

بررسی اثر متغورمین بر برخی عملکردهای شناختی در موش صحرایی پیر

محمد پاک‌هاشمی^۱، مهسا حسنی‌پور^۲، آیت کائیدی^۲، پویا سعید عسکری^۳، ایمان فاطمی^۴، محمد رضا رحمانی^۲، الهام حکیمی^۵، جلال حسن‌شاهی^۶، وحید احسانی^۷، زهرا تقی‌پور^۸، مرضیه خادمی^۷، محمد الله توکلی^{۸*}

مقاله پژوهشی

مقدمه: پیری یک فرآیند پیچیده بوده و به عنوان عامل خطر برای بیماری‌های مانند فشارخون، آلزایمر، سرطان، افسردگی و اضطراب به شمار می‌آید. اخیراً دیده شده است که داروی ضد دیابت متغورمین دارای اثرات عصبی مهمی نظیر جلوگیری از کاهش حافظه، سکته مغزی، اضطراب، التهاب و تشنجه می‌باشد. از این رو هدف پژوهش حاضر تعیین اثر متغورمین در برخی عملکردهای شناختی در موش‌های صحرایی نر مسن بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی ۲۲ ماهه به طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه اول: گروه کنترل است که آب را بصورت خوارکی (گاواز) دریافت کردند، گروه دوم: متغورمین با دوز mg/kg ۱ به صورت خوارکی و گروه سوم: متغورمین را با دوز mg/kg ۱۰ را به صورت خوارکی دریافت نمودند. پس از تیمار به مدت ۴۰ روز (روزانه یک مرتبه) آزمون‌های رفتاری شامل ماز Y شکل، ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع و آزمون افسردگی از حیوانات گرفته شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار Prism نسخه ۶ و آزمون One-way ANOVA و سپس تست تعقیبی Tukey-post Hoc-test بررسی شد.

نتایج: نتایج این مطالعه نشان داد که متغورمین با دوز mg/kg ۱۰ میزان اضطراب P<0.001 و P<0.05 و افسردگی P<0.001 را در حیوانات مسن به صورت معنی‌داری کاهش داده است. متغورمین با دوز mg/kg ۱ نتوانست اختلالات ناشی از پیری را در این مدل بهبود بخشد.

نتیجه‌گیری: متغورمین با دوز mg/kg ۱۰ می‌تواند با کاهش اضطراب و افسردگی موجب ارتقا کیفیت زندگی دوره پیری گردد.

واژه‌های کلیدی: پیری، متغورمین، افسردگی، اضطراب، موش صحرایی

ارجاع: پاک‌هاشمی محمد، حسنی‌پور مهسا، کائیدی آیت، سعید عسکری پویا، فاطمی ایمان، رحمانی، الهام حکیمی محمد رضا، حسن‌شاهی جلال، احسانی وحید، تقی‌پور زهرا، خادمی مرضیه، توکلی محمد الله. بررسی اثر متغورمین بر برخی عملکردهای شناختی در موش صحرایی پیر. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۹؛ ۲۸ (۲): ۸۹-۷۴.

۱-دانشجوی ارشد فیزیولوژی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

۲-استادیار گروه فیزیولوژی-فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی، پژوهشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

۳-دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

۴-مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

۵-کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی، پژوهشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

۶-دانشیار آموزشی گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

۷-کارشناسی ارشد آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

۸-استاد گروه فیزیولوژی-فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی، پژوهشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

*نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۹۱۳۲۹۲۶۲۴۱؛ پست الکترونیکی: allahtavakoli@gmail.com؛ صندوق پستی: ۷۷۱۷۶۸۴۸۸.

مقدمه

می‌شود (۹، ۱۰). از جمله مهم‌ترین اضطراب‌های دوران کهولت در ارتباط با بیماری‌های ناشی از پیری می‌باشد (۱۱). هم چنین در طی روند زندگی با افزایش سن، اختلال حافظه رخ خواهد داد (۱۲). بروز این اختلال با درجات مختلفی نمایان شده (۱۳)، که باعث نقص در اطلاعات دسته‌بندی شده ذهن به ویژه حافظه اپیزودیک می‌گردد (۱۴). متفورمین، از دسته بیگوانیدها، به صورت گستردۀ به عنوان خط اول درمانی دیابت نوع دو مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵). مطالعات نشان داده‌اند که متفورمین با عبور از سد خونی مغزی قادر به ایجاد اثرات محافظت کننده نورونی و ضد التهابی می‌باشد (۱۷). مکانیسم‌های متعددی برای اثرات مطلوب مغزی متفورمین ذکر شده است. مورد قبول‌ترین آن‌ها تحریک پروتئین کیناز AMP-activated (AMP-activated protein kinase/AMPK) است.AMPK به طور مستقیم با افزایش نسبت ATP به AMP در شرایط استرس متابولیک از جمله هیپوکسی و محرومیت از گلوکز فعال می‌شود (۱۸). داروی متفورمین از طریق افزایش AMKP می‌تواند باعث افزایش سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain derived neurotrophic factor/BDNF) بشود (۱۹). نشان داده شده است که متفورمین می‌تواند از التهاب سلولی و فعال شدن واسطه‌های استرس اکسیداتیو که منجر به آپوپتوز و مرگ سلولی می‌شوند، جلوگیری کند (۲۰). نتایج شناختی و حافظه‌ای و به خصوص افسردگی و اضطراب از جمله مشکلات عمده و ناتوان‌کننده در دوران پیری می‌باشند و تاکنون راهکار درمانی موفقی برای رفع این عوارض پیدا نشده است. با توجه خواص متعدد فارماکولوژیک مفید داروی متفورمین (مانند اثرات تنظیم‌کننده قند خون، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب و ضد پیری)، با استفاده از مدل حیوانی به بررسی عملکرد این دارو بر نقص حافظه، اضطراب و افسردگی در موش‌های صحرایی پیر پرداخته شد. نتایج این مطالعه می‌تواند روش‌نگر اثرات احتمالی مفید این دارو و هم چنین تعیین دوز دقیق موثر آن سودمند باشد.

