبی می‌کرد.

حافظه‌ی بلندمدت

پس از سه روز استراحت، برای ارزیابی حافظه‌ی بلندمدت، پلتفرم مخفی‌ای در ربع SW قرار داده شد و هر موش آزمایشی مشابه جلسات آشناسازی انجام داد.

سنجش حافظه‌ی فضایی موش‌ها در ماز آبی موریس با سکویی غوطه‌ور در آب و سیستم ردیابی ویدیویی (سیستم ردیابی ویدیویی ANY-maze™؛ نسخه‌ی Stoelting Co 4.72) انجام شد. ماز آبی موریس شامل مخزن دایره‌ای شکلی (قطر: ۱۲۰ سانتی‌متر، ارتفاع: ۳۰ سانتی‌متر) بود که تا عمق ۲۴ سانتی‌متر با آب پر شده بود. دمای آب ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد بود و سکوی دایره‌ای شفاف ۱۰ سانتی‌متری در عمق یک سانتی‌متری زیر سطح آب در ربع شمال غربی ماز غوطه‌ور شد.

ابتدا یک آزمایش سکوی قابل مشاهده برای حذف تغییرات ناشی از مداخله‌های دارویی یا تجربی در حدت بینایی انجام شد. در این آزمون به جای سیستم ردیاب ویدیویی از کرومومتر استفاده شد. به منظور سازگاری با استخر به موش‌ها اجازه داده شد به مدت ۳۰ ثانیه آزادانه شنا کنند و سازگاری آن‌ها با انجام چهار آزمون (از چهار جهت مختلف) برای صعود به سکویی که یک سانتی‌متر از سطح آب کشیده شده بود، تایید شد. سپس موش‌ها با ۱۵ تلاش شامل ۳ بلوک و در هر بلوک ۵ تکرار برای تشخیص سکو به مدت ۱۰ دقیقه آموزش دیدند. در این مرحله ما هیچ نشانه‌ای به استثنا خود سکو به موش نشان ندادیم.

در طول آموزش برای حذف اثر تبعیض فضایی، سکوی مخفی ۱،۵ سانتی‌متری‌ای زیر سطح آب قرار گرفت و ناحیه‌ی بزرگ‌تری از

دوربین متصل (Nikon H6۰۰L، توکیو، ژاپن) انجام شد.

۵٪ در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شدند. بخش‌ها پس از شست‌وشو با آب لوله‌کشی، آب‌گیری و چسب‌بند شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شد. مقایسه‌ی متغیرهای کمی بین گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون تعقیبی Bonferroni یا آزمون کروسکال والیس با آزمون رتبه‌بندی علامت‌دار Wilcoxon استفاده شد. جهت تعیین سطح طبیعی بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد تا مشخص شود داده‌ها پارامتری یا غیرپارامتری هستند. نتایج از نظر آماری در سطح معنادار $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

یادگیری و حافظه‌ی فضایی

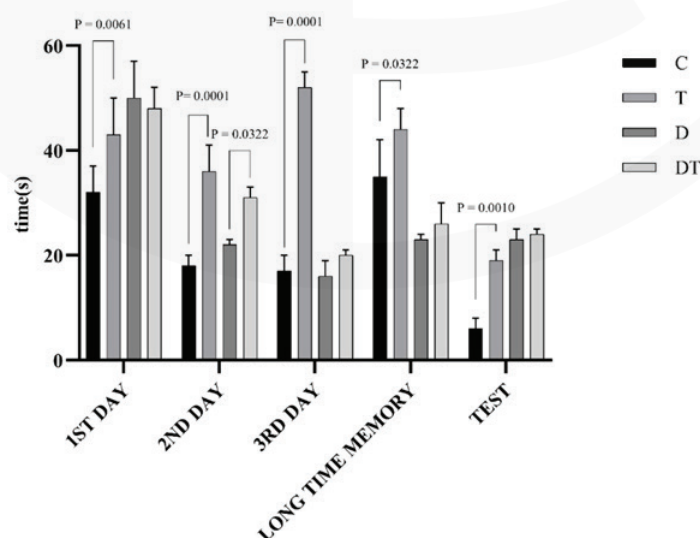
آزمون ماز آبی موریس پس از شش هفته در چهار گروه انجام شد. نتایج نشان داد گروه T در تمام روزهای آزمون بیش‌ترین زمان را در منطقه‌ی هدف در مقایسه با سایر گروه‌ها سپری کرده است. تفاوت در زمان صرف‌شده در منطقه‌ی هدف در گروه T نسبت به گروه C به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. در همین حال، گروه DT زمان مشابهی را در منطقه‌ی هدف سپری کرد که مشابه با گروه D در روز آزمون بود. در آزمون نهایی، گروه T به‌طور کلی بیش‌ترین زمان را در ربع هدف سپری کرد. صرف زمان بیش‌تر در منطقه‌ی هدف در طول آزمایش MWM معمولاً نشان‌دهنده‌ی عملکرد بهتر و حافظه‌ی فضایی درموش‌ها است. با این حال، در آزمون حافظه‌ی بلندمدت، گروه DT تفاوت معناداری در زمان سپری‌شده در منطقه‌ی هدف در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان نداد که این امر نشان‌دهنده‌ی عدم تغییر در حافظه‌ی بلندمدت است.

