Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 18, No. 3, Autumn 2018, Pages 298-309

The Effect of Different Doses of Metformin on Spatial Learning and Memory in Diabetic Rats

Esmaeili MH*, Rozbahani Z

Department of Physiology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
**** Corresponding author.*** Tel: +982833336001, Fax: +982833324971, E-mail: mesmaili@qums.ac.ir

Received: Apr 19, 2018 Accepted: Sep 21, 2018

ABSTRACT

Background & objectives: Epidemiological Studies have shown that diabetes increase the risk of developing Alzheimer's disease (AD).also several studies have confirmed that long term use of Metformin (Met) improves cognitive function in diabetic patients. The aim of the present study was to investigate the effects of Met on learning and memory in diabetic and non-diabetic rats.
Methods: Animals were divided into 2 groups including healthy and diabetic group. In healthy group, normal rats subdivided into control, saline and Met groups which received saline or Met (500mg/kg) and in diabetic group including DM, DM+saline and DM+Met subgroups, diabetic rats received saline or Met (100, and 200mg/kg) for 20 days. Diabetes was induced by intraperitoneal injection (ip) of streptozotocin (STZ).
Results: Our results showed that Met (500mg/kg, ip) impaired spatial learning but improved spatial memory in normal rats. The results also showed that Met improved learning and memory in diabetic rats in a dose dependent manner, so that the rats of DM+Met group compared to DM+saline group found platform in less time and with less distance traveled. Met also increased the percentage of time elapsed and the distance swum in the target quadrant in diabetic rats during the probe trial.
Conclusion: An intraperitoneal injection of STZ resulted in a significant decline in learning and memory and treatment with Met can enhance learning and memory in a dose dependent manner, therefore, it is useful for treatment of cognitive impairment in diabetic patients.
Keywords: Streptozotocin; Metformin; Learning; Memory; Diabetic Rats

اثر تجویز دوزهای مختلف متفورمین بر یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی دیابتی

محمدحسین اسماعیلی*، زهره روزبهانی

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

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۸۳۳۳۳۶۰۰۱ فاکس: ۰۲۸۳۳۳۲۴۹۷۱ پست الکترونیک: mesmaili@qums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده اند که خطر ابتلا به بیماری آلزایمر در بیماران دیابتی افزایش می‌یابد. مطالعات تائید کرده‌اند که متفورمین باعث بهبود عملکرد شناختی بیماران دیابتی می‌شود. هدف این مطالعه بررسی اثرات متفورمین بر یادگیری و حافظه موش های دیابتی و غیردیابتی بود.

روش کار: حیوانات به دو گروه تقسیم شدند: گروه سالم شامل زیر گروه‌های کنترل، سالین و متفورمین که سالین یا متفورمین با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند و گروه دیابتیک شامل زیرگروه‌های دیابتی، دیابتی+ سالین و دیابتی+ متفورمین که موش‌های دیابتی بودند که به مدت ۲۰ روز سالین و متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) دریافت کردند. دیابت به وسیله تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین ایجاد شد.

یافته ها: متفورمین (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) یادگیری موش های نرمال را مختل ولی حافظه را بهبود بخشید. همچنین نتایج نشان داد که متفورمین به صورت وابسته به دوز، یادگیری و حافظه را در موش های دیابتی بهبود می‌بخشد، به گونه‌ای که موش‌های گروه دیابتی+ متفورمین در مقایسه با موش‌های دیابتی+ سالین سکوی نجات را در زمان کمتر و با طی مسافت کمتر پیدا کردند. همچنین در آزمایش به خاطرآوری متفورمین، درصد زمان سپری شده و مسافت طی شده در ربع هدف را افزایش داد.

نتیجه گیری: تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین باعث کاهش یادگیری و حافظه می‌شود و درمان با متفورمین می‌تواند یادگیری و حافظه را به صورت وابسته به دوز افزایش دهد و بنابراین برای درمان اختلالات شناختی بیماران دیابتی می‌تواند مفید باشد.

واژه های کلیدی: استرپتوزوتوسین، متفورمین، یادگیری، حافظه، موش دیابتی

دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۳۰ **پذیرش:** ۱۳۹۷/۰۶/۳۰

مقدمه

بر اساس آخرین گزارش‌ها، کاهش شناختی و زوال عقل به عنوان عوارض مرتبط با بیماری دیابت شناخته شده‌اند [۱،۲]. رابطه بین دیابت و اختلال شناختی ممکن است با ضایعات متابولیک (مانند تغییرات عروقی، اختلال در متابولیسم گلوکز، التهاب مزمن، مقاومت به انسولین)، در طی دیابت مرتبط باشد [۳].

مطالعات اپیدمیولوژیک و مقالات منتشرشده متعددی نشان‌دهنده افزایش خطر ابتلا به بیماری آلزایمر در بیماران دیابتی می‌باشد [٤]. متفورمین متداول‌ترین داروی ضددیابتی خوراکی است که در بیماران دیابتی استفاده می‌شود [۵]. متفورمین نه تنها سطح گلوکز پلاسما را کاهش می‌دهد بلکه از خواص ضدالتهابی و ضدآپوپتوز و ضداکسیدان نیز نشان داده

است [۶،۷]. اخیراً دانشمندان تلاش‌های خود را صرف اثبات نقش متفورمین در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو، مانند بیماری آلزایمر و اختلال شناختی و بیماری پارکینسون کرده اند[۸]. چنین به نظر می‌رسد که متفورمین از طریق مهار آپوپتوز در نورون‌ها اثرات نوروپروتکتیو موثری بر نورون‌های مغز دارد [۹]. نشان داده شده است که متفورمین باعث نوروژنسیس (تولید نورون‌های جدید) می‌شود و حافظه فضایی را افزایش می‌دهد [۱۰]. همچنین مشاهده شده است که استفاده طولانی مدت از متفورمین باعث افزایش سلامتی و طول عمر می‌شود [۱۱]. گزارش شده است که قراردادن سلول‌های مغزی نوع ۲-آ در محیط کشت با انسولین بالا به مدت طولانی باعث ایجاد مقاومت به انسولین در آنها می‌شود و همزمان در این سلول‌ها نشانه‌های پاتولوژیک بیماری آلزایمر نیز ظهور و بروز می‌کند و درمان این سلول‌ها با متفورمین از بروز علائم آلزایمر آنها جلوگیری می‌کند [۱۲]. در این رابطه لی و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که درمان با متفورمین باعث کاهش تولید پروتئین‌های تائوی هیپرفسفریله به عنوان یکی از نشانه‌های پاتولوژیک آلزایمر در مغز موش‌های دیابتی (موش‌های چاق مقاوم به لپتین) می‌شود [۱۳].