پیری، مجموعه‌ای از تغییرات فیزیولوژیک مختلف، باعث کاهش کارکرد زیست‌شناختی در انسان می‌شود (۱). این فرآیند، عملکرد فیزیولوژیک بدن را با ضعف، کاهش توانایی، افزایش ریسک بروز بیماری‌های مهمی از جمله سرطان، دیابت، اختلالات قلبی عروقی و بیماری‌های تحلیل برنده سیستم عصبی مواجه کرده و نهایتاً منجر به افزایش احتمال مرگ می‌گردد (۲). یافتن راهکارهایی که فرآیند پیری را به تعویق بیاندازد بسیار حائز اهمیت است و محققان زیادی روی آن تمرکز کرده‌اند. مطالعات، حاکی از آن است که تغییرات ژنتیکی، رژیم غذایی و برخی داروها می‌توانند روند پیری را به تأخیر بیاندازند. با توجه به این که جمعیت سالخورده سالانه افزایش چشمگیری دارد و عامل خطری برای بیماری‌های مزمن و مرگ و میر است، انجام تحقیقات پیرامون بهبود سلامت انسان و فرآیند پیری امری مهم شمرده می‌شود (۳). طبق آمار پیش‌بینی شده توسط سازمان جهانی بهداشت تعداد افراد سالم‌مند بالای ۶۰ سال موجود در سال ۲۰۲۵ به ۲/۱ میلیارد نفر می‌رسد که ۷۰٪ آن در کشورهای در حال توسعه زندگی می‌کنند (۴). در ایران نیز این جمعیت بالای ۶۰ سال تا سال ۲۰۲۰ حدود ۱۰ میلیون نفر و به نظر می‌رسد تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ۲۶ میلیون نفر خواهد رسید (۵). از جمله مسائل حائز اهمیتی که فرد سالم‌مند با آن روبرو می‌شود افسردگی است. افسردگی را می‌توان به عنوان شایع‌ترین و مهم‌ترین عامل آسیب به عملکرد روانی- اجتماعی فرد سالم‌مند قلمداد کرد، که متأسفانه هنوز به درستی تشخیص داده نمی‌شود و درمان صحیح نیز برای آن صورت نمی‌گیرد (۶). افسردگی، کیفیت زندگی سالم‌مندان را کاسته و وابستگی آن‌ها را به دیگران افزایش می‌دهد (۷).

هم‌چنین طول درمان افسردگی در سالم‌مندان به بازه زمانی بیشتر نیازمند است و هزینه بالاتری را نیز به دنبال خواهد داشت (۸). اختلالات اضطرابی از شایع‌ترین اختلالات روانپزشکی‌اند که در سنین پیری تجربه می‌شوند. این اختلالات از شیوع بالاتری نسبت به افسردگی در افراد سالم‌مند مشاهده شده است.

روش بررسی

حیوانات

در این مطالعه تجربی از ۲۴ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار ۲۲ ماهه که وزن ۳۰۰-۲۸۰ گرم داشتند، استفاده گردید (۲۱). حیوانات از مرکز نگهداری حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تهیه و نگهداری شدند. دسترسی آزادانه به آب و غذا رعایت شد. همچنین دمای محیطی استاندارد (۲۳ درجه سانتی گراد)، حداقل استرس و ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی استاندارد (۷ صبح تا ۷ شب) برقرار بود. مراحل کار و مراقبت از حیوانات بر اساس دستورالعمل دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام گرفت.

دارو

در این مطالعه به دو گروه تیمار داروی متغورمین با دوزهای ۱ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی (گاواز) به مدت ۴۰ روز (یک بار در روز) به حیوانات مورد مطالعه داده شد (۲۲). گروه کنترل نیز به منظور یکسان سازی آب به صورت خوراکی دریافت کرد.

گروه بندی حیوانات

تحقیق حاضر از سه گروه تشکیل شده که به شرح زیر می‌باشد (تعداد ۸ سر موش صحرایی در هر گروه آزمایش قرار داشت) با توجه به مطالعات قبلی نحوه نمونه‌گیری و جمعیت مورد مطالعه انتخاب شد (۲۲، ۲۳):

۱- گروه اول: گروه کنترل: شامل موش‌هایی که فقط پیری طبیعی دارند و آب را (یک میلی لیتر) به صورت خوراکی دریافت کردن.

۲- گروه دوم: شامل موش‌هایی که همراه با پیری طبیعی، متغورمین با دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم را دریافت کردن.

۳- گروه سوم: شامل حیوانات پیر طبیعی است که دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم متغورمین را دریافت کردن.