رنگ‌آمیزی فوشین سلول‌های پانکراس

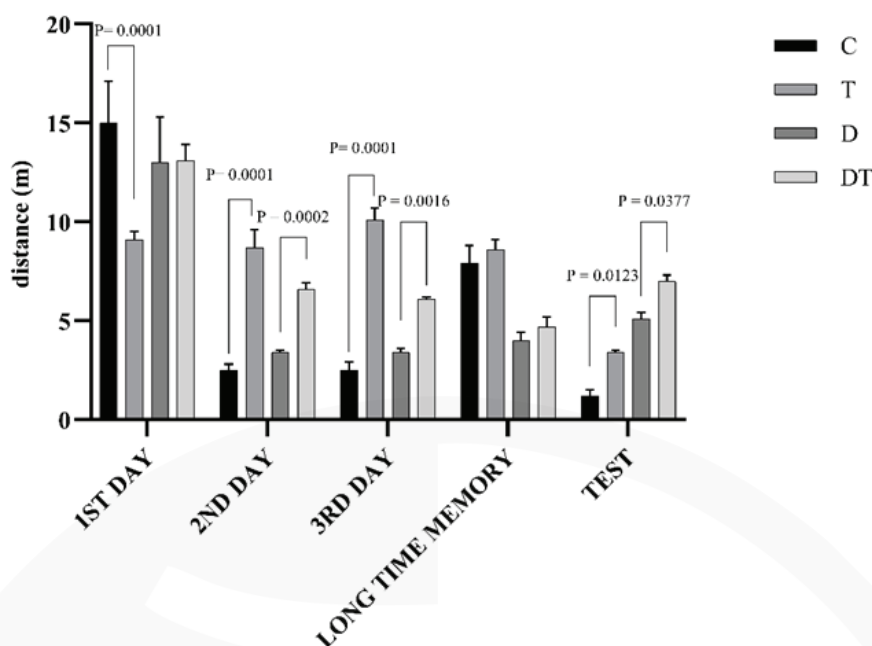
پانکراس با دقت تشریح و به مدت ۴۸ ساعت در ۱۰٪ سرم نمکی ثابت شد و سپس برای بلوک‌های پارافینی پردازش شد. مقاطعی با ضخامت پنج میکرون گرفته شد و با همتاکسیلین و اتوزین و همچنین با آلدئید فوشسین اصلاح‌شده‌ی گومری رنگ‌آمیزی و زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شد [۱۵].

رنگ‌آمیزی نیسل نرون‌های هیپوکمپ

رنگ‌آمیزی Nissl برای ارزیابی آسیب عصبی در هیپوکمپ استفاده شد (نوبخت و همکاران، ۲۰۱۱). مقاطع مغزی به مدت ۱۵ دقیقه در محلول زایلن غوطه‌ور شدند و سپس اسلایدها در درجه‌های فزاینده‌ی الکل به‌ترتیب زیر غوطه‌ور شدند. الکل مطلق، ۱ دقیقه ۹۰٪ الکل، ۲ دقیقه ۷۰٪ الکل، ۲ دقیقه ۵۰٪ الکل، ۲ دقیقه. اسلایدها پس از پردازش از طریق الکل، به مدت ۱۰ دقیقه در آب مقطر غوطه‌ور شدند و به مدت ۲۵ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در رنگ‌آمیزی کرسیل بنفش ۰٫۱٪ رنگ‌آمیزی شدند. سپس اجازه داده شد که در دمای اتاق خشک شوند. مقاطع رنگ‌آمیزی‌شده مجدداً به مدت پنج دقیقه در آب مقطر و در گریدهای صعودی الکل (۷۰٪، ۹۰٪) به مدت ۲ دقیقه غوطه‌ور شدند. در نهایت، مقاطع برای پاک‌سازی در زایلن غوطه‌ور و با DPX سوار شدند. بخش‌های مغز با محلول تولویدین بلو

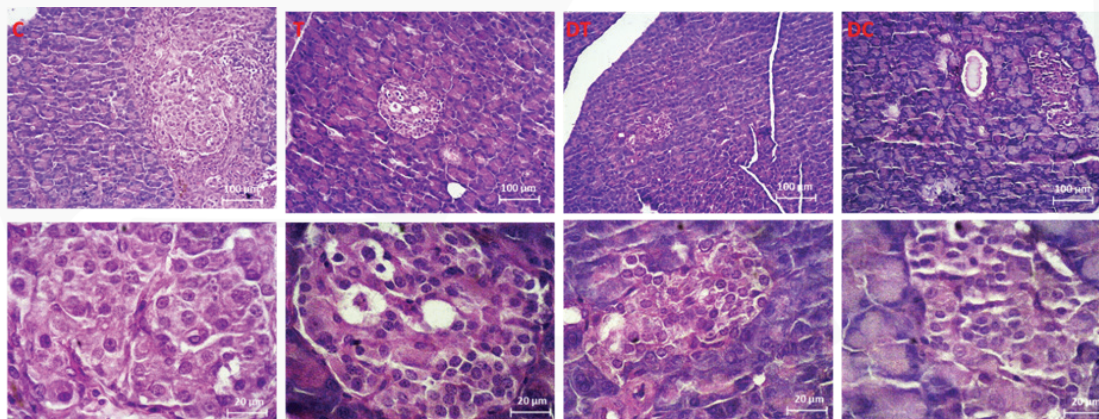


شکل ۱- آزمون MWM (زمان) در گروه‌های آزمایشی شامل کنترل (C)، میدان شعوری فرادمانی (T)، کنترل دیابتی (D) و میدان شعوری فرادمانی + دیابت (DT). همان‌طور که در این شکل نشان داده شده است، گروه T زمان سپری‌شده در منطقه‌ی هدف را در تمام روزها به‌میزان قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P \leq 0.05$). در روز دوم، گروه DT نیز تفاوت معناداری در زمان صرف‌شده در مقایسه با گروه D نشان داد ($P = 0.0322$).



شکل ۲- آزمون MWM (مسافت طی شده) در گروه‌های آزمایشی شامل کنترل (C)، میدان شعوری فرادرمانی (T)، کنترل دیابتی (D) و میدان شعوری فرادرمانی + دیابت (DT). همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، موش‌های صحرایی سالم و دیابتی گروه فرادرمانی فاصله‌ی بیش‌تری در محدوده‌ی هدف نسبت به گروه‌های کنترل مربوطه نشان دادند ($p < 0.05$). تفاوت مسافت طی شده بین گروه‌ها در آزمون حافظه‌ی بلندمدت معنادار نبود.

