

مقاله پژوهشی

## تأثیر متفورمین بر نقص حافظه کاری القا شده با مورفین در موش‌های صحرایی

مرتضی امیر تیموری<sup>۱</sup>، ایمان فاطمی<sup>۲</sup>، جلال حسن‌شاهی<sup>۳</sup>، آیت کائیدی<sup>۴\*</sup>

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
۲. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ایران
۳. مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی، پژوهشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
۴. گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

پذیرش: ۱۵ مهر ۱۳۹۸

دریافت: ۱۴ شهریور ۱۳۹۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** تجویز مزمن مورفین، با تغییرات ساختاری در مغز همراه است. در برخی مطالعات اثرات آنتی‌اکسیدان و محافظت کننده عصبی متفورمین نشان شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر متفورمین بر حافظه کاری موش‌های تیمار شده با مورفین انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه از ۴۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات به ۵ گروه آزمایشی (۸ سر موش صحرایی در هر گروه) تقسیم شدند. (۱): (دریافت سالین بصورت خوراکی به مدت ۷ روز)؛ (۲): متفورمین (دریافت ۵۰ mg/kg متفورمین، به صورت خوراکی به مدت ۷ روز)؛ (۳): مورفین (دریافت ۱۰ mg/kg مورفین دو بار در روز به صورت زیر پوستی به مدت ۷ روز) و (۴ و ۵): مورفین + متفورمین (دریافت ۱۰ mg/kg مورفین و ۵۰ mg/kg متفورمین یا ۱۰ mg/kg مورفین و ۵ mg/kg متفورمین به مدت ۷ روز). برای بررسی حافظه کاری از آزمون رفتاری اندازه‌گیری رفتار تناوب در ماز Y شکل استفاده شد. برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدی میزان مالون‌دی‌آلدهید در بافت هیپوکمپ مغز سنجیده شد.

**یافته‌ها:** مورفین، باعث نقص حافظه کاری و افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید نسبت به گروه کنترل گردید ( $p < 0/001$ ). متفورمین به‌تنهایی تأثیری بر حافظه کاری نداشت اما با دوز ۵۰ mg/kg در موش‌های دریافت‌کننده مورفین به‌رور معناداری باعث بهبود عملکرد حافظه کاری ( $p < 0/01$ ) و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید ( $p < 0/01$ ) نسبت به گروه صرفاً تیمار شده با مورفین شد.

**نتیجه‌گیری:** متفورمین می‌تواند نقص حافظه کاری القا شده با مورفین در موش‌های صحرایی را بهبود دهد.

**واژه‌های کلیدی:** حافظه کاری، ماز Y شکل، مالون‌دی‌آلدهید، متفورمین، مورفین

### مقدمه

اکسیداتیو، مرگ نورونی، بروز التهاب، تغییر در مسیرهای پیام‌رسانی درون سلولی و فاکتورهای نوروتروفیک، مانند فاکتور رشد عصبی مشتق از مغز<sup>۱</sup> می‌شود [۲].

با توجه به این‌که گیرنده‌های اوبیوئیدی در بافت مغز به‌ویژه نواحی قشر پره فورنتال، هیپوکمپ، هسته لوکوسرئولوس، هسته اکومبسنس به‌وفور بیان می‌شوند و همچنین مسیرهای عصبی آوران از سایر نقاط مغز به این نواحی نیز حاوی نوروپپتیدهای اوبیوئیدی هستند، نشان داده شده است که این گیرنده‌ها باعث