بررسی حافظه کاری با استفاده از آزمون ماز Y شکل

جهت بررسی حافظه کاری از یک آزمون رفتاری به نام آزمون ماز Y شکل (Y-maze spontaneous alternation test) استفاده گردید. عملکرد حافظه کاری حیوانات در این آزمون، از

طریق مشاهده و اندازه‌گیری رفتار تناوب خودبه‌خودی حیوان در یک جلسه کاری به مدت ۸ دقیقه بررسی شد. ماز مربوطه از جنس پلکسی گلاس مشکی رنگ است و دارای ۳ بازو به ابعاد $40 \times 30 \times 15$ سانتی متر بوده که از طریق یک محوطه مرکزی به هم متصل هستند. جهت اجرای این آزمون، موش صحرایی را در قسمت انتهایی یک بازو قرار دادیم و امکان دسترسی آزاد به تمام نواحی ماز وجود داشت. تعداد دفعات ورود حیوان بداخل هر بازو با مشاهده نمودن ثبت شد. ورود حیوان بداخل یک بازو زمانی است که پاهای عقبی حیوان به‌طور کامل در داخل بازو قرار بگیرند. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه تایی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب درصد تناوب از نسبت تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب (۲- تعداد کل بازوهای وارد شده) $\times 100$ محاسبه گردید. بعد از انجام هر تست برای هر موش، ماز Y شکل با الکل ۱۰٪ تمیز شد (۲۴).

آزمون ماز به علاوه‌های شکل مرتفع (Elevated plus-

maze/EPM) برای بررسی رفتار شبیه اضطرابی:

این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت مثبت است. دو بازو باز و دو بازو بسته می‌باشد. ابعاد راهرو باز و بسته 50×10 سانتی متر بوده و دو طرف و انتهای راهرو بسته، دیوارهای به بلندی ۴۰ سانتی متر داشته و برای جلوگیری از افتادن موش‌ها در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه‌هایی به ارتفاع ۱ سانتی متر از جنس شیشه تعییه شده است. چهار راهرو توسط یک محدوده مرزی به ابعاد 10×10 سانتی متر به ۵۰ یکدیگر اتصال دارند. ماز توسط پایه‌های چوبی در ارتفاع ۵۰ سانتی متر از سطح زمین قرار داشت. موش‌ها درون محدوده مرکزی قرار گرفتند، به طوری که صورت موش رو به بازوی باز گذاشته شد. نور مناسب توسط لامپ که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی متری از مرکز ماز قرار داشت، تأمین گردید. در مدت ۵ دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت داشت، موارد زیر به روش مشاهده اندازه‌گیری شد: ۱- تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهرو باز شد. ۲- تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهرو بسته شد. ۳- مدت زمانی که حیوان در راهرو

مورد گروه متوفورمین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوتی با گروه کنترل دیده نشد و بهبودی در حافظه موش‌ها ملاحظه نگردید. گروه متوفورمین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل توانست در میزان حافظه بهبودی ایجاد نماید هر چند که این افزایش در تعداد حرکات متناوب خودبه‌خوی به لحاظ آماری معنادار نبود ($P > 0.05$).

-۲- نتایج حاصل از آزمون ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع درصد تعداد ورود به دو بازوی باز (شکل ۲) و درصد مدت زمان گذرانده شده در دو بازوی باز (شکل ۳) محاسبه شدند. هر چه این دو مورد بیشتر باشند نشانگر اضطراب کمتر موش‌ها است. در مقابل هر چه این دو مورد کمتر باشد یعنی موش بیشتر در بازوی‌های بسته بماند این مفهوم را می‌رساند که دچار اضطراب بیشتری است. مشاهدات نشان داد که گروه دریافت‌کننده متوفورمین با دوز mg/kg ۱، از نظر رفتار شبه اضطرابی تفاوت معناداری با گروه کنترل ندارد ($P > 0.05$). هم‌چنین گروه دریافت‌کننده متوفورمین با دوز mg/kg ۱۰ در هر دو مورد (درصد تعداد و مدت به بازوی باز) توانست تفاوت معنی‌داری را نمایان سازد ($P < 0.001$).

۳- نتایج حاصل از آزمون شناختی اجباری:

آزمون شناختی اجباری آزمونی است که برای سنجش میزان افسردگی در موش‌های آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفت. موش‌های آزمایشگاهی پس از قرار گرفتن در آب حرکات متنوعی برای غرق نشدن اجرا کردند. این حرکات شامل: شنا کردن در عرض ظرف، تقلا کردن (دست و پا زدن) و بی‌حرکتی می‌باشند. زمان بی‌حرکتی برای موش‌ها به منزله میزان افسردگی می‌باشد. هر چه این زمان بیشتر باشد نشان‌دهنده بالاتر بودن سطح افسردگی است. در این آزمون حیوانات در گروه متوفورمین با دوز mg/kg ۱ در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری ایجاد نکردند. در مقابل، حیوانات در گروه متوفورمین با دوز mg/kg ۱۰ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0.001$) را در میزان افسردگی نشان دادند (شکل ۴).

باز باقی ماند. ۴- مدت زمانی که حیوان در راهرو بسته باقی ماند. منظور از ورود به راهرو باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان وارد راهرو شده باشد. زمان گذرانده شده در هر راهرو نیز بر همین اساس محاسبه شد. برای هر حیوان درصد تعداد ورود به بازوی باز و درصد زمان گذرانده شده در راهرو باز اندازه‌گیری گردید (۲۵).