رنگ‌آمیزی H&E بافت پانکراس

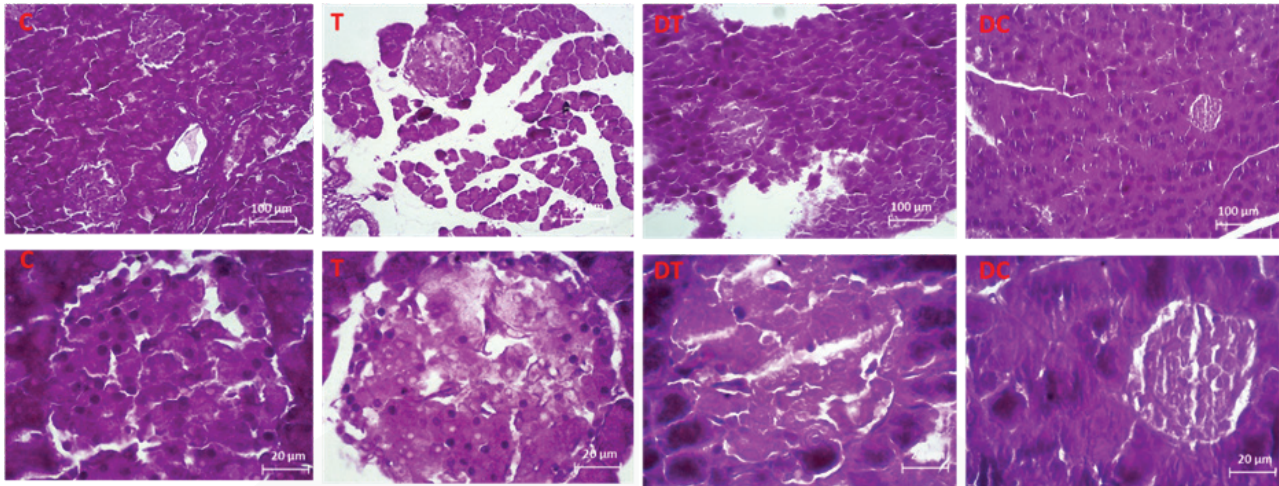


شکل ۳- رنگ‌آمیزی H&E بافت پانکراس در گروه‌های آزمایشی شامل کنترل (C)، میدان شعوری فرادرمانی (T)، کنترل دیابتی (D) و میدان شعوری فرادرمانی + دیابت (DT).

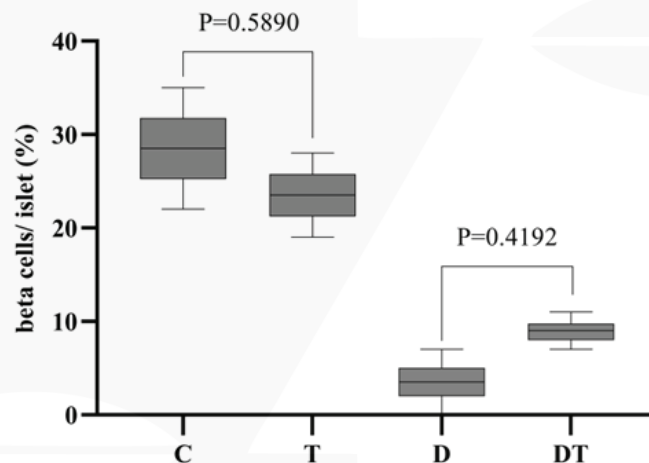
تصاویر از گروه‌های D و DT، کاهش تراکم سلولی را نشان می‌دهد. سلول‌های تخریب‌شده با انقباض هسته‌ای و پیکنوز بیش‌تر در مرکز جزایر دیده می‌شوند. سلول‌های آلفا با هسته‌ی صورتی کم‌رنگ در جزایر و سلول‌های بتا با هسته‌ی یوکروماتین در مرکز جزیره قرار دارند (بزرگ‌نمایی 400x). بر اساس نتایج مشاهده‌شده در این گروه‌ها، میزان تخریب سلول‌های بتا و آپوپتوز سلولی بر اساس درجه‌بندی در گروه DT=۵۰٪ درصد و در گروه D=۷۰٪ درصد بود، اما این تفاوت معنادار نبود.

تصاویر در گروه‌های C و T، هسته‌ی سلول‌های بتا را آبی پررنگ نشان می‌دهند، در حالی که سلول‌های آلفا در حاشیه‌ی جزایر و بین سلول‌های بتا به رنگ صورتی و پراکنده هستند (بزرگ‌نمایی 400x). بر اساس نتایج مشاهده‌شده، میزان تخریب سلول‌های بتا و آپوپتوز سلولی بر اساس درجه‌بندی در گروه کنترل و T به‌ترتیب ۱٪ و ۵٪ است (شکل ۵).

رنگ آمیزی فوشین سلول های بتا پانکراس



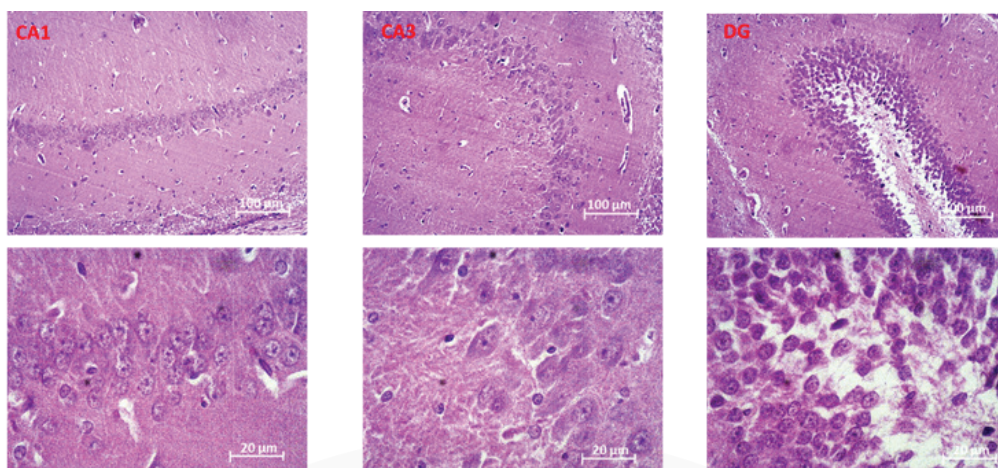
شکل ۴- رنگ آمیزی فوشین سلول های بتا پانکراس در گروه های آزمایشی شامل کنترل (C)، میدان شعوری فرادرمانی (T)، کنترل دیابتی (D) و میدان شعوری فرادرمانی + دیابت (DT).



