

## اثر تزریق پیوگلیتازون در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر یادگیری و حافظه فضایی موش صحرائی\*

امیر فرشچی<sup>1,2\*</sup>؛ گلبرگ قیاسی<sup>1,2</sup>؛ غلامرضا بهرامی<sup>3</sup>؛ علی پورمتعب<sup>4</sup>؛ سید ارشاد ندایی<sup>4</sup>

### چکیده

زمینه: پیوگلیتازون از نسل تیاژولیدین دیون‌ها، داروی ضد دیابت جدیدیست که به تازگی در دنیا معرفی شده‌است. تیاژولیدین دیون‌ها از طریق فعال کردن گیرنده‌های هسته‌ای (PPAR- $\gamma$ ) peroxoxisome proliferator activated receptor- $\gamma$  و افزایش حساسیت انسولینی در سطح گیرنده‌های آن، مقاومت انسولینی را بهبود می‌بخشند. انسولین و گیرنده‌های آن در نواحی خاصی از سیستم اعصاب مرکزی یافت شده‌اند که عملکرد آن در این نواحی اختصاصی همان ناحیه بوده و متفاوت از اثر مستقیم آن در تنظیم گلوکز در نواحی محیطی بدن است. نشان داده شده که توزیع انسولین و گیرنده‌های آن در قشر مخ و هیپوکامپ، مرتبط با اعمال شناختی مغز است. در مطالعه حاضر اثر تزریق پیوگلیتازون به‌داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ بر کارایی حیوانات در ماز آبی موریس بررسی شده است.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرائی نژاد N-MRI به‌طور تصادفی به گروه‌های شاهد، دی‌متیل فراماید و گروه‌های پیوگلیتازون (0/01، 0/1، 1، 10، 0/001  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) تقسیم شدند. داروها با حجم 1  $\mu\text{l}/\text{rat}$  به‌مدت یک دقیقه و به‌صورت دوطرفه به درون ناحیه CA1 هیپوکامپ تزریق شدند. سی دقیقه پس از تزریق داخل هیپوکامپی دارو، آزمون ماز آبی موریس انجام شد.

یافته‌ها: پیوگلیتازون اثر وابسته به دوز داشت. یادگیری و حافظه فضایی با تجویز دوز پایین دارو تغییری نکرد. اما با دوزهای متوسط بهبود یافته و با دوز بالا تخریب شد.

نتیجه‌گیری: این نتایج پیشنهاد می‌دهد که ممکن است پیوگلیتازون در دوز 0/001-10  $\mu\text{g}/\text{rat}$  اثر وابسته به دوز بر یادگیری و حافظه فضایی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: پیوگلیتازون، هیپوکامپ، یادگیری و حافظه فضایی، ماز آبی موریس، موش صحرائی

«دریافت: 1388/9/22 پذیرش: 1389/3/18»

1. کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

2. گروه اقتصاد و مدیریت دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

3. گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

4. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

\*عهده‌دار مکاتبات: کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، تلفن: 09188563290

Email: farshchi\_a@razi.tums.ac.ir

\* این مقاله برگرفته از پایان نامه مقطع دکترای حرفه‌ای داروسازی آقای امیر فرشچی در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد.

### مقدمه

تغییرات پاتولوژیک ناشی از این بیماری در عروق، اعصاب مرکزی و محیطی و چشم‌ها روی می‌دهد. آسیب‌های ارگانیک ممکن است منجر به ایجاد پرفشارخونی، نقص کلیوی، از دست دادن بینایی، نوروپاتی محیطی و مرکزی، بیماری عروق محیطی،

دیابت ملیتوس (DM) یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های مزمن است. حدود 250 میلیون نفر در سراسر جهان به این بیماری مبتلا می‌باشند و هر سال حدود 6 میلیون گزارش جدید از این بیماری منتشر می‌گردد (1).