مورفین داروی ارزشمندی است که از آن برای تسکین دردهای حاد و شدید کلینیکی استفاده می‌شود. مورفین علاوه بر اثرات ضد دردی شناخته شده، در فرایندهای تکوین مغز، عصب‌زایی، تمایز سلولی و آپوپتوز نورون‌های سیستم عصبی مرکزی نیز تأثیر گذار می‌باشد. استفاده مزمن از مورفین و سایر اوبیوئیدها باعث ایجاد وابستگی و تحمل به اثر بی‌دردی آن‌ها می‌شود [۱]. نشان داده شده است که وابستگی مزمن به مورفین سبب بروز اختلالات شناختی از جمله بروز نقایص حافظه و یادگیری می‌شود. علاوه بر این مورفین باعث بروز استرس

<sup>1</sup> Brain derived nerve factor (BDNF)

(IR.RUMS.REC.1396.134) انجام شد. از هر موش فقط یک بار در این مطالعه استفاده شد. داروی متفورمین هر روز به صورت تازه در سرم فیزیولوژی حل شده و با استفاده از لوله دهانی-معددهای (گاواژ) به حیوان خورانیده می‌شد. هر گروه آزمایشی شامل ۸ حیوان بود. در این مطالعه حیوانات به ۵ گروه آزمایشی تقسیم شدند:

- گروه اول (کنترل): حیوانات به مدت ۷ روز سرم فیزیولوژی (به عنوان حلال متفورمین) به صورت خوراکی دریافت می‌کردند.
  - گروه دوم (متفورمین): حیوانات به مدت ۷ روز متفورمین (۵۰ mg/kg) به صورت خوراکی دریافت کردند.
  - گروه سوم (مورفین): حیوانات به مدت ۷ روز مورفین دریافت کردند (۱۰ mg/kg) دو بار در روز، به صورت زیر پوستی.
  - گروه چهارم و پنجم (مورفین + متفورمین): حیوانات روزانه به مدت ۷ روز مورفین (۱۰ mg/kg) دو بار در روز، به صورت زیر پوستی) به همراه متفورمین (۵ mg/kg یا ۵۰ mg/kg) به صورت خوراکی) دریافت کردند.
- متفورمین در ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی حل می‌شد و یک بار در روز برای یک دوره ۷ روزه گاواژ شد. گروه کنترل فقط ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به صورت خوراکی دریافت کرد.

### بررسی حافظه کاری

در پایان دوره ۷ روزه تیمار با مورفین و متفورمین، برای بررسی حافظه کاری از تست رفتاری اندازه‌گیری رفتار تناوب در ماز Y شکل (Y-maze spontaneous alternation test) استفاده شد. در این آزمون میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری با مشاهده بررسی رفتار مداوم خودمختار حیوان در یک روز مورد بررسی قرار گرفت. ماز مربوط به این آزمون دارای ۳ بازو از جنس پلکسی گلاس بود. هر یک از بازوها دارای ابعاد  $۱۵ \times ۳۰ \times ۴۰$  سانتی متر بوده و بازوها از طریق یک محوطه مرکزی به هم متصل بودند. برای انجام آزمون هر موش صحرایی در قسمت انتهایی یک بازو قرار داده می‌شد و امکان دسترسی آزاد آن به تمام نواحی ماز در یک دوره زمانی ۸ دقیقه‌ای فراهم می‌گردید. با مشاهده رفتار حیوان در طی این مدت، تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو ثبت می‌شد. معیار ورود حیوان به داخل یک بازو با ورود قاعده دم حیوان به طور کامل در داخل بازو در نظر گرفته

تغییراتی در انواع یادگیری و حافظه می‌گردند. همچنین مطالعات گذشته نشان داده‌اند که مورفین با شکل‌پذیری نامطلوب و آتروفی دندریتی یا تخریب نورونی در هیپوکمپ و ساختمان‌های وابسته به قشر لیمبیک باعث کاهش میزان نورون‌زایی در لایه سلول‌های گرانولی هیپوکامپ موش‌های بالغ می‌گردد [۳]. مورفین همچنین از طریق تداخل با مسیرهای مربوط به پیام‌رسانی درون سلولی فاکتورهای رشد نوروتروفیک مغز، در اعمال تنظیمی آن‌ها (بر عملکرد نورون‌ها) مداخله می‌کند [۴].

