

## اثر متفورمین بر یادگیری لمسی و رفتار شبه اضطرابی در موش سوری اوارکتومی شده

فاطمه دلربایی<sup>۱</sup>، مریم بهمنی<sup>۲</sup>، فاطمه ایوبی<sup>۳</sup>، علی شمسی زاده<sup>۴</sup>، ایمان فاطمی<sup>۵</sup>، محمد الله توکلی<sup>۶\*</sup>

### خلاصه

مقدمه: استروژن فرآیندهای زیادی مانند شکل‌پذیری سیناپسی، یادگیری و حافظه را در مغز تنظیم می‌کند. شواهد تجربی نشان داده‌اند که بین یائسگی و اختلال حافظه و اضطراب ارتباط وجود دارد که به نظر می‌رسد به علت فقدان استروژن باشد. در این مطالعه اثر متفورمین با خواص آنتی‌اکسیدانی که می‌تواند باعث ترمیم اختلالات یادگیری و کاهش رفتارهای مرتبط با اضطراب شود بررسی شد.

روش بررسی: این مطالعه از نوع تجربی بوده که ۳۲ سر موش سوری ماده در محدوده وزنی  $20 \pm 5$  گرم به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی شامل گروه شم، اوارکتومی شده، اوارکتومی شده درمان با دوزهای ۷mg/kg و ۱۵ mg/kg متفورمین تقسیم شدند. نخست حیوانات اوارکتومی شدند و سپس به مدت ۲۱ روز با دوزهای مذکور متفورمین و یا آب گاواژ شدند. سپس، رفتار شبه اضطرابی (با آزمون ماز به‌علاوه) و یادگیری لمسی (با آزمون شیء جدید) در گروه‌های مورد مطالعه بررسی شد. تفاوت بین گروه‌ها توسط آزمون ANOVA یک‌طرفه تحلیل شد.

نتایج: نتایج مطالعه ما نشان داد که متفورمین با دوز ۷mg/kg و ۱۵mg/kg یادگیری لمسی را نسبت به گروه اوارکتومی به‌طور معنی‌داری بهبود می‌دهد. متفورمین با هر دو دوز در مقایسه با گروه اوارکتومی درصد زمان ورود حیوان به بازوی باز و درصد دفعات ورود حیوان به بازوی باز را به‌طور معنی‌داری افزایش داد.

نتیجه‌گیری: متفورمین بخصوص با دوز ۷ mg/kg باعث بهبود در اضطراب و یادگیری لمسی در موش‌های سوری اوارکتومی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: متفورمین، اوارکتومی، یادگیری، اضطراب

۱-۲ کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی - فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران

۳- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی - فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران

۴- دانشیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی - فارماکولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران

۵- استادیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی - فارماکولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران

۶- استاد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی - فارماکولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۳۴۳۱۳۱۵۰۹۱، پست الکترونیکی: [allahtavakoli@gmail.com](mailto:allahtavakoli@gmail.com)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۱

## مقدمه

یائسگی که با پایین آمدن هورمون‌های جنسی مانند استروژن و پروژسترون و متعاقب آن بالا رفتن هورمون جسم زرد (Luteinizing hormone) و هورمون محرک فولیکول (Follicle stimulating hormone) همراه است، عملکرد حافظه و اعصاب را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از نشانه‌هایی که به صورت رایج در بین زنان یائسه دیده می‌شود، اضطراب و اختلال حافظه و یادگیری است (۱). استروژن از طریق فعال‌سازی نورون‌های اعصاب مرکزی، ایجاد اتصالات سیناپسی جدید در بین نورون‌های هیپوکامپ، افزایش جریان خون و متابولیسم گلوکز مغز و افزایش فعالیت سیستم کولینرژیک تأثیرات مفید و محافظت‌کننده خود را اعمال می‌کند (۲،۳). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که استروژن از طریق مکانیسم‌های مختلف از قبیل افزایش فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain derived neurotrophic factor; BDNF) و در هیپوکامپ با جلوگیری از تحلیل نورونی باعث جلوگیری از بروز بیماری‌های تحلیل برنده عصبی از قبیل بیماری آلزایمر می‌شود (۲). در زنان پیش از یائسگی سطح بالای میزان پلاسمایی هورمون استروژن، باعث کاهش اضطراب می‌شود (۳). همچنین گزارش‌ها حاکی از آن است که زنان پس از یائسگی به علت پایین آمدن سطح استروژن دچار اختلالات عصبی از جمله اضطراب می‌شوند (۴). مطالعات حاکی از آن است که مکانیسم آنتی‌اکسیدانی بدن با افزایش سن کاهش می‌یابد که ممکن است پس از یائسگی به خاطر فقدان استروژن شدت یابد. بنابراین زنان یائسه، در معرض خطر بیشتر استرس اکسیداتیو قرار دارند (۵). از طرفی استروژن از طریق مکانیسم‌های مختلفی از قبیل ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش ورود کلسیم القاء شده با گلوتامات از طریق کانال‌های کلسیمی و بیان ژن‌هایی که در تولید BDNF نقش دارند، تحلیل نورونی را مهار کرده و از طریق مکانیسم‌های ذکر شده به‌ویژه در هیپوکامپ با ممانعت از آپوپتوز، در حافظه و یادگیری نقش مثبتی ایفا می‌کند (۶). استروژن دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی است و به‌طور مستقیم باعث غیرفعال شدن رادیکال‌های آزاد می‌شود