تست شناختی اجباری به منظور ارزیابی افسردگی آزمون شناختی اجباری (forced swim test) یکی از معمول‌ترین مدل‌های حیوانی برای ارزیابی افسردگی است. کاهش فعالیت حیوان در استوانه پر از آب به عنوان معیاری از افسردگی تلقی می‌گردد. به منظور اجرای این روش، هر حیوان به‌طور مجزا در استوانه‌ای از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۲۵ سانتی‌متر قطر، ۵۰ سانتی‌متر ارتفاع و حاوی آب تا ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر با دمای ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد و به‌وسیله دوربین، رفتار آن‌ها به مدت ۶ دقیقه ثبت گردید. زمان بی‌حرکتی در طول ۵ دقیقه آخر سنجیده و به عنوان معیاری از رفتارهای شبیه افسردگی در نظر گرفته شد. بی‌حرکتی به معنای عدم تحرک حیوان به سمت‌های مختلف در نظر گرفته شد (۲۶).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها در نرم‌افزار Graphpad Prism نسخه ۶ مورد آنالیز قرار گرفت. تمامی داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ نشان داده می‌شوند. برای مقایسه گروهی از روش آنالیز واریانس و سپس استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری به لحاظ آماری در نظر گرفته شد.

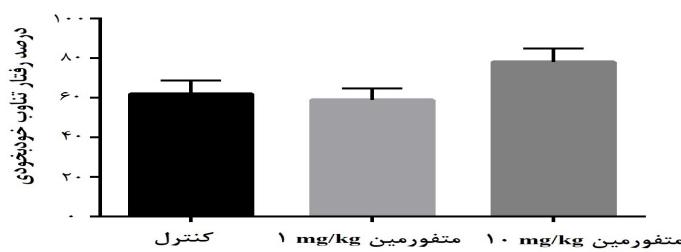
ملاحظات آماری

پروپوپزال این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تایید شده است (کد اخلاقی IR.RUMS.REC.۱۳۹۷.۰۵۰).

نتایج

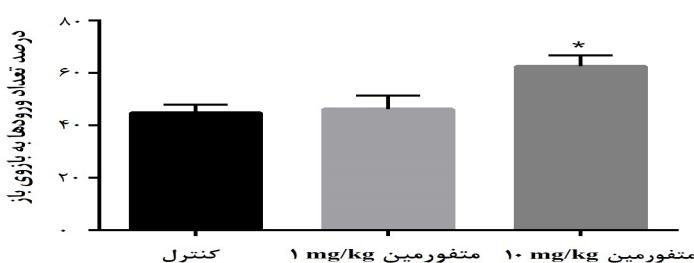
۱- نتایج حاصل از آزمون ماز Y-شکل

نتایجی که از این آزمون به دست می‌آید نشان‌دهنده حافظه کاری کوتاه مدت در موش‌های آزمایشگاهی است (شکل ۱). در



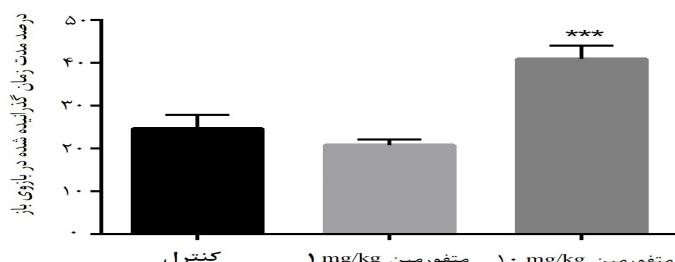
شکل ۱: تاثیر پیری و متformین بر میزان درصد رفتار تناوبی در ماز ی

داده‌ها به صورت Mean \pm SEM نشان داده شده‌اند. متformین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم در قیاس با گروه کنترل تغییراتی در حافظه را ایجاد نکرد. گروه متformین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست تا حدی بهبودی و اثر مشبت در حافظه را در مقایسه با گروه کنترل به وجود بیاورد.



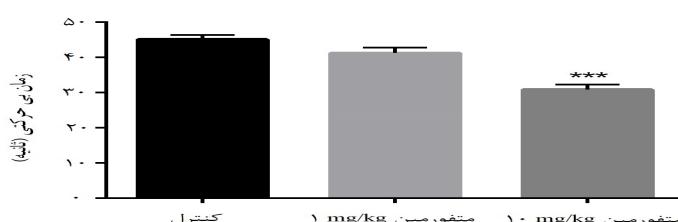
شکل ۲: تاثیر پیری و متformین در آزمون ماز بعلاوه ای شکل مرتفع

گروه متformین با دوز ۱ در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد. اما گروه متformین با دوز ۱۰ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری را به وجود آورد و سطح اضطراب را کاهش داد. $P<0.05$ در مقابل گروه کنترل.



شکل ۳: تاثیر پیری و متformین در آزمون بعلاوه ای شکل

داروی متformین با دوز ۱ نسبت به گروه کنترل تغییر قابل قبولی ندارد اما گروه متformین با دوز ۱۰ توانست به طور چشمگیری افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل را ایجاد نماید بدین معنی که اضطراب را به طور قوی کاهش داد. $P<0.001$ در مقابل گروه کنترل.