نتایج چندین مطالعه بالینی نشان می‌دهد که بیماران دیابتی که به مدت طولانی از متفورمین استفاده کرده‌اند نسبت به بیماران دیابتی که با استفاده از سایر داروهای ضددیابتی (گلیبن کلامید) درمان شده‌اند حافظه بهتری دارند [۱٤]. بر اساس بررسی‌های علمی مشخص شد که یک تمایل و گرایش قوی به سمت استفاده از متفورمین برای درمان بیماری آلزایمر و بیماری پارکینسون و اختلالات شناختی متوسط بوجود آمده است [۱۵،۱۶]. مقالات علمی اخیر نشان می‌دهد که متفورمین ممکن است از طریق افزایش حساسیت نورون‌های مغز به انسولین (کاهش مقاومت به انسولین) خطر ابتلا به بیماری آلزایمر را کاهش دهد [۱۷]. هرچند از طرف دیگر مشخص شده است که متفورمین می‌تواند تولید بتا آمیلوئیدها را افزایش دهد [۱۸]، که به نوبه خود نشان می‌دهد که درمان با متفورمین ممکن است پیشرفت بیماری آلزایمر را تشدید کند [۱۹]. با توجه به وجود تناقض در نتایج محققین قبلی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات متفورمین تزریقی با دوزهای مختلف بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های نرمال و موش‌های دیابتی مدل استرپتوزوتوسین صورت گرفت.

روش کار

این مطالعه تجربی با کد اخلاق IR.QUMS.REC.1396.238 در سال ۱۳۹۶در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. تعداد ۷۰ راس موش نر نژاد ویستار (تهیه شده از موسسه رازی) که وزن۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم داشتند در ۷ گروه (۱۰ موش در هرگروه) مورد آزمایش قرار گرفتند. موش‌ها در ۱۱ قفس جداگانه در شرایط استاندارد از نظر دما (۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد) و نور نگهداری شدند. در طول مدت آزمایش موش‌ها آب و غذای طبیعی خود را آزادانه دریافت می‌کردند. گروه‌های مورد آزمایش به شرح زیر بودند: الف)گروه موش‌های سالم که خود شامل سه زیرگروه بود: گروه کنترل، گروه سالین، گروه متفورمین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) که به مدت ۲۰ روز و روزی یک مرتبه سالین (۰/۲ میلی لیتر) بعنوان حلال و متفورمین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی دریافت کردند؛ ب) گروه موش‌های دیابتی شده مدل استرپتوزوتوسین[1] که خود به ٤ زیرگروه به شرح زیر تقسیم شده بودند: ۱) گروه DM، ۲)گروه سالین+ DM که به مدت ۲۰ روز و روزی یک مرتبه نرمال سالین (۰/۲ میلی لیتر) به صورت درون صفاقی دریافت می‌کردند. ۳) گروه‌های متفورمین+ DM که به مدت ۲۰ روز و روزی یک مرتبه متفورمین (۱۰۰ و