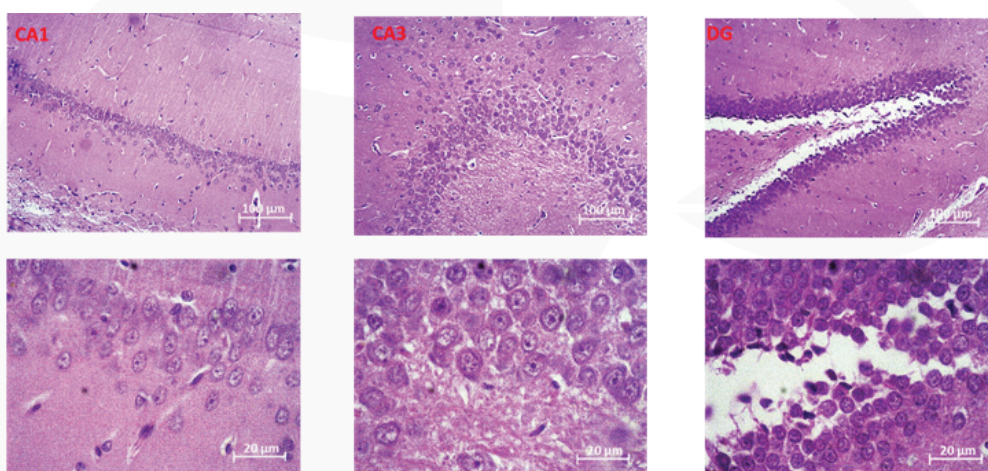
شکل ۵- تعداد سلول های بتا در هر جزیره در در گروه های آزمایشی شامل کنترل (C)، میدان شعوری فرادرمانی (T)، کنترل دیابتی (D) و میدان شعوری فرادرمانی + دیابت (DT). بر اساس تعداد سلول های بتا در هر ناحیه، میزان آسیب پانکراس برآورد شد. شایان ذکر است گروه دیابتی فرادرمانی، تعداد سلول های سالم باقی مانده ی بیش تری نسبت به گروه دیابتی کنترل نشان داد؛ اگرچه این تفاوت از نظر آماری معنادار نبود ($P = 419/0$). این نشان می دهد ممکن است درمان فرادرمانی به طور بالقوه و به دلیل اثرات این زمینه به سطوح پایین تر تخریب کمک کند.

رنگ آمیزی H&E بافت هیپوکمپ

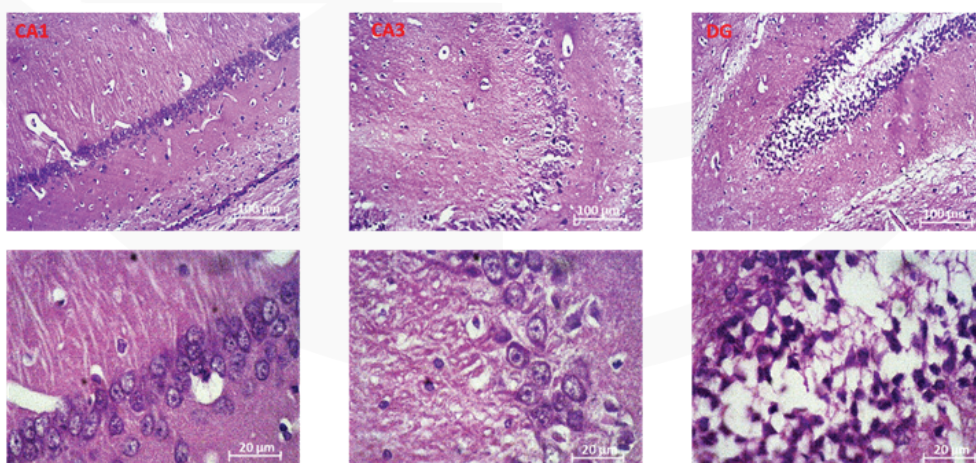
کمی سازی آسیب هیپوکمپ میان گروه های تحقیقاتی نشان داد گروه کنترل دیابتی به طور قابل توجهی مرگ سلولی بالاتری (بیش از 40% $P < 0.05$) را نشان داد. گروه کنترل سالم و کنترل فرادرمانی کم ترین میزان آسیب (کم تر از 20%) را در هر سه ناحیه ی هیپوکمپ نشان دادند اما تفاوت معناداری میان این گروه ها وجود نداشت. در نواحی CA3 و DG هیپوکمپ، درصد سلول های مرده در گروه دیابتی فرادرمانی نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معناداری نشان داد که نشان دهنده ی اثربخشی درمان فرادرمانی در کاهش مرگ سلولی است ($P < 0.05$) (DT: 25% and DC: 45%) (شکل های ۶-۱۴).



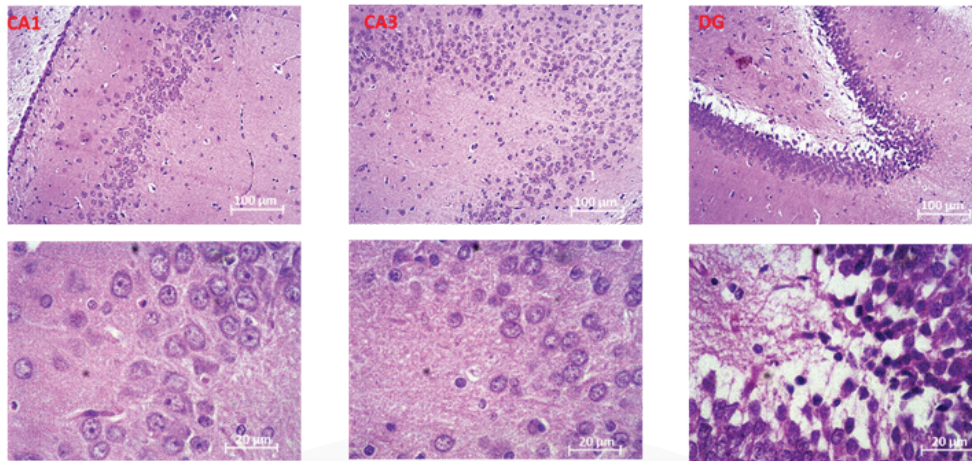
شکل ۶- رنگ آمیزی H&E بافت هیپوکمپ در سه ناحیه ی هیپوکمپ CA1، CA3 و DG گروه کنترل (C).



شکل ۷- رنگ آمیزی H&E بافت هیپوکمپ در سه ناحیه ی هیپوکمپ CA1، CA3 و DG گروه میدان شعوری فرادرمانی (T).