در نواحی قشر مغز و هیپوکامپ توزیع شده‌اند (24). همان‌طور که ذکر گردید پیوگلیتازون اعمال خود را از طریق تأثیر بر یک گیرنده اصلی هسته‌ای به نام  $\gamma$ -PPAR (Peroxisome proliferator activated-Receptor-gamma) (گیرنده گامای فعال شده با پرولیفراتور پراکسی‌زوم) انجام می‌دهد و تحقیقات نشان داده است که تعداد زیادی از گیرنده‌های  $\gamma$ -PPAR در مغز وجود دارند. همچنین نقش این گیرنده‌ها در افزایش یادگیری و حافظه ثابت شده است. این دارو همچنین سبب افزایش حساسیت به گیرنده‌های انسولینی می‌شود. از طرفی نقش انسولین بر افزایش یادگیری و حافظه به اثبات رسیده است. با توجه به موارد ذکر شده و با توجه به نیاز به درک تأثیر تزریق داخل هیپوکامپی پیوگلیتازون و اثرات آن بر یادگیری و حافظه فضایی، این تحقیق به منظور بررسی اثر تزریق پیوگلیتازون در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد N-MRI در محدوده وزنی 250-300 گرم تهیه شده از مؤسسه رازی کرج استفاده شد. حیوانات در قفس‌های 2 تایی با سیکل تاریکی روشنایی 12 ساعته و در دمای 22-24 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. حیوانات به‌استثناء روزهای آزمایش، به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. در هر سری آزمایش، 7 رأس حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

### جراحی و کانول گذاری:

برای تزریق دارو در ناحیه CA1 هیپوکامپ، کانول راهنما (Guide canulla) در داخل جمجمه حیوان قرار داده شد. به این منظور، حیوانات توسط داروی کتامین (30mg/kg) و زایلازین (2/5mg/kg) (داخل صفاقی) بیهوش می‌شدند. سپس در داخل دستگاه استریوتاکس، موی سر آن‌ها چیده می‌شد و کانول‌های راهنما در فاصله

آنفارکتوس میوکارد و بیماری عروق مغزی مانند سکتة شود (2). یک گروه از داروهای ضد دیابتی غیرانسولینی، تiazولیدین دیون‌ها هستند. تiazولیدین دیون‌ها گروه جدیدی از داروهای هستند که با افزایش اعمال متابولیک انسولین تأثیر می‌کنند. دارو این اعمال را از طریق تأثیرات خود بر یک گیرنده اصلی هسته‌ای یعنی  $\gamma$ -PPAR (گیرنده گامای فعال شده با پرولیفراتور پراکسی‌زوم) انجام می‌دهد (5 و 4 و 3). تiazولیدین دیون‌ها مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهند (6). تحقیقات وجود گیرنده‌های  $\gamma$ -PPAR را در سیستم اعصاب مرکزی ثابت کرده است (7). فعال شدن این گیرنده‌ها توسط تiazولیدین دیون‌ها سبب بهبود پارکینسون می‌گردد (9 و 8). پیوگلیتازون به‌عنوان آگونیست گیرنده  $\gamma$ -PPAR سبب کاهش فعال سازی میکروگلیال‌ها و آستروسیت‌ها و بهبود پارکینسون می‌شود (11 و 10). مطالعات ثابت کرده است که موش‌های ترانس ژنیک شده که فاقد گیرنده‌های  $\gamma$ -PPAR بوده‌اند، در فرآیندهای حافظه فضایی در سنجش با ماز آبی موریس نقص داشتند (12). تiazولیدین دیون‌ها مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهند و سبب افزایش حساسیت بافت‌ها نسبت به انسولین می‌شوند (4 و 3). وجود گیرنده‌های انسولین در هیپوکامپ اثبات شده است (13) و (14). هیپوکامپ نقش مهمی را در فعالیت‌های شناختی دارد (15). انسولین در موارد زیادی سبب افزایش فعالیت‌های شناختی در انسان و حیوان سالم (17 و 16)، افراد مسن (19 و 18)، بیماران مبتلا به آلزایمر (20) و نیز در مدل‌های حیوانی مقاوم به انسولین (21) شده است. اطلاعات نشان می‌دهند که فعالیت سیگنال‌های گیرنده‌های انسولینی سبب افزایش فعالیت‌های شناختی و رفتاری می‌شود. میزان متابولیسم انسولین در بهره‌برداری از گلوکز مصرفی می‌تواند نشان دهنده اثرات انسولین بر آسیب‌های شناختی باشد (22). به علاوه فعالیت‌هایی نظیر حافظه که نیازمند گلوکز بالایی می‌باشند می‌توانند بیشتر از سایر فعالیت‌ها تحت تأثیر تغییر در هموستاز انسولین قرار گیرند (23). گیرنده‌های انسولین در مغز، خصوصاً

7- گروه DMF: که دو طرف ناحیه CA1 هیپوکامپ، مجموعاً یک میکرولیتر DMF (حلال پیوگلیتازون) دریافت می‌کردند.

داروی پیوگلیتازون از شرکت داروسازی سامی‌ساز مشهد خریداری شد.

در طی روزهای آزمایش، هر روز 30 دقیقه قبل از شروع آزمایشات در ماز آبی موریس، تزریق از طریق کانول راهنما و توسط سرنگ هاملتون 1 میکرولیتری که متصل به 15 سانتی‌متر لوله پلی‌اتیلن و کانول تزریق بود، انجام می‌شد.