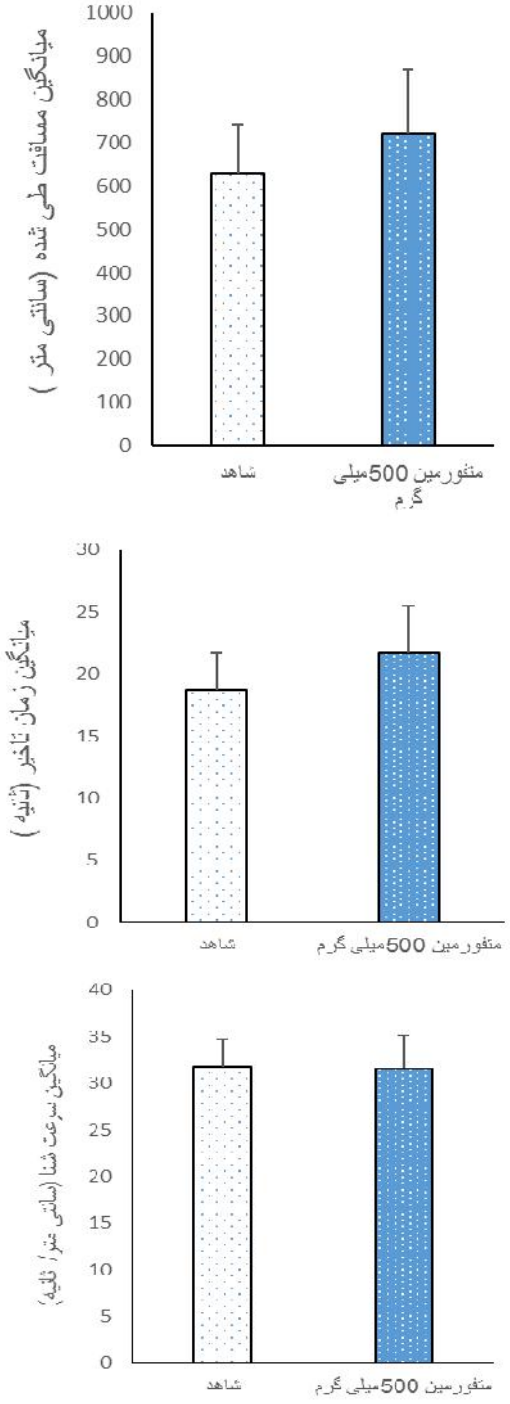
[1] Diabetic Mellitus

۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی مشابه گروه سالین دریافت می‌کردند. ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین و با استفاده از خون سیاهرگ دمی، خون‌گیری و غلظت گلوکز خون اندازه‌گیری شد و موش‌های با قندخون بالاتر از (۲۵۰mg/dl) دیابتی در نظر گرفته شدند [۱۳،۲۰]. مراحل آزمایش به این قرار بود: ۱) تزریق نرمال سالین (۰/۲ میلی لیتر) و متفورمین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به موش‌های سالم به مدت ۲۰ روز؛ ۲) تزریق داخل صفاقی ۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین به منظور ایجاد دیابت تجربی در موش‌های گروه دیابتی؛ ۳) تزریق درون صفاقی متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و حلال آن (نرمال سالین) به موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین به مدت ۲۰ روز؛ ۳) آزمون رفتاری ماز آبی به مدت ۵ روز و آزمون پروب به منظور ارزیابی حافظه موش‌ها در روز ششم آزمون به منظور تعیین اثر متفورمین بر یادگیری و حافظه فضایی در تمام گروه‌ها در پایان ۲۰ روز تزریق (۲۰،۱۳). برای ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی حیوان از ماز آبی موریس استفاده شد که یک تانک آب با قطر ۱۸۰ و عمق ۶۰ سانتی متر است و تا نیمه از آب پر می‌شود و یک سکوی نجات با قطر ۱۰ سانتی متر در یکی از چهار ربع آن ۱ سانتی متر زیر سطح آب قرار گرفته است. این مجموعه از طریق دوربین ردیابی و اطلاعات مربوط به آزمایش در کامپیوتر ذخیره و آنالیز می‌گردد. حداکثر زمانی که حیوان جهت پیداکردن سکو در اختیار دارد ۶۰ ثانیه است. در صورتی که حیوان در طول این مدت سکو را پیدا نکرد با دست به سمت سکو هدایت می‌شود و به مدت ۱۰ ثانیه روی آن قرار می‌گیرد، تا موقعیت سکو نسبت به علایم نصب شده در آزمایشگاه را به خاطر بسپارد. در صورتی که حیوان سکو را پیدا کند همزمان با قرارگیری حیوان روی سکو عمل ضبط دوربین متوقف می‌شود. این آزمایش به مدت ۵ روز و هر روز ٤ بار با فاصله ۱۰ دقیقه تکرار می‌شود. در این مراحل روند یادگیری حیوان بر اساس مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده و سرعت حرکت حیوان جهت یافتن سکو سنجیده می‌شود. در پایان روز ششم پس از اتمام آزمایشات یک مرحله پروب انجام می‌شود؛ بدین صورت که پس از برداشتن سکو حیوان در یکی از جهات (از دورترین نقطه نسبت به سکو) درون ماز رها می‌شود. این آزمایش بر این اساس است که با فرض اینکه حیوان محل سکو را به خاطر سپرده باید بیشترین زمان و مسافت را در ربع محل قرارگیری سکو بماند. این مرحله برای هر حیوان یک بار تکرار می‌شود که مدت آن ۶۰ ثانیه است. مدت زمان و مسافت طی شده در ربع محل قرارگیری سکو معیار و میزان سنجش حافظه است. برای بررسی یادگیری مدت زمان رسیدن به سکو و مسافت طی شده و سرعت حرکت حیوان جهت یافتن سکو در مدت ۶ روز یادگیری در بین گروه‌ها با هم مقایسه شد. برای بررسی حافظه مدت زمان حضور در ربع سکوی هدف و مسافت طی شده در ربع سکوی هدف در روز ششم دربین گروه‌ها با هم مقایسه شد. درتجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون ANOVA یک طرفه، آزمون تعقیبی LSD و توکی استفاده شد [۱۳،۲۰].

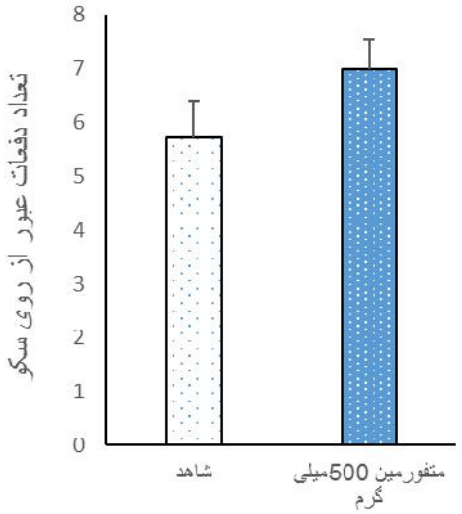
یافته‌ها

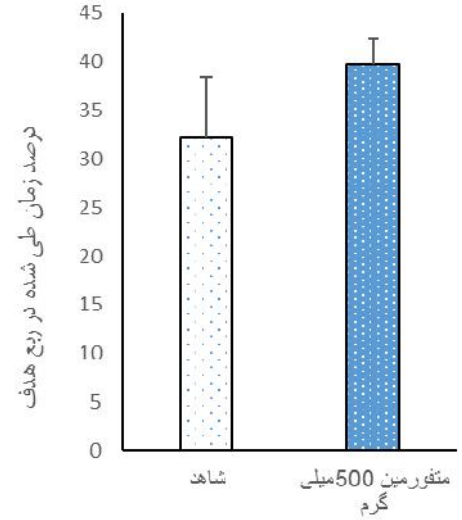
الف) اثر متفورمین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های سالم در پنج روز آموزش و روز ششم (روز تست پروب) در ماز آبی موریس: مقایسه مسافت و زمان طی شده تا رسیدن به سکو در ۵ روز آموزش در بین ۳ گروه کنترل و سالین و متفورمین نشان داد که بین گروه کنترل و گروه سالین در موش‌های سالم اختلاف معنی‌داری وجود ندارد به همین دلیل نتایج گروه متفورمین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) فقط با گروه کنترل مقایسه و نتایج آن در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده

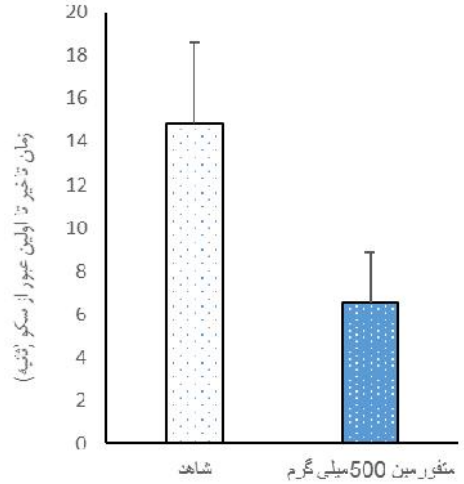
شد. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود مسافت و زمان طی شده تا رسیدن به سکو در گروه متفورمین بیشتر از گروه کنترل و گروه سالین است که نشان می‌دهد یادگیری در گروه متفورمین تا حدودی مختل شده است. هرچند اختلاف این دو گروه معنی‌دار نبود ($p<۰/۰۵۸$). سرعت حرکت برای یافتن سکو در سه گروه آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p<۰/۰۹۶$) و این بدان معنی است که تزریق سالین و یا متفورمین اختلال حرکتی ایجاد نکرده‌اند. همچنین همانطور که در نمودار ۲ مربوط به تست پروب مشاهده می‌شود درصد زمان حضور در ربع هدف و تعداد دفعات عبور از روی محل سکو در گروه متفورمین بیشتر از گروه کنترل و سالین است و برعکس تاخیر زمانی در اولین عبور از روی محل سکو در گروه متفورمین کمتر از گروه کنترل است که نشان می‌دهد حافظه فضایی موش‌های گروه متفورمین نسبت به گروه کنترل تا حدودی بیشتر شده است، هرچند اختلاف این دو گروه معنی‌دار نیست ($p<۰/۰۵۲$).



نمودار ۱. تاثیر تزریق داخل صفاقی متفورمین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های سالم بر میانگین سرعت و مسافت و زمان طی شده تا رسیدن به سکو در طول ۵ روز آموزش در ماز آبی. هر ستون نشان دهنده میزان میانگین± انحراف معیار می‌باشد.