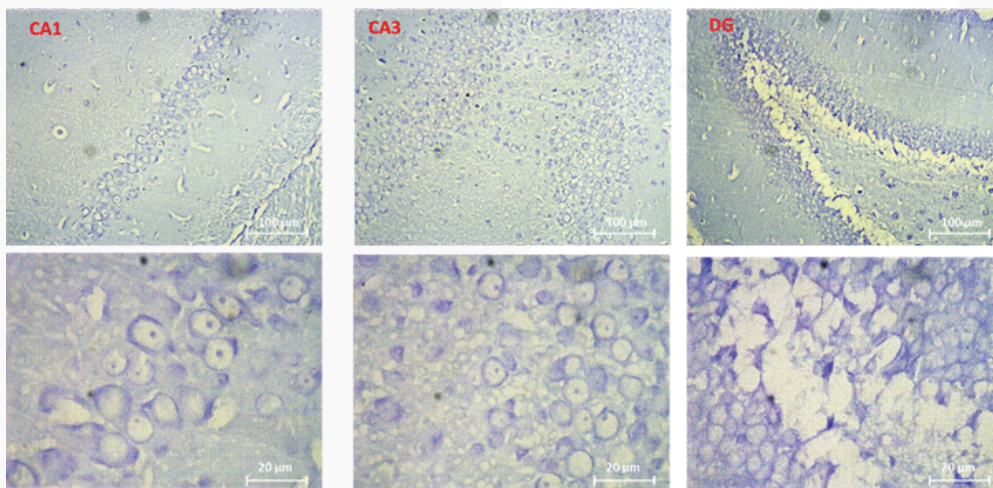


شکل ۸- رنگ آمیزی H&E بافت هیپوکمپ در سه ناحیه ی هیپوکمپ CA1، CA3 و DG گروه دیابت (D).

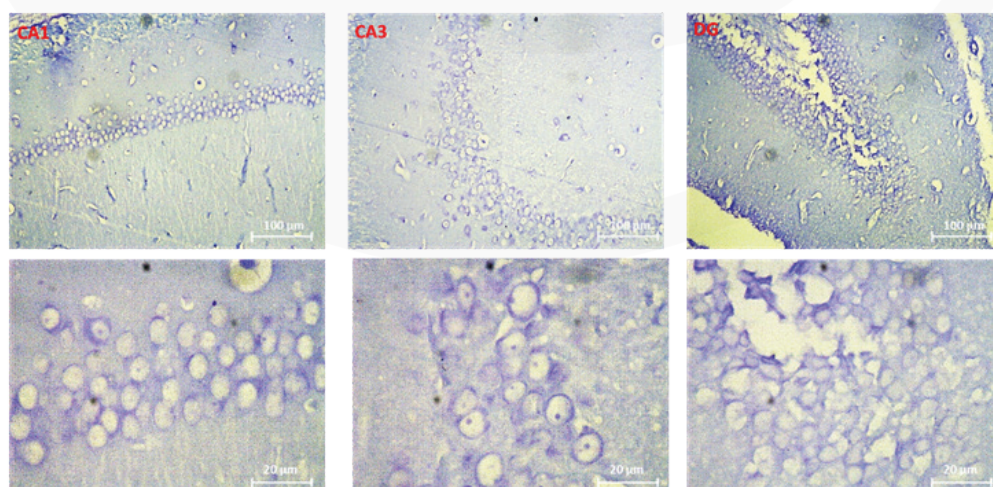


شکل ۹- رنگ آمیزی H&E بافت هیپوکمپ در سه ناحیه ی هیپوکمپ CA1، CA3 و DG گروه میدان شعوری فرادرمانی + دیابت (DT).

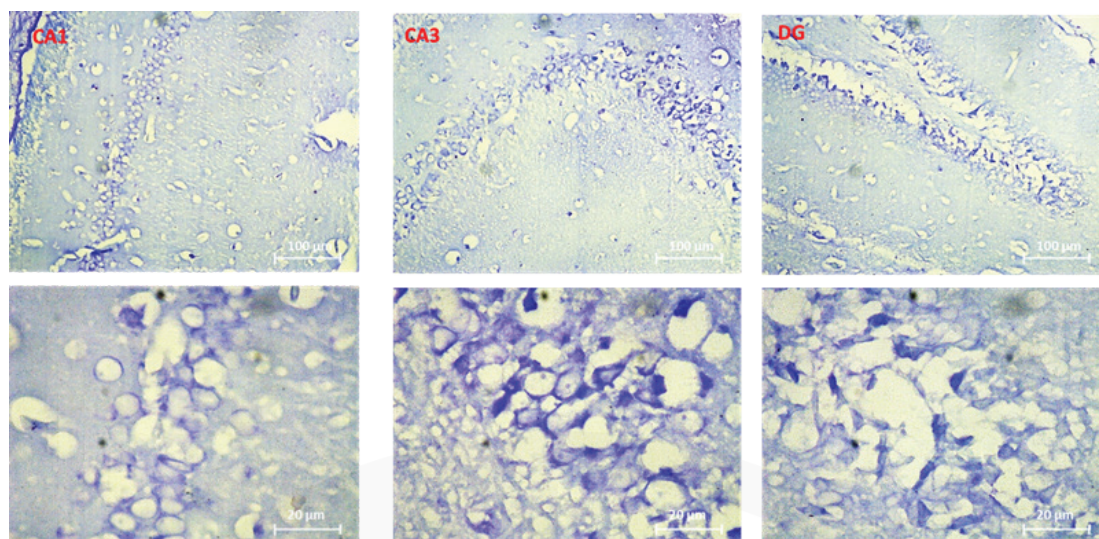
رنگ آمیزی نیسل بافت هیپوکمپ



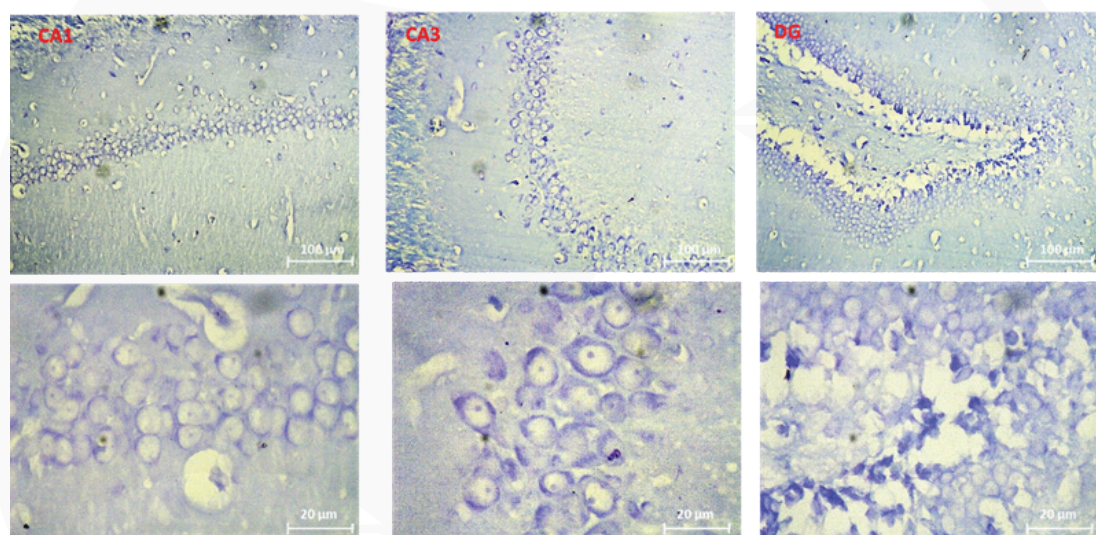
شکل ۱۰- رنگ آمیزی نیسل بافت هیپوکمپ در سه ناحیه ی هیپوکمپ CA1، CA3 و DG گروه کنترل (C).