(۷). در دوران یائسگی و به دنبال آن کاهش قابل‌توجه استروژن، تشکیل پروتئین بتا آمیلوئید و خطر بیماری‌های تحلیل برنده عصبی افزایش می‌یابد (۸).

متفورمین (N-1,1-dimethylbiguanide) یک داروی خوراکی کاهش‌دهنده قند خون است که از طریق کاهش گلوکونئوژنز و افزایش مصرف محیطی گلوکز اثر می‌کند. متفورمین از پرمصرف‌ترین داروهای ضد دیابت است و به‌عنوان خط اول درمان بیماری دیابت نوع ۲ استفاده می‌شود (۹). مطالعات قبلی نشان داده که متفورمین دارای چندین اثر مفید در مغز مانند اثر ضدالتهابی و همین‌طور حفاظت نورونی است (۱۰). متفورمین رسوب پاتولوژیک بتا آمیلوئید و پروتئین‌های تائوی فسفریله که از مشخصات بیماری آلزایمر است را کاهش می‌دهد (۱۱). همچنین در مطالعه دیگری که اثر تجویز هم‌زمان متفورمین و دیازپام را بررسی کردند مشخص گردید که متفورمین در ترکیب با دیازپام می‌تواند یک گزینه درمانی بهتر در مدیریت دیابت و استرس باشد (۱۲).

از این‌رو با توجه به تحقیقاتی که پیش از این در مورد داروی متفورمین انجام شده است، این مطالعه، به منظور بررسی اثرات متفاوت و جدیدی از متفورمین بر یادگیری لمسی و رفتار شبه اضطرابی در موش سوری اوارکتومی شده انجام گرفت.

## روش بررسی

در این مطالعه از ۴۰ سر موش سوری ماده در محدوده وزنی  $20 \pm 5$  گرم استفاده شد. موش‌ها از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تهیه شده و در اتاقی تحت شرایطی آرام و با حداقل استرس، در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی (۷ صبح تا ۷ شب روشنایی)، دمای  $23 \pm 2$  سانتی‌گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. این مطالعه به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان رسیده است.

حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی تقسیم شدند: گروه شم: در این گروه موش‌ها تحت استرس جراحی قرار گرفتند و تمام مراحل جراحی اوارکتومی (به جز برداشتن تخمدان‌ها) بر روی آن‌ها انجام شده و سپس به مدت ۲۱ روز با

آب (حجم ۰/۲۵ میلی‌لیتر) گاوژ شدند. گروه اوارکتومی شده (Ovariectomy; OVX): در این گروه موش‌ها ابتدا اوارکتومی شده و سپس به مدت ۲۱ روز با آب (حجم ۰/۲۵ میلی‌لیتر) گاوژ شدند؛ گروه اوارکتومی + ۷ mg/kg متفورمین: در این گروه موش‌ها ابتدا اوارکتومی شده و سپس به مدت ۲۱ روز با دوز ۷ mg/kg متفورمین (ساخت کمپانی Sigma-Aldrich آمریکا) گاوژ شدند؛ گروه اوارکتومی + ۱۵ mg/kg متفورمین: در این گروه موش‌ها ابتدا اوارکتومی شده و سپس به مدت ۲۱ روز با دوز ۱۵ mg/kg متفورمین گاوژ شدند. روش ایجاد اوارکتومی (القاء یائسگی):