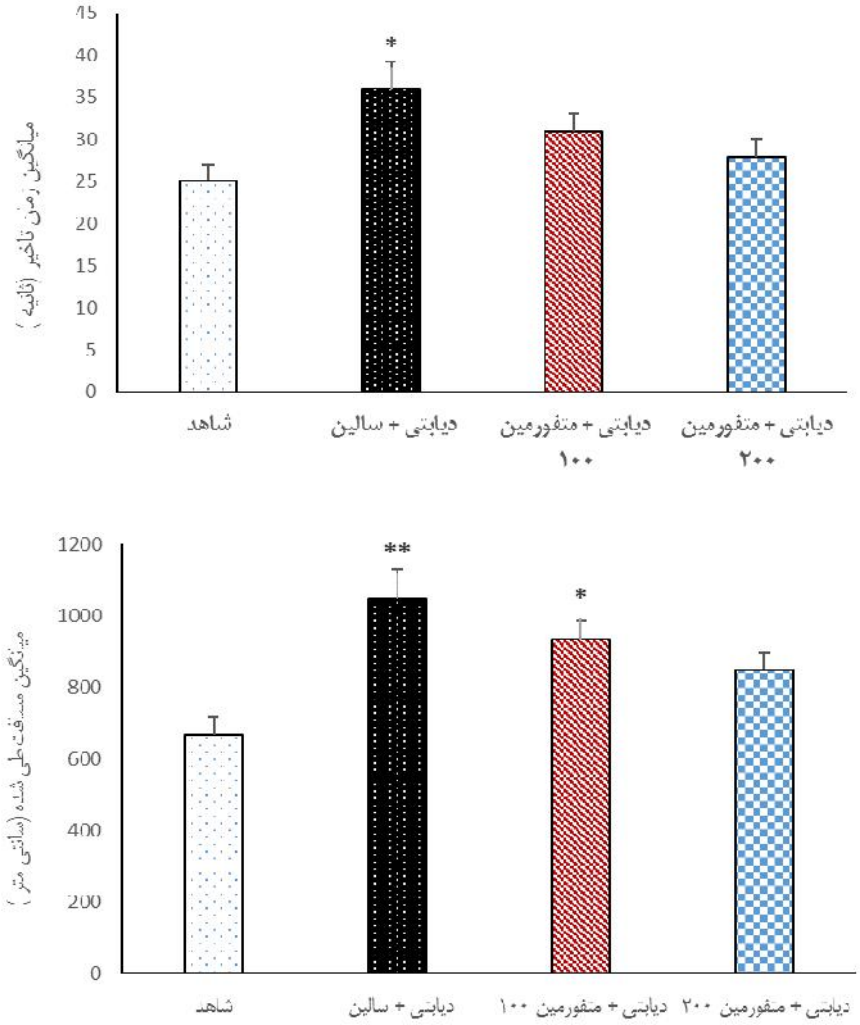




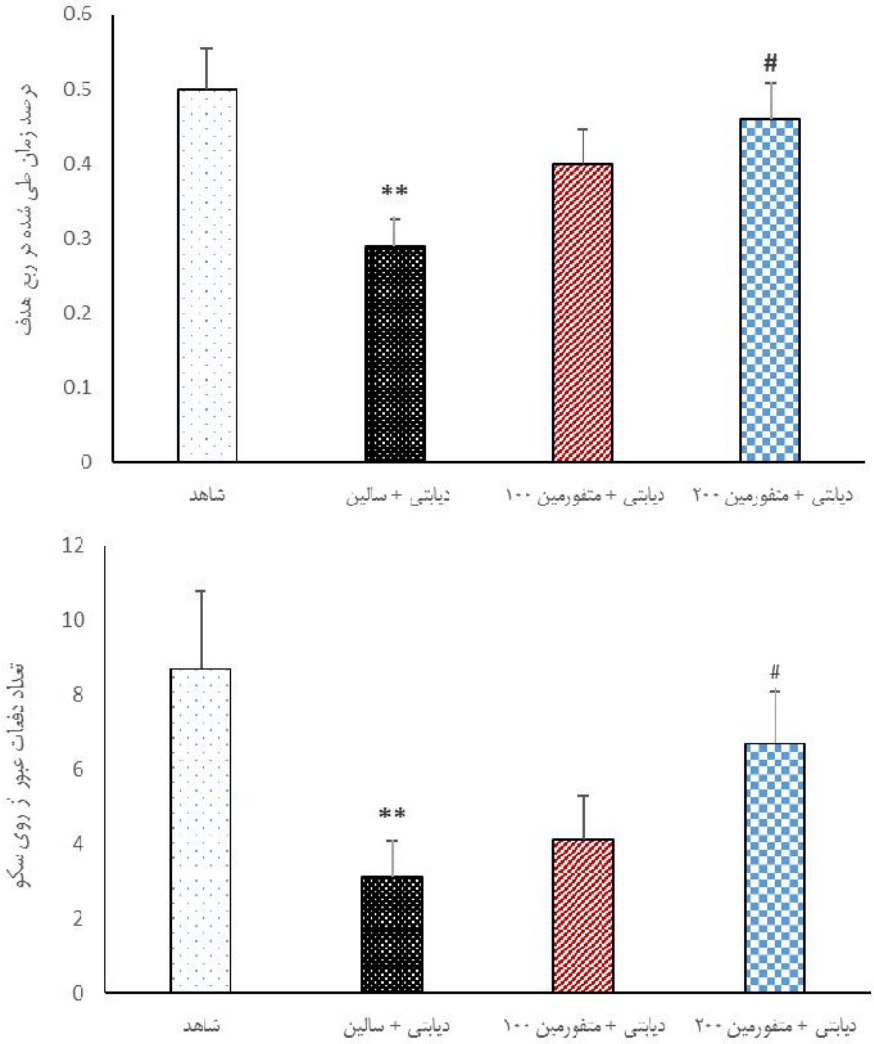
نمودار ۲. تاثیر تزریق داخل صفاقی متفورمین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های سالم بر درصد زمان حضور در ربع هدف و تعداد دفعات عبور از روی محل سکو و تاخیر زمانی در اولین عبور از روی محل سکو در تست پروب در روز ششم در ماز آبی. هر ستون نشان دهنده میزان میانگین± انحراف معیار می‌باشد.

ب) اثر متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های دیابتی در پنج روز آموزش و روز ششم (روز تست پروب) در ماز آبی موریس: در این مرحله نتایج نشان داد که مسافت و زمان طی شده تا رسیدن به سکو در گروه دیابتی و گروه دیابتی+ سالین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است ($p<۰/۰۵$)، که نشان می‌دهد تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین به منظور ایجاد دیابت تجربی در موش‌ها باعث اختلال در یادگیری می‌شود. همچنین بین نتایج گروه دیابتی (DM) و نتایج گروه دیابتی+ سالین (DM+Sal) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، به همین دلیل نتایج گروه‌های متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) فقط با گروه DM+Sal مقایسه و در نمودارهای ۳ و ٤ نشان داده شد. همانطور که در نمودارهای ۳ مشاهده می‌شود مسافت و زمان طی شده تا رسیدن به سکو در گروه دیابتی+ سالین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است ($p<۰/۰۵$)، که نشان می‌دهد یادگیری فضایی در گروه دیابتی براثر تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین تا حدود زیادی مختل شده است. مسافت و زمان طی شده تا رسیدن به سکو در گروه دیابتی+ متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت وابسته به دوز کاهش یافته و کمتر از گروه دیابتی+ سالین است که نشان می‌دهد متفورمین می‌تواند به صورت وابسته به دوز اختلال در یادگیری ایجادشده توسط استرپتوزوتوسین را بهبود بخشد، هرچند اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی+ متفورمین و گروه دیابتی+ سالین مشاهده نشد ($p<۰/۰۵۹$). همچنین همانطور که در نمودار ٤ مربوط به تست پروب مشاهده می‌شود درصد زمان حضور در ربع هدف و تعداد دفعات عبور از روی محل سکو در گروه دیابتی+ سالین به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل است ($p<۰/۰۱$)، که نشان می‌دهد حافظه فضایی نیز در گروه دیابتی تا حدود زیادی مختل شده است. این دو پارامتر در گروه

دیابتی+ متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت وابسته به دوز افزایش یافته و بیشتر از گروه دیابتی+ سالین است، به گونه ای که اختلاف بین گروه دیابتی+ متفورمین (۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه دیابتی+ سالین کاملاً معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$)، که نشان می‌دهد متفورمین می‌تواند به صورت وابسته به دوز اختلال در حافظه ایجاد شده توسط استرپتوزوتوسین در موش‌های دیابتی را بهبود بخشد.



نمودار ۳. تاثیر تزریق داخل صفاقی متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به موش‌های دیابتی شده توسط تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین بر میانگین مسافت و زمان طی شده تا رسیدن به سکو در طول ۵ روز آموزش در ماز آبی. هر ستون نشان‌دهنده میزان میانگین± انحراف معیار می‌باشد. $p<۰/۰۱$ و $p<۰/۰۵$* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل**



نمودار ٤. تاثیر تزریق داخل صفاقی متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر درصد زمان حضور در ربع هدف و تعداد دفعات عبور از روی محل سکو در تست پروب در روز ششم در ماز آبی. هر ستون نشان دهنده میزان میانگین± انحراف معیار می‌باشد. $p<0.01$ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل و $p<0.05$# نسبت به گروه دیابتی+ سالین (DM + Sal)**