شکل ۴: تاثیر متformین و پیری بر میزان افسردگی

در قیاس با گروه کنترل، گروه متformین با دوز ۱ موفق به کاهش افسردگی نشد اما گروه متformین با دوز ۱۰ توانست به خوبی سطح افسردگی را کاهش دهد. $P<0.001$ در مقابل گروه کنترل.

بحث

عروقی، سلامت روانی (افسردگی و اختلالات شناختی) اثرات مطلوب داشته باشد (۴۱). کاهش مدت زمان بی تحرکی مربوط به آزمون شنای اجباری در مطالعه حاضر نیز نشان داد که متغورمین اثرات مطلوبی بر کاهش سطح افسردگی در موش‌های صحراوی دارد. در راستای مطالعه Ma N Shivavedi همکارانش (۲۰۱۷) در موش‌های دیابتی افسرده نشان دادند که متغورمین اثرات افسردگی حاصل از بیماری را کاهش داد (۴۲). CP Wang و همکاران وی (۲۰۱۷) دریافتند که تجویز متغورمین در افراد مسن دیابتی می‌تواند روند بیماری‌های همراه با سن نظیر بیماری‌های قلبی عروقی و افسردگی را آهسته کند و باعث کاهش آن‌ها گردد (۴۳). مطالعه Sarkaki و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که متغورمین اثرات محافظت نورونی و تقویت حافظه دارد (۴۴). Wang و همکاران (۲۰۱۶) با نشر مقاله خود بیانگر این موضوع بودند که متغورمین در حضور انسولین کافی باعث محافظت نورونی در مقابل پروتئین‌های تائو و آمیلوئیدهای بتا می‌شود و از طرفی با کاهش استرس‌های اکسیداتیو و آپوپتوز مسبب افزایش یادگیری و حافظه می‌گردد (۴۵). نتایج مطالعه ما نیز به منظور ارزیابی حافظه کاری با تکیه بر آزمون ماز Y شکل نشان داد که متغورمین می‌تواند اثرات محافظت کننده سیستم عصبی و بهبود حافظه را در موش صحراوی مسن به وجود آورد. در بررسی‌ای که در موش‌های دیابتی انجام گرفت متغورمین توانست با حفاظت از هیپوکامپ مسبب بهبود حافظه گردد (۴۶، ۴۷). مقاله Leech و همکارانش (۲۰۱۹) بیان داشت که متغورمین در بهبود عملکرد ایسکمی مغزی/برقراری مجدد جریان خون موثر است و در بهبودی طولانی‌مدت پس از ایسکمی مغزی حائز اهمیت است (۴۸). همچنین در برخی مطالعات به اثرات ضد سرطانی و ضدالتاهابی متغورمین اشاره گردیده (۴۹، ۵۰) و حتی برای ترکیب با شیمی‌درمانی پیشنهاد شده است (۵۱). ذاکری و همکارانش (۲۰۱۹) نشان دادند که متغورمین می‌تواند در موش‌های اوارکتومی شده، مدلی از پیری، میزان اضطراب را به طور معنادار کاهش دهد و همچنین بهبود حافظه و قدرت عضلانی را به همراه داشته باشد (۲۲). فاطمی و همکاران (۲۰۱۸)

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر متغورمین بر روند پیری انجام گرفت. طی روند پیری عملکرد شناختی، حافظه و همچنین توانایی جسمانی افت پیدا کرده و فرد با افسردگی مواجه می‌گردد. نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر آن است که تجویز خوراکی متغورمین قادر است از کاهش حافظه، اضطراب و همچنین افسردگی در موش‌های صحراوی مسن ممانعت به عمل آورد. در طی مرحله پیری از زندگی انسان، عملکردهای شناختی و سیناپسی افت پیدا می‌کنند که خود دلیلی جهت اختلالات عصبی در برخی از نواحی مغز می‌باشد (۲۷، ۲۸). با افزایش سن، حافظه به تدریج دچار نقص شده و کاهش می‌باید (۲۹). مطالعات حاکی از این مطلب‌اند که در افراد مسن به تدریج رسوب آمیلوبید بتا افزایش پیدا کرده و به تبع آن احتمال اختلال شناختی و زوال عقل افزایش خواهد یافت (۳۱)، (۳۰). اختلالات اضطرابی سهم زیادی از اختلالات روانپزشکی افراد مسن را به خود اختصاص می‌دهند (۱۰، ۹). زنان مسن شیوع بیشتری از اختلالات خلقی و اضطرابی را نشان داده‌اند (۳۲). در حالی که میزان خودکشی و مرگ و میر در مردان مسن سهم بیشتری را به خود اختصاص داد (۳۴، ۳۳). افسردگی در سنین بالا می‌تواند به عنوان یک بیماری روانی عودکننده در طول زندگی مطرح باشد. بیماری‌های همراه با پیری نظیر سرطان، پارکینسون و آلزایمر بهشت با افسردگی مرتبط هستند (۳۵). متغورمین دارویی است که در درمان دیابت نوع دو مورد استفاده قرار می‌گیرد اما به نظر می‌رسد مکانیسم‌های دخیل در پیری را نیز مورد هدف قرار داده است. متغورمین در رابطه با پیری اعمال متفاوتی را سبب می‌شود از جمله این موارد می‌توان کاهش IGF-1 (۳۶)، کاهش درون‌زای گونه‌های اکسیژن فعال (۳۷) و فعال‌سازی کیناز فعال شده با (AMPK)AMP را نام برد (۳۸). همچنین متغورمین قادر است تا بر التهاب (۳۹)، اتوفاژی (۴۰) و پیری سلولی مرتبط با افزایش سن اثرات مطلوبی از خود به نمایش بگذارد (۴۱). مطالعات نشان می‌دهد متغورمین می‌تواند در کنار کنترل قند خون، بر عملکرد فیزیکی (نظیر حرکت)، وزن، سلامت قلب و

تحقیق بیشتر قرار گیرد. در این مطالعه بررسی‌های سلول و مولکولی جهت روش‌سازی مکانیسم‌های احتمالی سودمند متغورمین انجام نگرفت. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات هم‌راستای بعدی مکانیسم‌های سلولی و مولکولی مورد بررسی قرار داده شوند.