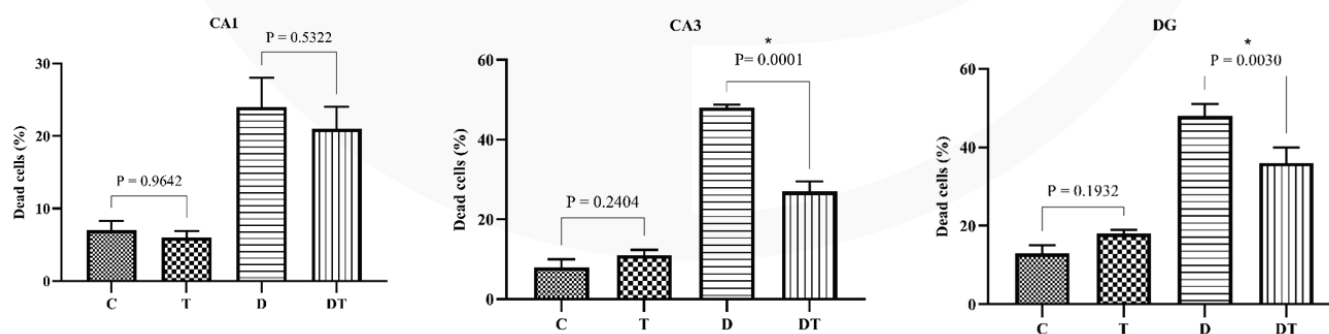
شکل ۱۱- رنگ آمیزی نیسل بافت هیپوکمپ در سه ناحیه ی هیپوکمپ CA1، CA3 و DG گروه میدان شعوری فرادرمانی (T).



شکل ۱۲- رنگ آمیزی نیسل بافت هیپوکمپ در سه ناحیه ی هیپوکمپ CA3، CA1، و DG گروه دیابتی (D).



شکل ۱۳- رنگ آمیزی نیسل بافت هیپوکمپ در سه ناحیه ی هیپوکمپ CA3، CA1، و DG گروه میدان شعوری فرادرمانی + دیابت (DT).



شکل ۱۴- درصد سلول های مرده در بافت هیپوکمپ ناحیه ی CA3، CA1، و DG در گروه های کنترل (C)، میدان شعوری فرادرمانی (T)، دیابتی کنترل (D) و میدان شعوری فرادرمانی + دیابت (DT).

با فرادرمانی کاهش سرعت شنا را نشان دادند که نشان دهنده‌ی کاهش سطح استرس کلی است [۱۷].

بررسی مرتبطی تاکید می‌کند رژیم‌های ضد دیابت می‌توانند اثرات مفیدی بر زوال شناختی و اختلال حافظه‌ی مرتبط با دیابت داشته باشند. گروه‌های تحت درمان ممکن است اطلاعات بیش‌تری را حفظ کنند و حتی اگر آهسته‌تر سفر کنند، به‌شکل بالقوه به آن‌ها امکان می‌دهند که به‌طور موثرتری حرکت کنند [۱۸]. این مفهوم با این ایده که ممکن است حرکت آهسته‌تر و آگاهانه‌تر رمزگذاری و بازیابی حافظه‌ی بهتر را تسهیل کند، مطابقت دارد. با این حال، این نتیجه‌گیری ویژه نیاز به پژوهش‌های بیش‌تری دارد. مشاهده‌ی کاهش سرعت حرکت و زمان طولانی در منطقه‌ی هدف میان گروه‌های فرادرمانی ممکن است فرایندهای رمزگذاری حافظه را افزایش دهد. با این حال، تایید این فرضیه پژوهش‌های بیش‌تری نیاز دارد.

نتایج مطالعات گوناگون نشان داده است که دیابت باعث تغییرات ساختاری و عملکردی در سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌شود که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به کاهش سرعت انتقال پیام‌های عصبی، اختلال در روند بازسازی اعصاب محیطی در بدن و تغییر شکل رشته‌های عصبی اشاره کرد [۱۹]. همچنین، نشان داده شده دیابت یکی از دلایل اختلال حافظه است که یکی از علائم بیماری آلزایمر است [۲۰]. بهبود عملکرد عصبی مشاهده‌شده در مناطق DG و CA3 پس از درمان دیابت را می‌توان به چند سازوکار بالقوه نسبت داد (شکل ۱۴). یکی از عوامل احتمالی کاهش استرس اکسیداتیو است؛ زیرا آسیب اکسیداتیو به نورون‌ها به اختلال شناختی در دیابت کمک می‌کند [۲۱]. علاوه بر این، ممکن است اثرات ضد التهابی در درمان نقش داشته باشد؛ زیرا التهاب مزمن نشانه‌ی زوال شناختی مرتبط با دیابت است [۲۲]. این درمان ممکن است حمایت رشد عصبی را افزایش دهد؛ زیرا عوامل رشد عصبی برای بقا و عملکرد نورون‌ها، به‌ویژه در هیپوکمپ، بسیار مهم‌اند [۲۳]. این سازوکارها، چه به‌طور مستقل چه در حالت ترکیبی، می‌توانند به بهبودهای مشاهده‌شده در عملکرد عصبی در مناطق DG و CA3 در افراد دیابتی متعاقب درمان کمک کنند. با این حال، آن‌طور که نتایج ما پیشنهاد می‌کند، برای این که نشان داده شود چه‌گونه ممکن است فرادرمانی به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر این سازوکارها تاثیر بگذارد، آزمایش‌های بیش‌تری مورد نیاز است.