بحث

برخلاف انتظار نتایج نشان داد که تزریق مزمن قبل از آموزش متفورمین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به موش‌های سالم یادگیری فضایی را مختل ولی حافظه فضایی را بهبود می‌بخشد. این بدان معنی است که استفاده از متفورمین به تنهایی در موش‌های سالم موجب اختلال در یادگیری می‌شود. از این نظر نتایج مطالعه حاضر با نتایج محققینی که نشان داده‌اند متفورمین پردازش و تجمع آمیلوئیدهای بتا، عمدتاً در ناحیه قشر مغز را افزایش می‌دهد و به گفته نویسندگان، این داروی ضددیابتی باعث ایجاد مکانیسم‌های مولکولی می‌شود که منجر به نورودژنراسیون در مغز موش می‌شود همخوانی دارد [۲۱]. همچنین با نتایج محققینی که نشان داده‌اند تزریق انسولین (که مشابه متفورمین قند خون را کاهش می‌دهد) به نوزادان موش‌های صحرایی از طریق کاهش قند خون مزمن و آسیب نورونی در مغز باعث اختلال در یادگیری فضایی می‌شود همخوانی دارد[۲۲]. همچنین به طریق دیگری با نتایج محققینی که نشان داده‌اند تزریق محیطی و مرکزی گلوکز از طریق ایجاد هیپرگلیسمی، یادگیری و حافظه را در موش‌ها افزایش می‌دهد و از مختل شدن

حافظه توسط مرفین جلوگیری می‌کند، همخوانی دارد [۲۳،۲٤]. در این رابطه یافته‌های محققین قبلی نشان می‌دهد که هر عاملی که قند خون را کاهش دهد (از جمله انسولین و متفورمین) یادگیری و حافظه را مختل و هر عاملی که قند خون را افزایش دهد (تزریق محیطی و مرکزی گلوکز) یادگیری و حافظه را افزایش خواهد داد [۲٤-۲۲]. در تحقیق حاضر نیز احتمالاً متفورمین از طریق کاهش قندخون یادگیری فضایی را مختل کرده است. از طرف دیگر در مطالعه حاضر متفورمین در موش‌های سالم حافظه فضایی را بهبود بخشید که ممکن است دلیل آن افزایش تدریجی قند خون در طول ۵ روز دوره آموزش باشد، چرا که با شروع دوره ۵ روزه آموزش تزریق متفورمین قطع گردید. ممکن است در طول این ۵ روز آموزش به تدریج اثر متفورمین در کاهش قند خون بر طرف شده باشد و با افزایش تدریجی قند خون حافظه نیز افزایش یافته باشد.

نتایج مرحله دوم تحقیق حاضر نشان دادکه دیابتی‌کردن موش‌ها از طریق تزریق داخل صفاقی ۶۵ میلی‌گرم برکیلوگرم استرپتوزوتوسین باعث مختل‌شدن یادگیری و حافظه می‌شود و تزریق داخل صفاقی متفورمین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) به صورت وابسته به دوز اختلال ایجاد شده در یادگیری و حافظه موش‌های دیابتی را بهبود می‌بخشد که نشان می‌دهد متفورمین احتمالاً از طریق بهبود سیگنالینگ سلولی انسولین و یا خواص ضدالتهابی و ضداکسیداتیو خود می‌تواند اختلالات شناختی بیماران دیابتی را بهبود بخشد و برای درمان اختلالات شناختی ناشی از بیماری دیابت و آلزایمر مفید می‌باشد. از این نظر نتایج مطالعه حاضر با نتایج محققینی که نشان داده‌اند متفورمین پیشرفت کیندلینگ شیمیایی ایجاد شده با پنتیلن تترازول را سرکوب و استرس اکسیداتیو مغزی را کاهش و اختلال شناختی ناشی از آن را بهبود می‌بخشد همخوانی دارد [۲۵]. همچنین با نتایج محققینی که نشان داده‌اند متفورمین توسط نرمال‌سازی استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ از آسیب شناختی ایجاد شده توسط L- متیونین جلوگیری می‌کند و اختلال حافظه ناشی از آن را بهبود می‌بخشد همخوانی دارد [۲۶]. به طور مشابه با نتایج محققینی که نشان داده‌اند متفورمین اختلال حافظه ناشی از رژیم‌های غذایی با چربی بالا در موش صحرایی را بهبود می‌بخشد [۲۷] و همینطور باعث بهبود عملکرد حافظه فضایی موش‌های پیر می‌شود [۲۸] همخوانی دارد. همینطور با نتایج مطالعه زو و همکاران که نشان دادند متفورمین مانع از آسیب شناختی و آسیب مغزی ناشی از مصرف داروی ضدسرطان سیس پلاتین[1] در موش می‌شود [۲۹]؛ و نتایج محققینی که نشان داده‌اند متفورمین به صورت وابسته به دوز، اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین را بهبود می‌بخشد [۳۰]؛ همچنین با نتایج مطالعات انجام‌شده توسط هتیچ و همکاران که نشان داده‌اند متفورمین به طور قابل توجهی فعالیت و بیان آنزیم بتا سکرتاز-۱ در محیط کشت سلولی را کاهش می‌دهد و در نتیجه محصولات آنزیم بتا سکرتاز- ۱ که همان آمیلوئید بتا است را کاهش می‌دهد[۳۱]؛ و نیز با نتایج محققینی که از طریق مطالعات بالینی نشان دادند که متفورمین باعث بهبود عملکرد شناختی در بیماران افسرده با دیابت تیپ ۲ می‌شود [۳۲] و از طریق خواص ضدالتهابی و ضداکسیداتیو خود ضمن کاهش اینترلوکین -۱ باعث افزایش بقای نورون‌های مغز می‌شود، همخوانی دارد. ولی با نتایج کار محققینی که نشان داده‌اند مصرف متفورمین در بیماران دیابتی نه‌تنها حافظه را بهبود نمی‌بخشد بلکه از طریق کاهش سطح ویتامین B12 بدن [۳۳] و افزایش آمیلوئیدبتا [۱۸] و کاهش LTP[2] در برش‌های هیپوکامپ [۳٤] باعث ایجاد اختلالات شناختی بیشتر می‌شود [۱۹]، مغایرت دارد. در این رابطه محققین نشان داده‌اند که متفورمین ممکن است خطر ابتلا به آلزایمر را افزایش