داروهای کلاس بیگوآنید مانند متفورمین معمولاً برای درمان و پیشگیری از دیابت نوع ۲، چاقی و سندرم تخمدان پلی کیستیک استفاده می‌شود [۵]. متفورمین دارای اثرات چندگانه است که ممکن است به علت اثرات ضد التهابی [۶]، محافظت‌کننده عصبی [۷] و آنتی‌اکسیدانی [۸] دارو باشد. متفورمین تولید رادیکال‌های آزاد را از طریق کاهش بیان نیکوتین‌آمیدآدنین دینکلوتید فسفات اکسیداز اعمال می‌کند [۹]. علاوه بر این، اثرات محافظت‌کننده عصبی متفورمین در برخی مطالعات نشان داده شده است [۱۰]. پن<sup>۲</sup> و همکاران در مطالعه‌ای به این نتیجه دست یافتند که متفورمین می‌تواند تحمل مورفین را در موش کاهش دهد. آن‌ها پیشنهاد کردند که متفورمین ممکن است فعال‌سازی میکروگلیال و به دنبال آن حساسیت مرکزی در نخاع را مهار کند، که این فرآیند موجب کاهش تحمل مورفین می‌شود [۱۱]. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر احتمالی متفورمین بر نقص حافظه کاری القا شده با مورفین در موش صحرایی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

در این مطالعه، از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن  $۱۵ \pm ۲۶۰$  گرم) استفاده شد. موش‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه در قفس‌های پلاستیکی در یک چرخه ۱۲ ساعته روشنایی/تاریکی (روشنایی از ساعت ۰۷:۰۰ الی ۱۹:۰۰) با دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری و در دمای  $۲۳ \pm ۲$  °C نگهداری می‌شدند. تمام مراحل آزمایشی مطابق دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و مجوز کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

<sup>2</sup> Pan

جدول ۱- مقایسه میانگین وزن بدن در گروه‌های مختلف قبل و بعد از شروع آزمایش

گروه های آزمایشی	وزن قبل از دوره آزمایش (گرم)	وزن بعد از دوره آزمایش (گرم)
کنترل	251/2 ± 4/2	258/3 ± 6/1
متفورمین	256/2 ± 10/1	257/4 ± 9/4
مورفین	251/2 ± 9/6	254/3 ± 11/3
مورفین + 5 mg/kg متفورمین	260/8 ± 13/3	261/1 ± 10/6
مورفین + 50 mg/kg متفورمین	257/3 ± 10/2	265/4 ± 8/12

## یافته‌ها

### تاثیر متفورمین بر وزن حیوانات بعد از انجام مطالعه

همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، وزن موش‌ها در شروع دوره آزمایش و بعد از آن هیچ‌گونه تفاوتی معنی‌دار با یکدیگر نداشت.

### نتایج آزمون Y- شکل

داده‌های آزمون ماز Y- شکل می‌تواند نشان‌دهنده شاخصی از حافظه فضایی کاری در کوتاه مدت (از نوع بازشناختی) در جوندگانی نظیر موش کوچک آزمایشگاهی و همچنین موش صحرایی باشد. داده‌های این مطالعه نشان داد تیمار مزمن حیوانات با مورفین باعث کاهش درصد تناوب نسبت به گروه سالیین می‌شود ( $p < 0/001$ ). علاوه بر این داده‌های ما نشان داد که تجویز همزمان متفورمین (50 mg/kg) به حیوانات تیمار شده با مورفین شده باعث بهبود رفتار تناوبی در این گروه‌های آزمایشی شد ( $p < 0/01$ ), به‌صورتی که تفاوت معناداری میان این گروه با گروه سالیین مشاهده نشد. لازم به ذکر است که تجویز متفورمین با دوز 5 mg/kg تاثیری در رفتار تناوب حیوانات وابسته به مورفین نداشت و در پایان همچنان میان این گروه با گروه کنترل تفاوت معناداری وجود داشت (نمودار ۱).