ابتدا موش را وزن کرده و بیهوشی کامل توسط تزریق داخل صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۴/۵ mg/kg) صورت گرفت و سپس ناحیه شکمی حیوان را تراشیده و محل جراحی استریل شد. بین پستان دوم و سوم حیوان را شکاف داده، تخمدان را پیدا کرده و با دستگاه کوتر لوله رحمی را سوزانده و سپس تخمدان (بافت فولیکولی و قرمز رنگ متصل به لوله اویداکت) به آهستگی جدا و خارج شد. بعد از آن لایه داخلی و خارجی را جداگانه بخیه کرده و در نهایت  $\mu\text{i}/\text{kg}$  (microgram/kilogram) ۲۲۰۰۰ پنی‌سیلین به عضله ران موش تزریق شد. برای ارزیابی صحت انجام اوارکتومی بعد از گذشت سه روز از جراحی، به مدت شش روز اسمیر واژن حیوان بررسی شد (به‌وسیله بالب چند قطره نرمال سالین به واژن موش اضافه و آن را خارج کرده و سپس روی لام قرار داده و به حالت اسمیر پخش نموده و به‌وسیله میکروسکوپ نوری مشاهده می‌شود) و با عدم مشاهده طرح سرخسی و سلول‌های شاخی، جراحی اوارکتومی تأیید گردید (۱۳). تجویز متفورمین و آب بعد از تأیید شدن جراحی به مدت ۲۱ روز انجام گرفت. آزمون رفتار شبه اضطرابی:

در این مطالعه برای سنجش اضطراب از آزمون رفتاری ماز به‌علاوه (Elevated plus-maze) استفاده شد. این ماز از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت (+) است. ابعاد راهروی باز و بسته ۵۰×۱۰ cm بوده و دو طرف و انتهای راهرو بسته دیواره‌ای به بلندی ۴۰ cm دارد که برای جلوگیری از افتادن

موش‌ها در دو طرف و انتهای راهروی باز لبه‌ای به ارتفاع ۱ cm از جنس شیشه نصب گردید. چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد ۱۰×۱۰ cm منتهی می‌شوند. ماز توسط پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰ cm از سطح زمین قرار گرفت. موش‌ها درون محدوده مرکزی ماز قرار داده شدند، به‌طوری‌که رو به یک راهروی باز قرار گیرند. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز ماز قرار داشت تأمین شد. در مدت ۵ دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کرد، تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهرو باز می‌شد؛ تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهرو بسته می‌شد؛ مدت‌زمانی که حیوان در راهرو باز باقی می‌ماند؛ و نهایتاً مدت‌زمانی که حیوان در راهرو بسته باقی می‌ماند به روش فیلم‌برداری اندازه‌گیری شد. منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می‌گرفت. زمان گذرانده شده در هر راهرو نیز بر همین اساس محاسبه شد. برای هر حیوان درصد ورود به راهرو باز و درصد زمان گذرانده شده در راهرو باز به طریق زیر محاسبه شد:

درصد دفعات ورود به راهرو باز ( % Open Arm Entries; )  
 ( % OAE) = تعداد ورود به راهرو باز / تعداد ورود به راهرو باز +  
 تعداد ورود به راهرو بسته × ۱۰۰.

درصد زمان گذرانده شده در راهرو باز ( % Open Arm Time; )  
 ( % OAT) = مدت‌زمان گذرانده شده در راهرو باز /  
 مدت‌زمان گذرانده شده در راهرو باز + مدت‌زمان گذرانده شده  
 در راهرو بسته × ۱۰۰.

افزایش معنی‌دار هر کدام از دو پارامتر فوق نشان‌دهنده کاهش اضطراب است. اگرچه فاکتور OAE نسبت به فاکتور OAT دارای حساسیت کمتری در ثبت رفتار اضطرابی و یا ضد اضطرابی حیوان است. همچنین مجموع تعداد دفعات ورود به بازوها، به عنوان شاخصی برای فعالیت حرکتی حیوان در نظر گرفته شد (۱۴).

آزمون تشخیص شیء جدید:

یادگیری حسی با کمک روش تشخیص شیء جدید (بر مبنای میل طبیعی حیوان به لمس شیء جدید در مقابل شیء

شیء جدید بر مبنای زمان‌های لمس شیء در فاز T2 به دست می‌آید (درصدی از کل زمان لمس اشیاء که صرف لمس شیء جدید می‌شود) (۱۶). تست‌های رفتاری در روز ۲۲ بعد از شروع مطالعه انجام گرفت.

آنالیز آماری:

جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL و آنالیز داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS20 انجام شد. تفاوت‌های بین گروه‌ها توسط آزمون ANOVA یک‌طرفه و تست تعقیبی Tukey انجام گرفت. در تمامی موارد داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (Mean  $\pm$  SEM) نشان داده و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان با کد IR.RUMS.REC.1395.3 به تصویب رسیده است.