[1] Cisplatin
[2] Long-Term Potentiation

دهد و به بقای سلول‌های عصبی آسیب برساند. برای مثال، محققین متوجه شدند که درمان با متفورمین در یک موش ترانسژنیک سه‌گانه مدل آلزایمر باعث افزایش بیان بتا سکرتاز-۱، یکی از دو آنزیمی که ماده پیش‌ساز امیلوئید بتا (APP)[1] را می‌شکند تا آمیلوئید بتا (Aβ) را تولید کند می‌شود که با افزایش تولید Aβ و تشکیل پلاک‌های کوچک همراه بود [۱۸]. در مطالعه ای پیکون و همکاران ثابت کردند که متفورمین در محیط کشت نورونی باعث افزایش متابولیسم APP و Aβ می‌شود. نویسندگان نشان دادند که غلظت بالای متفورمین باعث افزایش بیان ژن APP در محیط کشت نورونی می‌شود که با تشکیل و تجمع اجزای Aβ همراه بود. علاوه بر این، آنها نشان دادند که این دارو با عث افزایش بیان ژن APP در مغز موش هم می‌شود [۳۵]. در تحقیق دیگری مشخص شد که استفاده از متفورمین باعث کاهش LTP (که یک ارتباط الکتروفیزیولوژیکی با حافظه دارد) در برش‌های هیپوکامپ می‌شود. این مطالعات پیش‌بینی کردند که درمان با متفورمین از طریق بدترکردن عملکرد حافظه بیماران ممکن است برای بیمارانی که از آلزایمر رنج می‌برند مضر باشد [۳٤]. یکی از جدیدترین مطالعات نشان داده است که متفورمین پردازش و تجمع Aβ، عمدتاً در ناحیه قشر مغز را افزایش می‌دهد. در این تحقیق محققین متوجه شدند که تجویز ۳ ماهه متفورمین، پردازش APP را تحریک و تجمع اجزای Aβ در منطقه قشر مغز موش را افزایش می‌دهد [۲۱]. دانشمندان تایید کرده‌اند که متفورمین مستقیماً با پپتید Aβ تعامل[1] می‌کند و باعث تجمع آن می‌شود. به گفته نویسندگان، این داروی ضددیابتی باعث ایجاد مکانیسم‌های مولکولی می‌شود که نهایتاً منجر به نورودژنراسیون در مغز موش می‌شود [۲۱]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد که دلیل آن می‌تواند تفاوت در گونه حیوانات مورد استفاده یا روش اجرای آزمایش باشد.

محدودیت‌های پژوهش

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به نبود امکانات ایمنوهیستوشیمی جهت مطالعه اثرات متفورمین و استرپتوزوتوسین بر هیپوکامپ مغز موش‌های مورد مطالعه، اشاره کرد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که متفورمین یادگیری فضایی موش‌های سالم را مختل ولی حافظه فضایی آنها را افزایش می‌دهد. همچنین نتایج نشان داد که تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین به‌منظور ایجاد دیابت تجربی، یادگیری و حافظه فضایی را در موش‌ها مختل می‌کند و درمان طولانی مدت موش‌های دیابتی با متفورمین اختلال یادگیری و حافظه آنها را به صورت وابسته به دوز بهبود می‌بخشد، بنابراین برای درمان اختلالات شناختی بیماران دیابتی مفید می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دانشگاه علوم پزشکی قزوین است که با کُد اخلاق IR.QUMS.REC.1396.238 ثبت شده است. بدینوسیله از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین تشکر و قدردانی می‌گردد.

[1] Amyloid Precursor Protein

References

1- Ascher-Svanum H, Chen YF, Hake A, Kahle-Wrobleski K, Schuster D, Kendall D, et al. Cognitive and functional decline in patients with mild Alzheimer dementia with or without comorbid diabetes. Clin Ther. 2015 Jun 1; 37(6):1195–205.

2- Banks WA, Owen JB, Erickson MA. Insulin in the brain: there and back again. Pharmacol Ther. 2012 Oct; 136(1):82-93.
3- Li J, Cesari M, Liu F, Dong B, Vellas B. Effects of diabetes mellitus on cognitive decline in patients with Alzheimer disease: a systematic review. Can J Diabetes. 2017 Feb;41(1):114-119.
4- Zhang J, Chen C, Hua S, Liao H, Wang M, Xiong Y, et al. An updated meta-analysis of cohort studies: diabetes and risk of Alzheimer's disease. Diabetes Res Clin Pract. 2017 Feb;124:41-47
5- Markowicz-Piasecka M, Huttunen KM, Mateusiak Ł, Mikiciuk-Olasik E, Sikora J. Is metformin a perfect drug? Updates in pharmacokinetics and pharmacodynamics. Curr Pharm Des. 2017 May;23(17):2532-2550.
6- LI J, Benashski SE, Venna VR, Mccullough LD. Effects of metformin in experimental stroke. Stroke. 2010 Nov;41(11):2645-52.
7- Mahmood K, Naeem M, Rahimnajjad NA. Metformin: the hidden chronicles of a magic drug. Eur J Intern Med. 2013 Jan;24(1):20-6.
8- Ashabi G, Khodagholi F, Khalaj L, Goudarzvand M , Nasiri M. Activation of AMP activated protein kinase by Metformin protects against global cerebral ischemia in male rats: interference of AMPK/PGC1a pathway. Metab Brain Dis. 2014 Mar;29(1):47-58.
9- El-Mir MY, Detaille DGRV, Delgado-Esteban M, Guigas B, Attia SF, ontaine E, et al. Neuroprotective role of antidiabetic drug Metformin against apoptotic cell death in primary cortical neurons. J Mol Neurosci. 2008 Nov; 34(1):77-87.
10- Wang J, Gallagher D, DeVito LM, Cancino GI, Tsui D, He L, et al. Metformin activates an atypical PKC-CBP pathway to promote neurogenesis and enhance spatial memory formation. Cell Stem Cell. 2012 Jul 6;11(1):23-35
11- Martin-Montalvo A1, Mercken EM, Mitchell SJ, Palacios HH, Mote PL, Scheibye-Knudsen M, et al. Metformin improves health span and lifespan in mice. Nat Commun. 2013 Jul ;4:2192.
12- Amit G, Bharti BC, Sankar D. Peripheral insulin-sensitizer drug Metformin ameliorates neuronal insulin resistance and Alzheimer's-like changes. Neuropharmacology. 2011 May;60(6):910-20
13- Li J, Deng J, Sheng W, Zuo Z. Metformin attenuates Alzheimer's disease-like neuropathology in obese, leptin-resistant mice. Pharmacol Biochem Behav. 2012 Jun;101(4):564-74
14- Herath PM, Cherbuin N, Eramudugolla R, AnsteyKJ. The effect of diabetes medication on cognitive function: evidence from the PATH through life study. BioMed Res Int. 2016 Apr; 2016(4): 11-17.
15- Domínguez RO, Pagano MA, Marschoff ER, González SE, Repettod M, Serra JA. Alzheimer disease and cognitive impairment associated with diabetes mellitus type 2: associations and a hypothesis. Neurologia. 2014 Nov-Dec; 29(9):567–72.
16- Mendelsohn AR, Larrick JW. Rapamycin as an anti aging therapeutic? Targeting mammalian target of rapamycin to treat Hutchinson–Gilford progeria and neurodegenerative diseases.. Rejuvenation Res. 2011 Aug;14(4):437-41
17- Asadbegia M, Yaghmaei P, Salehib I, Ebrahim-Habibi A, Komaki A. Neuroprotective effects of metformin against Aβ- mediated inhibition of long-term potentiation in rats fed a high fat diet. Brain Res Bull. 2016 Mar; 121:178-85.
18- Chen Y, Zhou K, Wang R, Liu Y, Kwak YD, Ma T, et al. Antidiabetic drug metformin (GlucophageR) increases biogenesis of Alzheimer's amyloid peptides via up-regulating BACE1transcription. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Mar 10;106(10):3907-12
19- Imfeld P, Bodmer M, Jick SS, Meier CR. Metformin, other antidiabetic drugs, and risk of Alzheimer's disease: a population-based case-control study. J Am Geriatr Soc. 2012 May;60(5):916-21.
20- Liu X, Mo Y, Gong J, Li Z, Peng H, Chen J, et al. Puerarin ameliorates cognitive deficits in streptozotocin-induced diabetic rats. Metab Brain Dis. 2016 Apr ;31(2):417-23.