ماز آبی موریس:

ماز آبی موریس از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ با قطر داخلی 140cm و ارتفاع 80cm تشکیل شده که تا ارتفاع 35cm با آب پر می‌شد. یک سکوی کوچک از جنس پلکسی‌گلاس شفاف با قطر 10cm که یک سانتی‌متر زیر آب است در حوضچه قرار می‌گرفت. ماز آبی موریس در سال 1982 توسط موریس و همکارانش ابداع شد و به نام سازنده آن Morris water maze (MWM) نام گرفت. MWM به منظور بررسی توانایی یادگیری، به خاطر آوری و رفتن به مکانی در فضا که موقعیت آن، تنها به وسیله موقعیتش در ارتباط با علائم فضایی بیرون مازی تعیین می‌شود، به کار می‌رود (26) و (27).

در ابتدای آزمایشات، سکو در مرکز ربع دایره شمال غربی حوضچه قرار می‌گیرد و موقعیت سکو در طول 6 روز ابتدای آزمایش ثابت است. هر موش به مدت 7 روز مورد آزمایش قرار می‌گرفت. در 6 روز اول، هر روز یک بلاک (هر بلاک شامل 4 کارآزمایی) انجام می‌شد. در روز هفتم آزمون probe trial برای بررسی دقت و صحت یادگیری اولیه انجام می‌شد. در این مرحله از آزمایش، سکو از حوضچه خارج شده و حیوان طی یک بلاک (شامل 4 کارآزمایی) اما فقط از یکی از نقاط مذکور (که توسط کامپیوتر تعیین می‌شد) در آب رها می‌گردید. در این مرحله، درصد مدت زمان حضور حیوانات در ربع

0/7 میلی‌متری بالای ناحیه CA1 هیپوکامپ با استفاده از سر سرنگ 22 و بر طبق اطلس پاکسینو، در مختصات 3/8 میلی‌متر پایین‌تر از برگما، 2/2+ میلی‌متر از خط وسط و 2/5 میلی‌متر از سطح جمجمه قرار داده می‌شد. اطراف کانول مذکور در سطح جمجمه با استفاده از سیمان دندانپزشکی و پیچ عینک محکم می‌گردید. برای مسدود نمودن ورودی کانول و عدم ایجاد عفونت، سیم stainless steel (فولاد زنگ‌نزن) استفاده شد که درون کانول قرار می‌گرفت. در روز 21-30 آزمایش از کانول تزریق استفاده شد (25).

حیوانات پس از عملیات جراحی و کانول‌گذاری به مدت 7 روز دوره بهبودی را طی می‌کردند. در این دوره مراقبت‌های لازم برای پیشگیری از بروز عفونت در حیوانات به عمل می‌آمد.

حیوانات پس از عملیات کانول‌گذاری و طی دوره بهبودی 7 روزه به طور تصادفی، در 7 گروه تقسیم شدند: 1- گروه کنترل: حیوانات این گروه بدون هیچ‌گونه عمل جراحی فقط به صورت داخل صفاقی تحت تجویز سالی‌ن قرار گرفتند.

2- گروه pio0/001: که در دو طرف ناحیه CA1 هیپوکامپ آن‌ها مجموعاً یک میکرولیتر پیوگلیتازون 0/001µg تزریق می‌شد.

3- گروه pio0/01: که در دو طرف ناحیه CA1

هیپوکامپ آن‌ها مجموعاً یک میکرولیتر پیوگلیتازون 0/01µg تزریق می‌شد.

4- گروه pio0/1: که در دو طرف ناحیه CA1 هیپوکامپ، مجموعاً یک میکرولیتر پیوگلیتازون 0/1µg تزریق می‌شد.

5- گروه pio1: که در دو طرف ناحیه CA1 هیپوکامپ آن‌ها مجموعاً یک میکرولیتر پیوگلیتازون 1µg تزریق می‌شد.

6- گروه pio10: که در دو طرف ناحیه CA1 هیپوکامپ، مجموعاً یک میکرولیتر پیوگلیتازون 10µg تزریق می‌شد.