### تاثیر متفورمین بر پراکسیداسیون لیپیدی در بافت

#### هیپوکمپ در گروه‌های مختلف آزمایشی

تولید رادیکال‌های آزاد به دنبال تیمار مزمن با مورفین از طریق بروز پراکسیداسون لیپیدی در بافت هیپوکمپ برآورد شد. پراکسیداسیون لیپیدی معمولاً روی اسیدهای چرب غیراشباع صورت می‌گیرد و محصول نهایی آن آلدهیدهای فعال مانند مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد. بنابراین در این مطالعه به‌صورت

شد. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه‌تایی در نظر گرفته شد. درصد تناوب از نسبت تناوب مشاهده‌شده به حداکثر تناوب (۲- تعداد کل بازوهای وارد شده)  $\times 100$  محاسبه شد.

### اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی در بافت

#### هیپوکمپ مغز

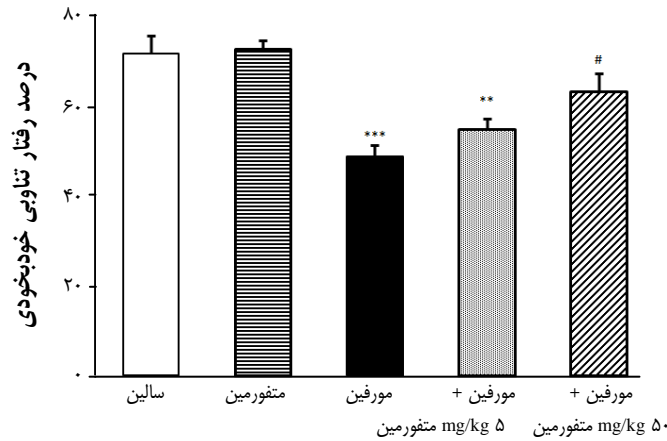
پس از اتمام آزمون‌های رفتاری، حیوانات تحت بیهوشی عمیق با اتر قرار گرفتند و سر حیوانات جدا شد و مغز از جمجمه خارج گردید. ناحیه هیپوکمپ از مغز جدا شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شده و نمونه‌ها در دمای  $^{\circ}\text{C} -80$  ذخیره شدند. بافت هیپوکمپ به قطعات کوچکتر تقسیم و در بافر RIPA هموژن شد. این ترکیب به مدت ۲۰ دقیقه در  $^{\circ}\text{C} 14000$  دور در دقیقه در دمای  $^{\circ}\text{C} 4+$  سانتریفیوژ شد و سپس محلول رویی جداسازی و در میکروتیوب‌های تمیز نگهداری شد. در آخر مطابق با دستورالعمل کیت مالون‌دی‌آلدهید (ساخت شرکت ZellBio، آلمان)، میزان پراکسیداسیون لیپیدی در بافت هیپوکمپ گروه‌های مختلف آزمایشی اندازه‌گیری شد.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین بیان شدند. برای مقایسه مقادیر بدست آمده از گروه‌های مختلف از تست آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن از پس آزمون توکی<sup>۴</sup> استفاده شد.  $p < 0/05$  حداقل سطح معناداری بین گروه‌های مختلف در هر شاخص مورد بررسی، در نظر گرفته شد.

<sup>3</sup> Radioimmunoprecipitation assay

<sup>4</sup> Tukey



**نمودار ۱-** تاثیر مورفین و متفورمین بر میزان درصد رفتار تناوبی در ماز Y شکل. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۸ سر بود. از تست آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن از پس آزمون توکی برای مقایسه مقادیر بدست آمده از گروه‌های مختلف آزمایشی استفاده شد. اختلاف معنادار در مقایسه با گروه سالین با  $p < 0/01$ :\*\* و  $p < 0/001$ :\*\*\*. اختلاف معنادار با گروه مورفین با  $p < 0/01$ :#.