21- Picone P, Vilasi S, Librizzi F, Contardi M, Nuzzo D, Caruana L, et al. Biological and biophysics aspects of metformin induced effects: cortex mitochondrial dysfunction and promotion of toxic amyloid pre fibrillar aggregates. Aging (Albany NY). 2016 Aug;8(8):1718-34
22- Zhou D, Qian J, Chang H, Xi B, Sun RP. Pyruvate administered to newborn rats with insulin-induced hypoglycemic brain injury reduces neuronal death and cognitive impairment. Eur J Pediatr. 2012 Jan ;171(1):103-9.
23- Kopf SR, Baratti CM. Memory improving actions of glucose: involvement of a central cholinergic muscarinic mechanism. Behav Neural Biol. 1994 Nov; 62(3):237-43.
24- Ragozzino ME, Parker ME, Gold PE. Spontaneous alternation and inhibitory avoidance impairments with morphine injections into the medial septum. Attenuation by glucose administration. Brain Res. 1992 Dec ; 597(2):241-9.
25- Zhao RR, Xu XC, Xu F, Zhang WL, Zhang WL, Liu LM, et al. Metformin protects against seizures, learning and memory impairments and oxidative damage induced by pentylene tetrazole induced kindling in mice. Biochem Biophys Res Commun. 2014 Jun ;448(4):414-7.
26- Alzoubi KH, Khabour OF, Al Azzam SI, Tashtoush MH, Mhaidat NM. Metformin eased cognitive impairment induced by chronic L. methionine administration: potential role of oxidative stress. Curr Neuropharmacol. 2014 Mar;12(2):186-92.
27- Allard JS, Perez EJ, Fukui K, Carpenter P, Ingram DK, Cabo R. Prolonged metformin treatment leads to reduced transcription of Nrf2 and neurotrophic factors without cognitive impairment in older C57BL/6J mice. Behav Brain Res. 2015 Mar; 301:1–9.
28- Ashrostaghi Z, Ganji F, Sepehri H. Effect of metformin on the spatial memory in aged rats. Nat J Phys Pharm Pharmacol. 2015 Jan; 5(5):416–21.
29- Zhou W, Kavelaars A, Heijnen CJ. Metformin prevents cisplatin induced cognitive impairment and brain damage in mice. PLoS One. 2016 Mar; 11(3): 1815-90.
30- Mostafa DK, Ismail CA, Ghareeb DA. Differential metformin dose dependent effects on cognition in rats: role of Akt. Psychopharmacology. 2016 Jul;233(13):2513-24.
31- Hettich MM, Mattes F, Ryan DP, Griesche N, Schroder S, Dorn S, et al. The Anti diabetic drug metformin reduces BACE1protein level by interfering with the MID1 complex. PLoS One. 2014 Jul; 9(7):e102420.
32- Guo M, Mi Y, Jiang QM, Xu JM, Tang YY, Tian G, et al. Metformin may produce antidepressant effects through improvement of cognitive function among depressed patients with diabetes mellitus. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2014 Sep;41(9):650-6.
33- Moore EM, Mander AG, Ames D, Kotowicz MA, Carne RP, Brodaty H, et al. Increased risk of cognitive impairment in patients with diabetes is associated with metformin. Diabetes Care. 2013 Oct;36(10):2981-7.
34- Potter WB, O'Riordan KJ, Barnett D, Osting SM, Wagoner M, Burger C, et al. Metabolic regulation of neuronal plasticity by the energy sensor AMPK. PLoS One. 2010 Feb 1;5(2):e8996
35- Picone P, Nuzzo D, Caruana L, Messina E, Barea A, Vasto S, et al. Metformin increases APP expression and processing via oxidative stress, mitochondrial dysfunction and NF-KB activation: use of insulin to attenuate metformin's effects. Biochim Biophys Acta. May;1853(5):1046-59.