### نتایج

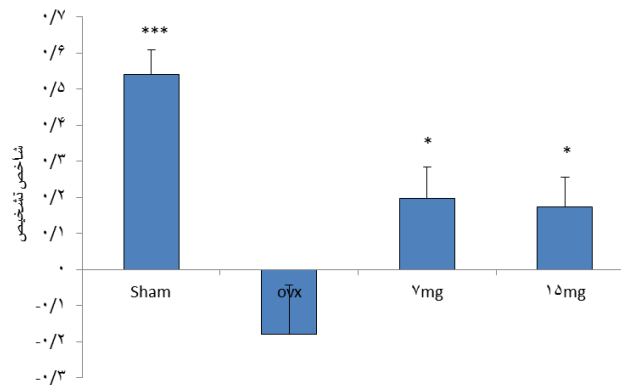
اثر متفورمین بر یادگیری لمسی

نتایج به دست آمده از آزمون تشخیص شیء جدید در جدول ۱ نمایش داده شده است. نتایج آزمون تشخیص شیء جدید نشان داد که شاخص تشخیص در گروه اوارکتومی نسبت به گروه شم کاهش پیدا کرده است ( $p < 0/001$ ) که نشان‌دهنده اختلال در یادگیری لمسی حیوانات اوارکتومی است. تجویز متفورمین با دوز ۷ mg/kg و ۱۵ mg/kg باعث افزایش معنی‌دار شاخص تشخیص نسبت به گروه اوارکتومی شد ( $p < 0/05$ ) (نمودار ۱).

آشنا) بررسی می‌شود (۱۵). این روش با استفاده از یک جعبه پلکسی گلاس به ابعاد (۳۵×۳۵×۳۵ سانتی‌متر) در اتاق تاریک انجام شد. در کف جعبه یک پلاستیک سیاه قرار گرفت و از دو شیء فلزی مربع و مثلث به عنوان اشیاء جدید و آشنا استفاده شد. در بالای جعبه یک دوربین (ساخت کمپانی Nuldos هلند) با نرم‌افزار Ethovision رفتار حیوان را ضبط نموده و آنالیز رفتاری با نرم‌افزار Ethovision (ساخت کمپانی Nuldos هلند) انجام شد. تست در سه فاز با فاصله زمانی ۲۴ ساعت بین فاز اول و دوم و ۴ ساعت بین فاز دوم و سوم انجام شد. در روز اول به منظور آشنایی به موش اجازه داده شد تا آزادانه به مدت نیم ساعت جعبه را بدون هیچ شیء لمس کند. در روز بعد، در فاز یادگیری، دو شیء در جعبه گذاشته شد و موش به مدت ۱۰ دقیقه آن‌ها را لمس کرد. شکل و جای اشیاء برای هر موش متفاوت بود. در فاز تست (test یا T2) به جای یکی از اشیاء قدیمی یک شیء جدید در جعبه گذاشته شد و موش به مدت ۱۰ دقیقه آن‌ها را لمس کرد. به منظور حذف اثرات بویایی کف جعبه و اشیاء با اتانول ۷۰ درصد تمیز شد. مدت زمانی که برای لمس هر شیء صرف شد و همچنین کل زمان لمس دو شیء محاسبه شد. لمس یک شیء بر اساس قرارگیری بینی در فاصله کمتر یا مساوی ۲ سانتی‌متر از شیء تعریف شد. بالا رفتن یا نشستن روی شیء در محاسبات قرار نگرفت. موش‌هایی که در آن‌ها کل زمان لمس کمتر از ۱۰ ثانیه بودند، به دلیل اینکه شیء را نشناخته‌اند حذف شدند. شاخص تشخیص برای لمس

جدول ۱: اثر دوزهای مختلف متفورمین بر آزمون تشخیص شیء جدید (یادگیری لمسی) در مقایسه با سایر گروه‌ها