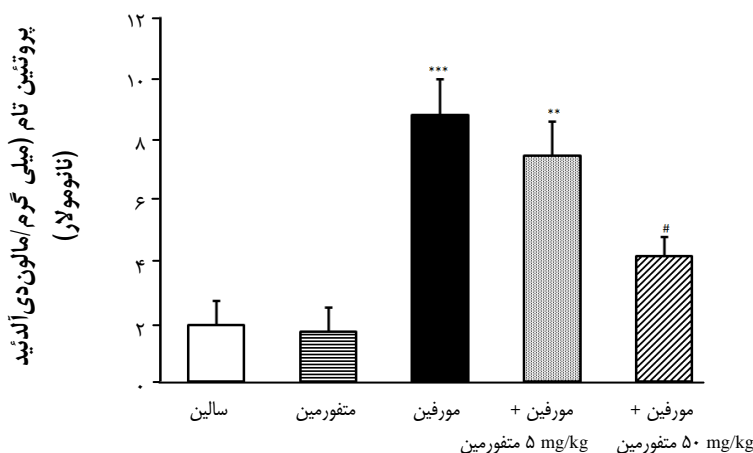
حاضر نشان داد که تیمار با مورفین منجر به ایجاد اختلال در حافظه کاری و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی می‌شود. از سوی دیگر متفورمین باعث بهبود حافظه کاری و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی در مغز در این حیوانات می‌شود.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که حیوانات تحت درمان با مورفین دارای اختلال حافظه هستند. اگر چه مکانیسم‌هایی که اثرات مخرب مورفین بر حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهد هنوز کاملاً شناخته نشده‌اند اما پیشنهاد شده است که تجویز مورفین از طریق نقص در عملکرد هیپوکمپ و سایر نواحی مغز که مرتبط با عملکرد حافظه می‌باشند تأثیر مخرب خود را اعمال می‌کند [۱۲].

غیرمستقیم با اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدهید، بروز پراکسیداسیون لیپیدی برآورد شد. همانگونه که در نمودار ۲ نشان داده شده است، تیمار مزمن با مورفین باعث افزایش معنادار تولید مالون‌دی‌آلدهید در بافت هیپوکمپ نسبت به گروه تیمار شده با سالین شد ( $p < 0/001$ ). تجویز متفورمین (در دوز 50 mg/kg) به صورت معناداری باعث کاهش مقادیر مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با حیوانات تیمار شده با مورفین به تنهایی شد ( $p < 0/05$ ). تفاوت معناداری بین گروه‌های تیمار شده با مورفین و تیمار شده با متفورمین 5 mg/kg مشاهده نشد.

## بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر متفورمین بر حافظه کاری موش‌های تیمار شده با مورفین انجام شد. یافته‌های مطالعه



**نمودار ۲-** تاثیر متفورمین بر سطوح مالون‌دی‌آلدهید بافت هیپوکمپ. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۸ سر بود. از تست آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن از پس آزمون توکی برای مقایسه مقادیر بدست آمده از گروه‌های مختلف آزمایشی استفاده شد. اختلاف معنادار در مقایسه با گروه سالین با  $p < 0/01$ :\*\* و  $p < 0/001$ :\*\*\*. اختلاف معنادار با گروه مورفین با  $p < 0/05$ :#.