سپاس‌گزاری

نتایج بیان شده در این مقاله برگرفته از پایان‌نامه محمد پاک‌هاشمی است. این پژوهش با مساعدت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به‌شماره قرارداد ۳۱/۲۰/۱۹۷۰۸۴ انجام گرفته است.

حامی مالی: معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
تعارض در منافع: وجود ندارد.

پس از القای پیری توسط دی-گالاكتوز و تیمار با متغورمین مشاهده کردند که میزان اضطراب در آزمون ماز به‌علاوه ای شکل مرتفع کاهش معنی‌داری دارد. همچنین به دنبال استفاده از متغورمین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز و سطح BDNF در مغز افزایش یافت (۲۳). این مطالعه هم راستا با مطالعه فاطمی و همکارانش نشان داده که متغورمین در پیری می‌تواند میزان اضطراب را کاهش دهد.

نتیجه‌گیری

در مجموع داده‌های حاصل از این مطالعه نشان دادند که تجویز متغورمین به موش‌های صحرایی پیر از میزان رفتار شبه اضطرابی و افسردگی می‌کاهد. با توجه به این یافته‌ها، احتمالاً متغورمین می‌تواند به‌عنوان یک مورد پیشنهادی برای مطالعات بیشتر جهت ارتقا کیفیت زندگی در دوره پیری مورد بررسی و

References:

- 1-Ladiges W, Van Remmen H, Strong R, Ikeda Y, Treuting P, Rabinovitch P, et al. *Lifespan Extension in Genetically Modified Mice*. Aging Cell 2009; 8(4): 346-52.
- 2-López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. *The Hallmarks of Aging*. Cell: 2013; 153(6): 1194-1217.
- 3-Kennedy BK, Berger SL, Brunet A, Campisi J, Cuervo AM, Epel ES, et al. *Geroscience: Linking Aging to Chronic Disease*. Cell 2014; 159(4): 709-13.
- 4-Coll Black S, Bhushan A, Fritsch K. *Integrating Poverty and Gender into Health Programs: A Sourcebook for Health Professionals*. Nursing & Health Sci 2007; 9(4): 246-53.
- 5-Sharifzadeh G, Moodi M, Akhbari H. *Investigating Health Status of Older People Supported by Imam*. Iranian J Ageing 2010; 5(3): 52-60. [Persian]
- 6-Sheldon TA, Parker H. *Race and Ethnicity in Health Research*. J Public Health 1992; 14(2): 104-10.
- 7-Sherina M, Rampal L, Mustaqim A. *The Prevalence of Depression among the Elderly in Sepang, Selangor*. Med J Malaysia 2004; 59(1): 45-9.
- 8-Asghari N. *The Effects of Group Logotherapy on Decreasing the Degree of Depression in Female Olds*. MDJDS 2012; 1(2): 31-8.
- 9-Schuurmans J, Van Balkom A. *Late-Life Anxiety Disorders: A Review*. Curr Psychiatry Rep 2011; 13(4): 267-73.
- 10-Schuurmans J, van Balkom A. *Late-Life Anxiety Disorders: A Review*. Current Psychiatry Reports 2011; 13(4): 267-73.
- 11-Ghafari M, Sharifirad GR, Zanjani S, Hassanzadeh A. *Stress, Anxiety and Depression Levels among*