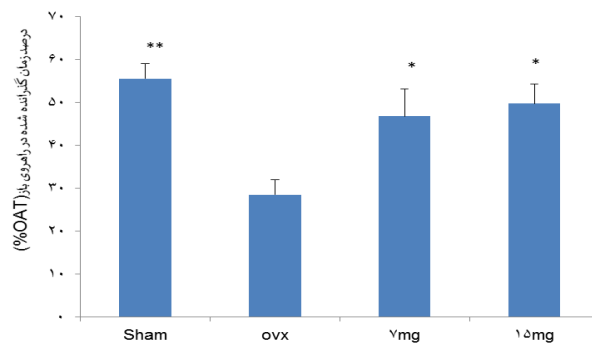
گروه‌ها	شم	کنترل اوارکتومی	۷ mg	۱۵ mg
فاز یادگیری (T1)	فرکانس	۹۷.۲۲±۱۳.۱۰	۹۷.۳۷±۱۱.۱۸	۹۲.۱۲۵±۸.۰۹
	زمان	۸۶.۰۶±۵.۸۸	۸۳.۸۶±۶.۷۳	۸۵.۲۸±۳.۷۹
	مسافت طی شده	۳۰.۴۲±۷.۱۹	۴۸.۶۲±۱۳.۹۹	۳۳.۲۹±۲.۹۶.۵
فاز تست (T2)	شیء جدید	۱۹±۴.۰۲	۲۰±۳.۰۱	۲۴.۱۲۵±۲.۳۲۵
	فرکانس	۲۲.۴۴±۴.۶۳	۲۰.۸۷±۳.۸۱	۱۶.۱۲±۲.۷۹
	کل	۴۱.۴۴±۶.۷۳	۴۰.۸۷±۳.۷۳	۴۱.۲۵±۴.۷۷
	شیء جدید	۲۲.۳۸±۳.۲۶	۳۲.۶۳±۳.۵۱	۲۵.۲۴±۳.۵۳
	زمان	۲۸.۹۹±۳.۶۰	۲۴.۳۳±۳.۲۶	۱۹.۹۱±۳.۵۵
	کل	۵۱.۳۷±۴.۰۹	۵۶.۹۶±۳.۵۰	۴۵.۱۵±۵.۳۵
مسافت طی شده	۵۳۹.۴۹۱±۶۸.۳۱۵	۱۷۵۳±۴۵۳.۱	۱۷۴۶±۲۲۷.۲	



نمودار ۱: یادگیری لمسی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه.  $p < 0.05$  و  $p < 0.001$  نشان دهند تفاوت معنی‌دار با گروه اوارکتومی است.

اثر متفورمین بر رفتار شبه اضطرابی:  
 نتایج آزمون ماز به‌علاوه نشان داد که اوارکتومی به طور معنی‌داری باعث کاهش OAT % نسبت به گروه شم شد ( $p < 0.01$ ) که نشان‌دهنده افزایش اضطراب در گروه اوارکتومی است.

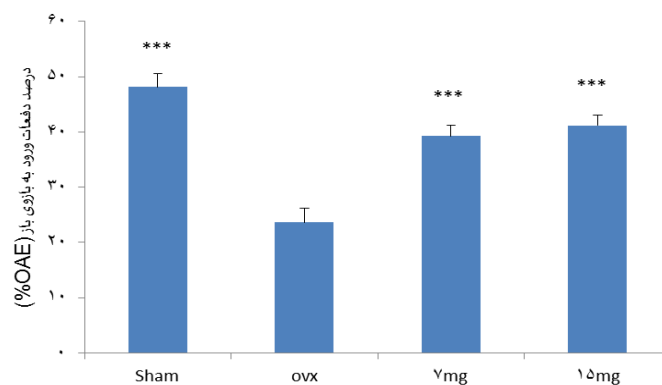
است. متفورمین با دوزهای 7 mg/kg و 15 mg/kg باعث افزایش معنی‌داری نسبت به گروه اوارکتومی شده شد ( $p < 0.01$ ) (نمودار ۲).



نمودار ۲: درصد گذرانده شده در بازوی باز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه.  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$  نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه اوارکتومی است.

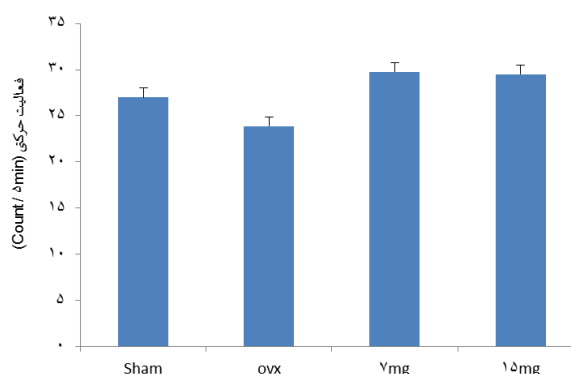
همچنین اوارکتومی به طور معنی‌داری OAE % را نسبت به گروه شم کاهش داد ( $p < 0.01$ ). متفورمین با دوزهای 7 mg/kg و 15 mg/kg این فاکتور را به طور معنی‌داری نسبت به گروه اوارکتومی افزایش داد ( $p < 0.01$ ) (نمودار ۳).