آسیب مشاهده‌شده شامل مناطق هیپوکمپ یا تخریب سلول‌های بتا و نکروز بود که با مطالعات قبلی مطابقت دارد [۲۴-۲۶]. اثرات TCFS بر برنامه‌ریزی مجدد مولکولی و سلولی در موجودات زنده و در مطالعات مختلف ثابت شده است [۱۰، ۱۱، ۱۷، ۲۴].

این نتایج با مطالعه‌ای که طاهری و همکاران (۲۰۲۰) برای بررسی اثرات فرادرمانی بر سلول‌های سرطان سینه انجام دادند، مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادند میزان مرگ سلولی و نشان‌گرهای مولکولی آپوپتوز پس از درمان TCFS کاهش یافته است (طاهری و همکاران، ۲۰۲۰). بر اساس نظریه‌ی TCFS، سازوکار کاربرد فرادرمانی می‌تواند با برقراری ارتباط بین افراد مورد مطالعه و شبکه‌ی شعور کیهانی (CCN)، برنامه‌ریزی مجدد و فرایند بازسازی سلول‌های آسیب‌دیده را تسهیل کند. داده‌ها و اطلاعات مورد نیاز از طریق

شکل ۱۴ آسیب هیپوکمپ را بین گروه D (۴۵٪) و گروه DT (۲۵٪) نشان می‌دهد؛ تفاوت معنادار مشاهده شد. در نواحی DG (P=0.030) و CA3 (P=0.001) تفاوت معناداری وجود دارد اما در CA1 تفاوت معناداری وجود ندارد (P=0.53). تفاوت میان گروه C و T (P<20٪) در سه ناحیه‌ی مغز معنادار نیست (P>0.05).

بحث و نتیجه‌گیری

برای بررسی تاثیر میدان شعوری فرادرمانی بر تعدیل پیامدهای دیابت در هیپوکمپ، سه ارزیابی اصلی را برای تغییرات شناختی، پانکراس و هیپوکمپ در چهار گروه آزمایشی مورد بررسی قرار دادیم.

در سطح ساختاری، هنگام بررسی تغییرات پروتئین‌های غیرتخصصی سیتوپلاسمی با روش H&E، تغییرات ناچیز در سلول‌های بتای پانکراس و تغییرات قابل توجهی در سلول‌های عصبی هیپوکمپ در گروه دیابتی در معرض میدان شعوری فرادرمانی مشاهده شد. بازسازی سلول‌های β می‌تواند از طریق دو سازوکار اصلی رخ دهد. نخستین مورد شامل تحریک تقسیم سلول‌های β موجود است اما ضروری‌ست این القای تکثیر به روش خاص سلولی انجام شود تا از رشد سرطانی جلوگیری شود. سازوکار دوم شامل برنامه‌ریزی مجدد سلولی است که می‌تواند از جمعیت‌های مشابه سلول‌های بنیادی (تمایز مستقیم) یا سایر انواع سلول‌های تمایز یافته‌ی نهایی (تبدیل بین سلولی) ناشی شود [۱۶].

علاوه بر این، تعداد سلول‌های مرده‌ی عصبی هیپوکمپ در نواحی DG، CA3 و CA1 در موش‌های دیابتی در معرض فرادرمانی تغییر کرد. نتایج نشان داد سلول‌های مرده در مناطق DG و CA3 گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت. گروه کنترل سالم و میدان شعوری فرادرمانی سطوح مشابهی از سلول‌های مرده را نشان داد (شکل ۶-۱۴). درمان با فرادرمانی باعث بهبود در قالب حفظ سلول‌های هرمی کوچک و کاهش چشم‌گیر آپوپتوز سلول‌های بزرگ شد.

با این حال، نتایج نشان داد گروه درمان در مقایسه با گروه کنترل تغییرات قابل توجهی در حافظه‌ی کوتاه‌مدت و بلندمدت از خود نشان نداد. پس از شش هفته، گروه T عملکرد اولیه‌ی برتری در ماز آبی موریس نشان داد و زمان بیش‌تری در منطقه‌ی هدف سپری کرد. در آزمایش نهایی، گروه T همچنین زمان طولانی‌تر را در منطقه‌ی هدف نشان داد که نشان دهنده‌ی افزایش یادگیری و حافظه‌ی فضایی است اما نه به‌میزان قابل توجهی (شکل ۱). با این حال، افزایش قابل توجهی در مسافت طی‌شده در گروه‌های T و DT مشاهده شد که نشان‌گر سرعت آهسته یا بازدهی و کارایی در تمام روزها است (شکل ۲).

نتایج حافظه‌ی فضایی با مطالعات طاهری و همکاران (۲۰۲۱) در مدل‌های موش‌های مبتلا به بیماری آلزایمر هم‌خوانی داشت. آن‌ها دریافتند درمان با اسکوپولامین حافظه‌ی طولانی‌مدت را مختل می‌کند، در حالی که درمان با فرادرمانی عملکرد حافظه را مشابه با گروه کنترل بهبود می‌بخشد. هم موش‌های کنترل و هم مدل‌های AD، تمرین و حافظه‌ی بهتری نشان دادند و توانستند به سکوی ماز بازگردند. علاوه بر این، موش‌های تحت درمان

پانکراس نشان‌دهنده‌ی مزایای بالقوه‌ی فرادرمانی است. این اثرات ممکن است از طریق سازوکارهایی مانند برنامه‌ریزی مجدد سلولی و حمایت رشد عصبی باشد. با این حال، برای روشن شدن کامل سازوکارها و اثرات بلندمدت فرادرمانی در مدیریت دیابت انجام تحقیقات بیش‌تری مانند مطالعات طولانی‌مدت و کارآزمایی‌های بالینی ضروری است. به‌طور کلی، این یافته‌ها به درک ما از درمان TCFs و نقش بالقوه‌ی آن‌ها در بهبود نتایج سلامت در افراد دیابتی کمک می‌کند.

این ارتباط از CCN به اندام‌ها یا سلول‌های آسیب‌دیده‌ی افراد منتقل می‌شود. در نتیجه، بهبودهای ساختاری یا عملکردی، مطابق با قوانین کلی اکوسیستم قابل مشاهده است.