متفورمین شده است [۸]. متفورمین در مدل‌های حیوانی مولتیپل اسکروزیس، سکنه مغزی و بیماری آلزایمر اثرات مفیدی دارد [۱۶]. به خوبی مشخص شده است که تجویز مزمن مورفین، تغییرپذیری سیناپسی و تغییرات ساختاری در مغز را به دنبال دارد. علاوه بر این، نشان داده شده است که مصرف مواد اپیوئیدی منجر به اثرات سمیت نورونی و تحلیل نورونی در مغز می‌شود [۲]. از طرف دیگر، اثرات محافظت عصبی متفورمین از طریق مهار مکانیسم آپوپتوز گزارش شده است [۱۰]. فاطمی و همکاران در یک مطالعه نشان دادند که تجویز متفورمین باعث کاهش وابستگی به مورفین در موش‌های صحرایی می‌شود [۱۷]. در یک مطالعه نشان داده شد که متفورمین با کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو، باعث کاهش برخی عوارض ناشی از پیری در موش‌های اوراکتومی شده گردیده بود [۱۸]. علاوه بر این برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که تجویز متفورمین باعث بهبود نقص حافظه و یادگیری القا شده با استروپتوزوتوسین، در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود [۲۰، ۱۹].

### نتیجه‌گیری

با توجه به داده‌های حاصل از این مطالعه، اثر مفید متفورمین بر حافظه کاری در مطالعه ما می‌تواند تا حدودی ناشی از تاثیر متفورمین بر کاهش استرس اکسیداتیو در مغز موش‌های صحرایی تیمار شده با مورفین باشد.

### سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان و از محل طرح شماره ۲۰/۱۲۱۶ انجام شده است. نویسندگان مراتب قدردانی خود را اعلام می‌نمایند.

### تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

### نقش نویسندگان

آ.ک.، ا.ف.: ایده، طراحی و و نظارت بر حسن اجرای مطالعه؛ م.ا.: انجام مطالعه؛ آ.ک.، ا.ف. م.ا.: نگارش مقاله؛ آ.ک.، ج.ح.: آنالیز آماری.

تولید بیش از حد رادیکال آزاد در شرایط خاص می‌تواند سبب القاء چندین اثر مختلف شامل تغییرات و شکست در سطح مولکول‌های تشکیل‌دهنده ساختمان سلولی شود. بیشتر مطالعات در مورد خواص اکسیداتیو رادیکال هیدروکسیل بر روی لیپیدهای غشایی انجام شده است که اسیدهای چرب غیر اشباع آن‌ها مستعد اکسیداسیون هستند. پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع توسط رادیکال هیدروکسیل به عنوان یکی از شدیدترین تهاجمات مخرب علیه تمامیت سلول محسوب می‌شود که باعث تاثیر در بسیاری از پارامترهای مهم عملکردی، مانند سیالیت، نفوذپذیری، پتانسیل الکتریکی و انتقال کنترل شده متابولیت‌ها در عرض غشا می‌گردد [۱۳]. بنابراین از جمله دیگر شاخص‌های استرس اکسیداتیو، پراکسیدهای لیپیدی در سلول‌ها هستند که برای تشکیل ترکیبات پیچیده‌تر و واکنش‌پذیرتر مانند مالون‌دی‌آلدئید تجزیه می‌شوند. لازم به یادآوری است که مصرف مزمن مواد مخدر از جمله مورفین با افزایش قابل توجه پراکسیداسیون لیپیدی ارتباط است [۱۲].

در مطالعه حاضر در بررسی حافظه کاری با استفاده از آزمون ماز Y شکل نشان داده شد که تعداد کل ورودی‌ها و درصد رفتار تناوبی در گروه‌های تحت درمان با متفورمین بیشتر از سایر گروه‌ها بود که نشان دهنده اثرات محافظت‌کننده سیستم عصبی می‌باشد. متفورمین می‌تواند یادگیری و حافظه فضایی را در مدل‌های حیوانی افزایش دهد. مطالعات قبلی نشان می‌دهند که متفورمین می‌تواند به سرعت از سد مغز خون عبور کرده و اثرات محافظت‌کننده عصبی خود را اعمال نماید. ژو<sup>۵</sup> و همکاران در مطالعه خود به این نکته اشاره کردند که با توجه به اینکه متفورمین به سرعت از سد مغز خون عبور می‌کند، ممکن است مستقیماً به عنوان یک عامل محافظت‌کننده عصبی عمل کند. از طرفی متفورمین می‌تواند پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK)، یک عامل مهم تعادل انرژی را فعال کند [۱۴]. در مطالعه وانگ<sup>۶</sup> و همکاران ثابت شده است که متفورمین برای تقویت نورون زایی و تقویت عملکرد حافظه فضایی، مسیر AMPK-atypical PKC-CBP را فعال می‌کند [۱۵].