نمودار ۳: درصد دفعات ورود به بازوی باز (OAE %) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه.  $p < 0.001$  نشان دهند تفاوت معنی‌دار با گروه اوارکتومی است.



نمودار ۳: درصد دفعات ورود به بازوی باز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه.  $p < 0.001$  نشان دهند تفاوت معنی‌دار با گروه اوارکتومی است.

توانایی فعالیت حرکتی حیوانات در گروه‌های اوارکتومی و متفورمین است (نمودار ۴).



نمودار ۴: فعالیت حرکتی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه.

در بررسی نتایج فعالیت حرکتی در بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که نشان‌دهنده یکسان بودن

## بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که متفورمین روی یادگیری لمسی و اضطراب در شرایط شبه یائسگی در موش سوری تأثیر مثبت داشته است.

گزارش‌ها حاکی از آن است که زنان پس از یائسگی به علت پایین آمدن سطح استروژن دچار اختلالات عصبی از جمله اضطراب می‌شوند (۴). نتایج مطالعه ما هم نشان دادند که اوارکتومی باعث بالا رفتن اضطراب در موش‌ها می‌شود. همچنین نتایج ما در این مطالعه نشان داد که تجویز متفورمین (با دوزهای ۷ و ۱۵ mg/kg) در موش‌های یائسه باعث بهبود اضطراب شد. همسو با نتایج مطالعه ما، نشان داده شده است که متفورمین نقش بسیار مهمی در بهبود اضطراب در شرایط استرس اکسیداتیو مانند رژیم با چربی بالا دارد (۱۷). Sarkak و همکاران نشان دادند که متفورمین می‌تواند باعث بهبود رفتارهای شبه اضطرابی در سگته گذرای مغزی در موش شود (۱۸). همچنین در مطالعه دیگری اثر تجویز هم‌زمان متفورمین و دیازپام بررسی گردیده که متفورمین در ترکیب با دیازپام می‌تواند یک گزینه درمانی بهتر در مدیریت دیابت و استرس باشد (۱۹). به نظر می‌رسد که ممکن است این اثر به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی متفورمین باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که یائسگی باعث اختلال در یادگیری لمسی در موش‌های اوارکتومی می‌شود. یکی از

شایع‌ترین عوارض یائسگی اختلال حافظه و یادگیری است که علت بروز این عارضه را اختلال در عملکرد هیپوکمپ و از بین رفتن نورون‌های این ناحیه می‌دانند. مطالعات زیادی اختلال در عملکرد هیپوکمپ و کاهش حافظه و یادگیری را در فقدان هورمون‌های جنسی در شرایط اوارکتومی در موش‌ها نشان داده‌اند (۲۰). از طرف دیگر اثرات مفید درمان جایگزین استروژن در بهبود عملکرد شناختی در موش‌های اوارکتومی شده به خوبی ثابت شده است (۲۱). استروژن، آپوپتوز ایجاد شده با استرس اکسیداتیو در سلول‌های هیپوکمپ را کاهش می‌دهد و همچنین به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود و احتمالاً از طریق تداخل عمل با سیستم‌های کولینرژیک، گلوتاماترژیک و نوروترنسمیترهای دیگر و افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی، ضعف حافظه را بهبود بخشد (۲۲). مطالعات متعددی اثرات مفید متفورمین بر روی حافظه و یادگیری را نشان داده‌اند. به‌عنوان مثال، Ghasemi و همکاران نشان دادند که متفورمین به صورت وابسته به دوز می‌تواند اختلال یادگیری و حافظه فضایی موش‌های آلزایمری را احتمالاً از طریق کاهش سطح بتا آمیلوئیدهای مغز و یا افزایش سرعت تکامل نورون‌ها از سلول‌های بنیادی مغز بهبود بخشد؛ بنابراین متفورمین می‌تواند برای درمان بیماری‌های آسیب مغزی یا بیماری‌های ناشی از زوال نورون‌های مغز مانند آلزایمر مفید باشد (۲۳). در مطالعه

نتایج ما نشان داد که یادگیری لمسی و اضطراب در موش‌های اوارکتومی، با دریافت متفورمین (به‌خصوص دوز ۷mg/kg) بهبود پیدا می‌کند. نتایج مطالعه ما پیشنهاد می‌کند که می‌توان از اثرات متفورمین به منظور کاهش اضطراب و افزایش حافظه در خانم‌های یائسه استفاده کرد. البته مطالعات بیشتری نیاز است تا مکانیسم‌های ضد اضطرابی و افزایش حافظه متفورمین مشخص شود.