- Elderly Referrals to Tehran Elderly Club.** Iranian J Ageing 2012; 7(2): 53-9.
- 12-**Stebbins GT, Carrillo MC, Dorfman J, Dirksen C, Desmond JE, Turner DA, et al. *Aging Effects on Memory Encoding in the Frontal Lobes.* Psychol Aging 2002; 17(1): 44-55.
- 13-**Sachdev PS, Blacker D, Blazer DG, Ganguli M, Jeste DV, Paulsen JS, et al. *Classifying Neurocognitive Disorders: The DSM-5 Approach.* Nat Rev Neurol 2014; 10(11): 634-42.
- 14-**Naveh-Benjamin M. *Adult Age Differences in Memory Performance: Tests of an Associative Deficit Hypothesis.* J Exp Psychol Learn Mem Cog 2000; 26(5): 1170-87.
- 15-**Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, Koo S-H, Bardeesy N, Depinho RA, Et al. *The Kinase LKB1 Mediates Glucose Homeostasis in Liver and Therapeutic Effects of Metformin.* Science 2005; 310(5754): 1642-6.
- 16-**Sreenivasan Snima K, Pillai P, Mary Cherian A, V Nair S, Lakshmanan VK. *Anti-Diabetic Drug Metformin: Challenges and Perspectives for Cancer Therapy.* Current Cancer Drug Targets 2014; 14(8): 727-36.
- 17-**Łabuzek K, Suchy D, Gabryel B, Bielecka A, Liber S, Okopień 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.
- 18-**Podhorecka M, Ibanez B, Dmoszyńska A. *Metformin-Its Potential Anti-Cancer and Anti-*
- Aging Effects.* Postepy Hig Med Dosw 2017; 71(10): 170-75.
- 19-**Ghadernezhad N, Khalaj L, Pazoki-Toroudi H, Mirmasoumi M, Ashabi G. *Metformin Pretreatment Enhanced Learning and Memory in Cerebral Forebrain Ischaemia: The Role of the AMPK/BDNF/P70SK Signalling Pathway.* Pharm Biol 2016; 54(10): 2211-9.
- 20-**Foretz M, Hébrard S, Leclerc J, Zarrinpushneh E, Soty M, Mithieux G, et al. *Metformin Inhibits Hepatic Gluconeogenesis in Mice Independently of the LKB1/AMPK Pathway via a Decrease In Hepatic Energy State.* J Clin Invest 2010; 120(7): 2355-69.
- 21-**Sengupta P. *The Laboratory Rat: Relating its Age with Human's.* Int J Prev Med 2013; 4(6): 624-30.
- 22-**Zakeri M, Fatemi I, Zakeri MA, Allahtavakoli M. *Investigate the Effect of Metformin Some of the Behavioral Indicators in Ovariectomized Middle Aged Mice.* SSU_Journals 2019; 26(10): 910-20.
- 23-**Fatemi I, Khaloui A, Kaeidi A, Shamsizadeh A, Heydari S, Allahtavakoli M. *Protective Effect of Metformin on D-Galactose-Induced Aging Model in Mice.* Iran J Basic Med Sci 2018; 21(1): 19-25.
- 24-**Tamijani SMS, Beirami E, Ahmadiani A, Dargahi L. *Effect of Three Different Regimens of Repeated Methamphetamine on Rats' Cognitive Performance.* Cogn Process 2018; 19(1): 107-15.
- 25-**Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. *Validation of Open: Closed Arm Entries in an Elevated Plus-Maze as a Measure of Anxiety in the Rat.* J Neurosci Methods 1985; 14(3): 149-67.

- 26-Slattery DA, Cryan JF. *Using the Rat Forced Swim Test to Assess Antidepressant-Like Activity in Rodents*. Nat Protocols 2012; 7(6): 1009-14.
- 27-Zhang X-L, An L-J, Bao Y-M, Wang J-Y, Jiang B. *D-Galactose Administration Induces Memory Loss and Energy Metabolism Disturbance in Mice: Protective Effects of Catalpol*. Food Chem Toxicol 2008; 46(8): 2888-94.
- 28-Morrison JH, Hof PR. *Life and Death of Neurons in the Aging Brain*. Science 1997; 278(5337): 412-9.
- 29-Hardy R, Kuh D. *Change in Psychological and Vasomotor Symptom Reporting During the Menopause*. Soc Sci Med 2002; 55(11): 1975-88.
- 30-Wend K, Wend P, Krum SA. *Tissue-Specific Effects of Loss of Estrogen During Menopause and Aging*. Front Endocrinol 2012; 3: 19.
- 31-Sipilä S, Taaffe Dr, Cheng S, Puolakka J, Toivanen J, Suominen H. *Effects of Hormone Replacement Therapy and High-Impact Physical Exercise on Skeletal Muscle in Post-Menopausal Women: A Randomized Placebo-Controlled Study*. ClinSci 2001; 101(2): 147-57.
- 32-Riecher-Rössler A. *Sex and Gender Differences in Mental Disorders*. The Lancet Psychiatry 2017; 4(1): 8-9.
- 33-Steel Z, Marnane C, Iranpour C, Chey T, Jackson JW, Patel V, Et al. *The Global Prevalence of Common Mental Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis 1980–2013*. Int J Epidemiol 2014; 43(2): 476-93.
- 34-De Leo D, Kölves K. *Suicide at Very Advanced Age-The Extremes of the Gender Paradox*. Hogrefe Publishing 2017; 38(6): 363-66.
- 35-Blazer DG. *Depression in Late Life: Review and Commentary*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2003; 58(3): M249-M65.
- 36-Liu B, Fan Z, Edgerton SM, Yang X, Lind SE, Thor AD. *Potent Anti-Proliferative Effects of Metformin On Trastuzumab-Resistant Breast Cancer Cells via Inhibition of Erbb2/IGF-1 Receptor Interactions*. Cell Cycle 2011; 10(17): 2959-66.
- 37-Batandier C, Guigas B, Detaille D, El-Mir M, Fontaine E, Rigoulet M, et al. *The ROS Production Induced by a Reverse-Electron Flux at Respiratory-Chain Complex I is Hampered by Metformin*. J Bioenerg Biomembr 2006; 38(1): 33-42.
- 38-Cho K, Chung JY, Cho SK, Shin H-W, Jang I-J, Park J-W, Et al. *Antihyperglycemic Mechanism of Metformin Occurs via the AMPK/Lxra/POMC Pathway*. Sci Rep 2015; 5: 8145.
- 39-Saisho Y. *Metformin and Inflammation: Its Potential Beyond Glucose-Lowering Effect*. Metab Immune Disord Drug Targets 2015; 15(3): 196-205.
- 40-Song YM, Lee YH, Kim JW, Ham DS, Kang ES, Cha BS, et al. *Metformin Alleviates Hepatosteatosis by Restoring SIRT1-Mediated Autophagy Induction via an AMP-Activated Protein Kinase-Independent Pathway*. Autophagy 2015; 11(1): 46-59.
- 41-Jadhav KS, Dungan CM, Williamson DL. *Metformin Limits Ceramide-Induced Senescence in C2C12 Myoblasts*. Mech Ageing Dev 2013; 134(11-12): 548-59.