در سال‌های اخیر توجه بسیاری به نقش آنتی‌اکسیدانی

<sup>5</sup> Zhou

<sup>6</sup> Wang

## فهرست منابع

- [1] Zhang Y, Loh HH, Law PY, Effect of opioid on adult hippocampal neurogenesis. *Sci World J* 2016 (2016) 2601264.
- [2] Atici S, Cinel L, Cinel I, Doruk N, Aktekin M, Akca A, Camdeviren H, Oral U, Opioid neurotoxicity: comparison of morphine and tramadol in an experimental rat model. *Int J Neurosci* 114 (2004) 1001-1011.
- [3] Eisch AJ, Harburg GC, Opiates, psychostimulants, and adult hippocampal neurogenesis: Insights for addiction and stem cell biology. *Hippocampus* 16 (2006) 271-286.
- [4] Nestler EJ, Lüscher C, The molecular basis of drug addiction: linking epigenetic to synaptic and circuit mechanisms. *Neuron* 102 (2019) 48-59.
- [5] Gundelach T, Rodewald M, Bekes I, Janni W, Hancke K, Metformin for the treatment of polycystic ovary syndrome. *Medizinische Monatsschrift* 39 (2016) 75-78.
- [6] Liu S, Liu Q, Sun S, Hou S, Wang Y, Shen Z, Metformin ameliorates  $\beta$ -cell dysfunction by regulating inflammation production, ion and hormone homeostasis of pancreas in diabetic KKAY mice. *Acta pharmaceutica Sinica* 49 (2014) 1554-1562.
- [7] Zhou C, Sun R, Zhuang S, Sun C, Jiang Y, Cui Y, Li S, Xiao Y, Du Y, Gu H, Liu Q. Metformin prevents cerebellar granule neurons against glutamate-induced neurotoxicity. *Brain Res Bull* 121 (2016) 241-245.
- [8] Fatemi I, Khaluoi A, Kaeidi A, Shamsizadeh A, Heydari S, Protective effect of metformin on D-galactose-induced aging model in mice. *Iran J Basic Med Sci* 21(2018) 19-25.
- [9] Bonnefont-Rousselot D, Raji B, Walrand S, Gardes-Albert M, Jore D, Legrand A, Peynet J, Vasson MP, An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism* 52 (2003) 586-589.
- [10] Deng T, Zheng Y-R, Hou W-W, Yuan Y, Shen Z, Wu X-L, Chen Y, Zhang Li-San, Hu Wei-Wei, Chen Zhong, Pre-stroke metformin treatment is neuroprotective involving AMPK reduction. *Neurochem Res* 41 (2016) 2719-2727.
- [11] Pan Y, Sun X, Jiang L, Hu L, Han Y, Qian C, Song C, Qian Y, Liu W, Metformin reduces morphine tolerance by inhibiting microglial-mediated neuroinflammation. *J Neuroinflamm* 13 (2016) 294.
- [12] Shibani F, Sahamsizadeh A, Fatemi I, Allahtavakoli M, Hasanshahi J, Rahmani M, Azin M, Hassanipour M, Mozafari N, Kaeidi A, Effect of oleuropein on morphine-induced hippocampus neurotoxicity and memory impairments in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* (2019) in press.
- [13] Motaghinejad M, Karimian M, Motaghinejad O, Shabab B, Yazdani I, Fatima S, Protective effects of various dosage of Curcumin against morphine induced apoptosis and oxidative stress in rat isolated hippocampus. *Pharmacol Rep* 67 (2015) 230-235.
- [14] Riley P, Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 65 (1994) 27-33.
- [15] Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, Wu M, Ventre J, Doebber T, Fujii N, Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 108 (2001) 1167-1174.
- [16] Wang J, Gallagher D, DeVito LM, Cancino GI, Tsui D, He L, Keller GM, Frankland PW, Kaplan DR, Miller FD, Metformin activates an atypical PKC-CBP pathway to promote neurogenesis and enhance spatial memory formation. *Cell stem cell* 11 (2012) 23-35.
- [17] Fatemi I, Amirteimoury M, Shamsizadeh A, Kaeidi A, The effect of metformin on morphine analgesic tolerance and dependence in rats. *Res Pharm Sci* 13 (2018) 316-323.
- [18] Fatemi I, Delrobaee F, Bahmani M, Shamsizadeh A, Allahtavakoli M, The effect of the anti-diabetic drug metformin on behavioral manifestations associated with ovariectomy in mice. *Neurosci Lett* 690 (2019) 95-98.
- [19] Mousavi F, Eidi A, Khalili M, Roghani M. Metformin ameliorates learning and memory deficits in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Basic Clin Pathophysiol* 6 (2018) 17-22.
- [20] Oliveira WH, Nunes AK, Franca ME, Santos LA, Los DB, Rocha SW, Barbosa KP, Rodrigues GB, Peixoto CA, Effects of metformin on inflammation and short-term memory in streptozotocin-induced diabetic mice. *Brain Res* 1644 (2016) 149-160.