#### سپاسگزاری

این تحقیق نتیجه طرح تحقیقاتی به شماره قرارداد ۹/۳۵۸۱ مورخ ۹۵/۴/۳ مصوب دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان است. لذا از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان که در انجام این مطالعه با ما همکاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی نماییم.

دیگری، نشان داده شد که متفورمین به‌سرعت از سد خونی-مغزی عبور می‌کند و می‌تواند به طور مستقیم به عنوان یک عامل محافظت نورونی عمل کند و همچنین نشان داده شد که نقش مثبت متفورمین به طور عمده مربوط به پروتئین کیناز فعال‌شده توسط آدنوزین مونو فسفات است که در سلول‌های بسیاری از جمله سلول‌های کبدی، عضلات اسکلتی و نورون‌های بیان می‌شود و نقش مهمی را در کنترل انرژی و هموستاز و زنده ماندن سلول دارد که مسیری برای افزایش نورون‌ز و عملکرد حافظه است (۱۸). در نتایج مطالعات ما نیز نشان داده شد که تجویز متفورمین (با دوزهای ۷ و ۱۵mg/kg) باعث بهبود یادگیری لمسی گردید. به نظر می‌رسد که بخشی از مکانیسم این بهبود در عملکرد حافظه احتمالاً از طریق اثرات محافظت‌کننده نورونی متفورمین باشد.

نتیجه گیری

#### References:

- 1-Hardy R, Kuh D. *Change in psychological and vasomotor symptom reporting during the menopause*. Soc Sci Med 2002; 55(11): 1975-88.
- 2-Luine V, Frankfurt M. *Interactions between estradiol, BDNF and dendritic spines in promoting memory*. Neuroscience 2013; 2(34): 39-45.
- 3-Seeman MV. *Psychopathology in women and men: focus on female hormones*. Am J Psychiatry 1997; 154(12): 1641-7.
- 4-Arpels JC. *The female brain hypoestrogenic continuum from the premenstrual syndrome to menopause. A hypothesis and review of supporting data*. J Reprod Med 1996; 41(9): 633-9.
- 5-Azadbakht L, Kimiagar M, Mehrabi Y, Esmailzadeh A, HU F, Willett W. *The effects of soy consumption on markers of oxidative stress in postmenopausal women with the metabolic syndrome*. Iranian J of Nut Sci & amp 2007; 2(3): 1-12.
- 6-Kheirouri S, Alizadeh M. *Age-related alteration in selected brain neurotrophins and locomotor activity in an animal model*. Razi J of Med Sci 2012; 19(101): 23-30.
- 7-Moosmann B, Behl C. *The antioxidant neuroprotective effects of estrogens and phenolic compounds are independent from their estrogenic properties*. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96(16): 8867-72.