در نتیجه، این مطالعه شواهدی ارائه می‌کند که نشان می‌دهد فرادرمانی به عنوان نوعی از میدان‌های شعوری‌ای که ظاهری معرفی کرده، ممکن است اثرات مفیدی بر سلامت هیپوکمپ و پانکراس در افراد دیابتی داشته باشد. بهبودهای مشاهده‌شده در عملکرد عصبی در نواحی DG و CA3، همراه با بازسازی سلول‌های بتای

منابع

1. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2024 Feb 27];33(Supplement_1):S62–9. Available from: <https://doi.org/10.2337/dc10-S062>
2. Baghianimoghadam MH, Hadavand Khani M, Mohammadi SM, Fallahzade H, Khabiri F. Status of Walking Behavior in Patients with Type 2 Diabetes in Yazd Based on Health Belief Model. Journal of Health System Research [Internet]. 2011 Mar 10 [cited 2024 Feb 27];6(3):0–0. Available from: <http://hsr.mui.ac.ir/article-1161--en.html>
3. Marissal-Arvy N, Moisan MP. Diabetes and associated cognitive disorders: Role of the Hypothalamic-Pituitary Adrenal axis. Metabolism Open [Internet]. 2022 Sep 1 [cited 2024 Feb 27];15:100202. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589936822000408>
4. Ho N, Sommers MS, Lucki I. Effects of Diabetes on Hippocampal Neurogenesis: Links to Cognition and Depression. Neurosci Biobehav Rev [Internet]. 2013 Sep [cited 2024 Feb 27];37(8):1346–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3788092/>
5. Kroon E, Martinson LA, Kadoya K, Bang AG, Kelly OG, Eliazer S, et al. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. Nat Biotechnol. 2008 Apr;26(4):443–52.
6. Montilla P, Barcos M, Munoz MC, Bujalance I, Munoz-Castaneda JR, Tunez I. Red wine prevents brain oxidative stress and nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. J Biochem Mol Biol. 2005 Sep 30;38(5):539–44.
7. Kashihara N, Haruna Y, Kondeti VK, Kanwar YS. Oxidative stress in diabetic nephropathy. Curr Med Chem. 2010;17(34):4256–69.
8. Burcelin R, Rolland E, Dolci W, Germain S, Carrel V, Thorens B. Encapsulated, genetically engineered cells, secreting glucagon-like peptide-1 for the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Ann N Y Acad Sci. 1999 Jun 18;875:277–85.
9. Marles RJ, Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine. 1995 Oct;2(2):137–89.

10. Taheri MA, Modarresi-Asem F, Semsarha F. An Investigation of the Electrical Activity of the Brain during the Treatment with Faradarmani Consciousness Field in the Faradarmangar Population. J Cosmointel [Internet]. 2022 Apr 16 [cited 2024 Feb 27];1(2):22–32. Available from: <https://www.journalofcosmointel.com>
11. Taheri MA, Payervand F, Ahmadkhanlou F, Torabi S, Semsarha F. Investigation of the Influence of Taheri Consciousness Fields on the pH of Pure Water in the Vicinity of Air. J Cosmointel [Internet]. 2022 Dec 23 [cited 2024 Feb 27];1(9):6–33. Available from: <https://www.journalofcosmointel.com>
12. Islam MS. Animal models of diabetic neuropathy: progress since 1960s. J Diabetes Res. 2013;2013:149452.
13. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. Nat Protoc. 2006;1(2):848–58.
14. Theory and Practice of Histological Techniques, 6th Edition | Journal of Neuropathology & Experimental Neurology | Oxford Academic [Internet]. [cited 2024 Feb 27]. Available from: <https://academic.oup.com/jnen/article/672917075/633/6/>
15. Greenwell MV, Nettleton GS, Feldhoff RC. An investigation of aldehyde fuchsin staining of unoxidized insulin. Histochemistry [Internet]. 1983 Dec 1 [cited 2024 Mar 27];77(4):473–83. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF00495802>
16. Vetere A, Choudhary A, Burns SM, Wagner BK. Targeting the pancreatic β -cell to treat diabetes. Nat Rev Drug Discov. 2014 Apr;13(4):278–89.
17. Taheri MA, Torabi S, Nabavi N, Semsarha F. Influence of Faradarmani Consciousness Field (FCF) on Spatial Memory and Passive Avoidance Behavior of Scopalamine Model of Alzheimer Disease in Male Wistar Rats [Internet]. Rochester, NY; 2021 [cited 2024 Feb 27]. Available from: <https://papers.ssrn.com/abstract=3761188>
18. Xourgia E, Papazafiropoulou A, Melidonis A. Antidiabetic treatment on memory and spatial learning: From the pancreas to the neuron. World J Diabetes. 2019 Mar 15;10(3):169–80.
19. Jackson-Guilford J, Leander JD, Nisenbaum LK. The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. Neurosci Lett. 2000 Oct 27;293(2):91–4.
20. Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. Lancet Neurol. 2006 Jan;5(1):64–74.
21. Kuhad A, Sethi R, Chopra K. Lycopene attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. Life Sci. 2008 Jul 18;83(3–4):128–34.
22. Lee YS, Jun HS. Anti-Inflammatory Effects of GLP-1-Based Therapies beyond Glucose Control. Mediators Inflamm. 2016;2016:3094642.
23. Eyileten C, Kaplon-Cieslicka A, Mirowska-Guzel D, Malek L, Postula M. Antidiabetic Effect of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Its Association with Inflammation in Type 2 Diabetes Mellitus. J Diabetes Res [Internet]. 2017 [cited 2024 Feb 27];2017:2823671. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5618763/>
24. Taheri MA, Semsarha F, Mahdavi M, Afsartala Z, Amani L. The Influence of the Faradarmani

Consciousness Field on the Survival and Death of MCF-7 Breast Cancer Cells: An Optimization Perspective [Internet]. Rochester, NY; 2020 [cited 2024 Feb 27]. Available from: <https://papers.ssrn.com/abstract=3705537>

25. Mohajeri D, Mousavi G, Doustar Y. Antihyperglycemic and Pancreas-Protective Effects of *Crocus sativus* L. (Saffron) Stigma Ethanolic Extract on Rats with Alloxan-Induced Diabetes. *Journal of Biological Sciences* [Internet]. [cited 2024 Feb 27];9(4):302–10. Available from: <https://scialert.net/fulltext/?doi=jbs.2009.302.310>

26. Wang Z, Xiong H, Ren TYS. Repair of Damaged Pancreatic β Cells: New Hope for a Type 2 Diabetes Reversal? *J Transl Int Med* [Internet]. 2021 Sep 28 [cited 2024 Feb 27];9(3):150–1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8629417/>