- 42-**Shivavedi N, Kumar M, Tej GNVC, Nayak PK. *Metformin and Ascorbic Acid Combination Therapy Ameliorates Type 2 Diabetes Mellitus and Comorbid Depression in Rats.* Brain Res 2017; 1674: 1-9.
- 43-**Wang C-P, Lorenzo C, Habib SL, Jo B, Espinoza SE. *Differential Effects of Metformin on Age Related Comorbidities in Older Men with Type 2 Diabetes.* J Diabetes Complications 2017; 31(4): 679-86.
- 44-**Sarkaki A, Farbood Y, Badavi M, Khalaj L, Khodagholi 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.
- 45-**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; 11(1): 23-35.
- 46-**Ge X-H, Zhu G-J, Geng D-Q, Zhang H-Z, He J-M, Guo A-Z, et al. *Metformin Protects the Brain Against Ischemia/Reperfusion Injury Through PI3K/Akt1/JNK3 Signaling Pathways in Rats.* Physiol Behav 2017; 170: 115-23.
- 47-**Oliveira WH ,Nunes AK, França MER, Santos LA, Lós DB, Rocha SW, et al. *Effects of Metformin on Inflammation and Short-Term Memory in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice.* Brain Res 2016; 1644: 149-60.
- 48-**Leech T, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. *The Beneficial Roles of Metformin on the Brain with Cerebral Ischaemia/Reperfusion Injury.* Pharmacol Res 2019; 146: 104261.
- 49-**Zingales V, Distefano A, Raffaele M, Zanghi A, Barbagallo I, Vanella L. *Metformin: A Bridge Between Diabetes and Prostate Cancer.* Front Oncol 2017; 7: 243.
- 50-**Zaidi S, Gandhi J, Joshi G, Smith NL, Khan SA. *The Anticancer Potential of Metformin on Prostate Cancer.* Prostate Cancer Prostatic Dis 2019; 22(3): 351-61.
- 51-**Colquhoun A, Venier N, Vandersluis A, Besla R, Sugar L, Kiss A, et al. *Metformin Enhances the Antiproliferative and Apoptotic Effect of Bicalutamide in Prostate Cancer.* Prostate Cancer Prostatic Dis 2012; 15(4): 346-52.
- 52-**Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. *Metformin Decreases the Dose of Chemotherapy for Prolonging Tumor Remission in Mouse Xenografts Involving Multiple Cancer Cell Types.* Cancer Res 2011; 71(9): 3196-201.

Effect of Metformin on Some Cognitive Functions in Old Rats

Mohammad Pak-Hashemi¹, Mahsa Hassanipour², Ayat Kaeidi², Pooya Saeed-Askari³, Iman Fatemi⁴, Mohammad Reza Rahmani², Elham Hakimi², Jalal Hassanshahi², Vahid Ehsani⁵, Zahra Taghipour⁶, Marzieh Khademi⁷, Mohammad Allahtavakoli^{8†}

Original Article

Introduction: Aging is a complex process and is considered as a risk factor for many diseases such as hypertension, Alzheimer, cancer, depression and anxiety. Recently, it has been shown that metformin, an anti-diabetic drug, has important neurological effects such as preventing memory loss, stroke, anxiety, inflammation and seizures. Therefore, the aim of this study was investigating the effects of metformin on some cognitive factors in elderly male rats.

Methods: 24 rats (22 months) were randomly divided into 3 groups (n=8). The first group was the control group that received water orally, the second group received metformin 1 mg/kg orally and the third group received metformin 10 mg/kg orally. After treatment for 40 days (once daily), behavioral tests, including Y-maze, elevated plus maze and depression test were performed on animals. Results were analyzed using GraphPad Prism version 6 and One-way ANOVA followed by Tukey-post hoc test.

Results: The results of this study showed that metformin at a dose of 10 mg/kg significantly reduced anxiety ($P<0.001$) and depression ($P<0.001$) in older animals. Metformin at a dose of 1 mg/kg failed to improve aging-related disorders in this model.

Conclusion: Metformin at a dose of 10 mg/kg can reduce the quality of life by reducing anxiety and depression.

Keywords: Aging, Metformin, Depression, Anxiety, Rat

Citation: Pak-Hashemi M, Hassanipour M, Kaeidi A, Saeed-Askari P, Fatemi A, Rahmani MR, Hakim E, Hassanshahi J, Ehsani V, Taghipour Z, Khademi M, Allahtavakoli M. **Effect of Metformin on Some Cognitive Functions in Old Rats.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2020; 28(3): 2479-89.

¹Student Research Committee, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

²Physiology-Pharmacology Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

³Student Research Committee, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

⁴Research Center for Tropical and Infectious Diseases, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

⁵Physiology-Pharmacology Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

⁶Department of Anatomy, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

⁷Department of Anatomy, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

⁸Physiology-Pharmacology Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09132926241, email: allahtavakoli@gmail.com