Research paper

Effect of metformin on morphine induced working memory defects in rats

Morteza Amirteimoury<sup>1</sup>, Iman Fatemi<sup>2</sup>, Jalal Hassanshahi, Ayat Kaeidi<sup>3,4\*</sup>

1. Student Research Committee, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
2. Research Center of Tropical and Infectious Diseases, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. Physiology-Pharmacology Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
4. Department of Physiology and Pharmacology, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Received: 5 September 2019

Accepted: 7 October 2019

Abstract

**Background and aims:** Chronic administration of morphine leads to structural changes in the brain. Some studies have shown the antioxidant and neuroprotective effects of metformin. The aim of this study was to investigate the effect of metformin on working memory in morphine-treated rats.

**Methods:** In this study, 40 male Wistar rats were used. Animals were divided into 5 experimental groups (8 rats in each group): 1- control (animals received saline, orally for 7 days); 2- Metformin (animals received 50 mg/kg metformin, orally for 7 days); 3- Morphine (animals received subcutaneous morphine 10 mg/kg twice a day for 7 days); 4 and 5- Morphine + metformin, animals received morphine and metformin (5 or 50 mg/kg, orally) daily for 7 days. To evaluate the working memory, Y-maze spontaneous alternation test was used. Lipid peroxidation was assessed by measuring level of Malondialdehyde (MDA) in hippocampal tissue of rats.

**Results:** Morphine administration resulted in working memory deficits and increased MDA levels compared to the control group ( $p < 0.001$ ). Metformin alone, at the doses used, had no effect on the working memory but the dose of 50 mg/kg significantly improved working memory ( $p < 0.01$ ) and decreased MDA level ( $p < 0.05$ ) of the morphine-treated rats.

**Conclusion:** Metformin can improve morphine-induced deficits in the working memory of rats.

**Keywords:** Working memory, Y-maze test, Malondialdehyde, Metformin, Morphine

Please cite this article as follows:

Amirteimoury M, Fatemi I, Hassanshahi J, Kaeidi A, Effect of metformin on morphine induced working memory defects in rats. *Iran J Physiol Pharmacol* 3 (2019) 117-123.

\*Corresponding author: a.kaeidi@rums.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-3292-2603)