- 8-Kantarci K, Lowe VJ, Lesnick TG, Tosakulwong N, Bailey KR, Fields JA, et al. *Early Postmenopausal Transdermal 17beta-Estradiol Therapy and Amyloid-beta Deposition*. J Alzheimers Dis 2016; 53(2): 547-56.
- 9-Zitzmann S, Reimann IR, Schmechel H. *Severe hypoglycemia in an elderly patient treated with metformin*. Int J Clin Pharmacol Ther 2002; 40(3): 108-10.
- 10- Labuzek K, Suchy D, Gabryel B, Bielecka A, Liber S, Okopien B. *Quantification of metformin by the HPLC method in brain regions, cerebrospinal fluid and plasma of rats treated with lipopolysaccharide*. Pharmacol Rep 2010; 62(5): 956-65.
- 11- Avila J, Diaz-Nido J. *Tangling with hypothermia*. Nat Med 2004; 10(5): 460-1.
- 12- Chen F, Dong RR, Zhong KL, Ghosh A, Tang SS, Long Y, et al. *Antidiabetic drugs restore abnormal transport of amyloid-beta across the blood-brain barrier and memory impairment in db/db mice*. Neuropharmacology 2016; 101: 123-36.
- 13- Li H, Li SL, Wu ZH, Gong L, Wang JL, Li YZ. *Effect of traditional Chinese herbal Bu-Wang-San on synaptic plasticity in ovariectomised rats*. J Pharm Pharmacol 2009; 61(1): 95-101.
- 14- Rodgers RJ, Johnson NJ. *Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety*. Pharmacol Biochem Behav 1995; 52(2): 297-303.
- 15- Roohbakhsh A, Shamsizadeh A, Arababadi MK, Ayoobi F, Fatemi I, Allahtavakoli M, et al. *Tactile learning in rodents: Neurobiology and neuropharmacology*. Life sciences 2016; 147: 1-8.
- 16- Ayoobi F, Fatemi I, Roohbakhsh A, Shamsizadeh A. *Tactile learning within the early phase of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice*. Neurophysiology 2013; 45(4): 306-11.
- 17- Lennox R, Porter DW, Flatt PR, Holscher C, Irwin N, Gault VA. *Comparison of the independent and combined effects of sub-chronic therapy with metformin and a stable GLP-1 receptor agonist on cognitive function, hippocampal synaptic plasticity and metabolic control in high-fat fed mice*. Neuropharmacology 2014; 86: 22-30.
- 18- Sarkaki A, Farbood Y, Badavi M, Khalaj L, Khodaghali F, Ashabi G. *Metformin improves anxiety-like behaviors through AMPK-dependent regulation of autophagy following transient forebrain ischemia*. Metab Brain Dis 2015; 30(5): 1139-50.
- 19- Garabadu D, Krishnamurthy S. *Diazepam potentiates the antidiabetic, antistress and anxiolytic activities of metformin in type-2 diabetes mellitus with cooccurring stress in experimental animals*. Biomed Res Int 2014; 2014: 693074.
- 20- Alimohammadi R, Naderi S, Allahtavakoli M. *Effects of exercise and estrogen on anxiety-like behaviors in ovariectomized mice*. J of Babol Uni of Med Sci 2015; 17(12): 40-6.
- 21- Liu X, Wang L, Peng D, Wang Y, Ren M. *Effects of estrogen replacement therapy on cognitive function of ovariectomized rats*. Zhonghua fu chan ke za zhi 2014; 49(1): 42-7.



- 22- Pompili A, Arnone B, Gasbarri A. *Estrogens and memory in physiological and neuropathological conditions*. Psychoneuroendocrinology 2012; 37(9): 1379-96.
- 23- Ghasemi Abhari L, Esmaeili M, Benanaj M. *Effects of Metformin Intra Ventricular Injection on Learning and Spatial Memory in Streptozotocin Rat Model of Alzheimer's Disease*. J of Shahid Sadoughi Uni of Med Sci 2015; 23(1): 1764-75.

## The effect of Metformin on tactile learning and anxiety like-behavior in ovariectomized mice

Delrobaei F<sup>1</sup>, Bahmani M<sup>2</sup>, Ayoobi F<sup>3</sup>, Shamsizadeh A<sup>4</sup>, Fatemi I<sup>5</sup>, Allahtavakoli M<sup>\*6</sup>

<sup>1</sup> Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

<sup>2-5</sup> Physiology-Pharmacology Research Center, Department of Physiology and Pharmacology, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Received: 10 Jan 2017

Accepted: 6 Apr 2017

### Abstract

**Introduction:** Estrogen regulates many processes in the brain such as synaptic formation, learning, and memory. Empirical evidence shows that there is a correlation among menopause, memory impairment, and anxiety due to Estrogen deficiency. In this study, we tested the effect of Metformin (Met) with antioxidant effect, which can improve the impairment of tactile learning and anxiety-like behavior in ovariectomized mice.

**Methods:** Thirty-two female mice weighting  $20\pm 5$  g were randomly divided into four groups of eight, including sham group, ovariectomy, ovariectomy with doses 7 and 15 mg/kg of Met. At first, mice were ovariectomized and then they were treated with the doses of the Met or water for 21 days. Then, tactile learning (by Novel Object Recognition Test) and anxiety like-behavior (by Elevated Plus-maze) were determined.

**Results:** Met at the doses of 7 or 15 mg/kg significantly improved tactile learning compared to the ovariectomy group. Met at the doses of 7 or 15 mg/kg significantly increased Open Arm Time (%OAT) and Open Arm Entries (%OAE) compared to the ovariectomy group.

**Conclusion:** Met especially at the dose of 7 mg/kg showed a significant role in improving the anxiety and tactile learning in the ovariectomized mice.

**Keywords:** Ovariectomy, Metformin, Learning, Anxiety

### This paper should be cited as:

Delrobaei F, Bahmani M, Ayoobi F, Shamsizadeh A, Fatemi I, Allahtavakoli M. **The effect of Metformin on tactile learning and anxiety like-behavior in ovariectomized mice.** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 25(3): 196-205.

\*Corresponding author: Tel: 03431315091, email: [allahtavakoli@gmail.com](mailto:allahtavakoli@gmail.com)