روزهای آموزش در هر گروه بررسی شد. با توجه به این شاخصه، حیوانات در تمامی گروه‌های مورد مطالعه، موفق به یادگیری محل سکوی پنهان در آب شدند. به طوری که تفاوت بین روزهای اول و ششم آموزش در کلیه گروه‌های مذکور ( $P=0/021$ ) معنادار بود. نتایج همچنین نشان داد که به طور کلی بین میانگین زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان در طی روزهای آموزش، بین گروه‌های آزمایش تفاوت وجود دارد. آنالیز *Post hoc* نشان داد این تفاوت بین گروه‌های کنترل و DMF در هیچ یک از روزهای آزمایش معنادار نیست (نمودار 1).

همچنین این تفاوت بین گروه‌های  $\text{pio}0/1$  و  $\text{pio}10$  در روزهای چهارم، پنجم و ششم معنادار بود ( $p=0/019$ ) (نمودار 1).

در روز ششم آموزش بین گروه‌های DMF و  $\text{pio}10$  تفاوت وجود داشت ( $p=0/0009$ ) و نیز این تفاوت بین گروه  $\text{pio}10$  با تمامی گروه‌های دریافت کننده پیوگلیتازون داخل هیپوکامپی وجود دارد ( $p=0/0003$ ).

دایره هدف (ربع دایره‌ای که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت) به وسیله کامپیوتر ثبت و آنالیز می‌گردید (25).

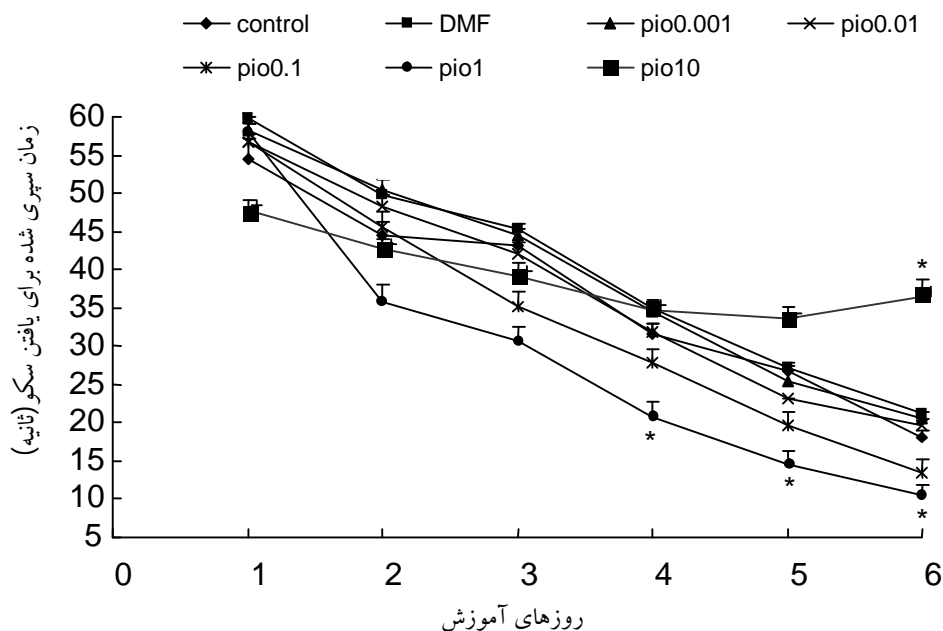
نتایج با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و دو طرفه مورد بررسی قرار گرفت و در مواقعی که اختلاف معنادار بود آزمون Tukey انجام گردید.  $P<0/05$  به عنوان معیار معنادار بودن اختلاف بین گروه‌های مورد آزمایش در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

داده‌ها برای تجزیه و تحلیل آماری به دو بخش تقسیم شد:

الف- فرآیند یادگیری که شامل روزهای اول، دوم، سوم، چهارم، پنجم و ششم آزمایش بود.

ب- فرآیند تثبیت حافظه که مربوط به درصد زمان طی شده در ربع دایره هدف در روز probe trial بود. ابتدا میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو در



نمودار 1- مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو (Escape latency) طی روزهای آموزش در گروه‌های آزمایش.  $p<0/05$  \* نسبت به گروه

. DMF

معنادار وجود داشت (نمودار 2).

در روز ششم آموزش نیز بین گروه‌های DMF و pio10 تفاوت وجود داشت ( $p=0/0005$ ) (نمودار 2).

این تفاوت بین گروه‌های DMF و pio0/001 و گروه‌های DMF و pio0/01 در هیچ‌یک از روزهای آموزش معنادار نبود (نمودار 2).

در مرحله دیگر آزمایش، درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف (ربع دایره‌ای که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت) در مرحله probe trial به‌عنوان شاخصه تثبیت حافظه فضایی در ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که به‌طور کلی تفاوت بین عملکرد گروه‌های مختلف تفاوت وجود دارد. ( $F_{(6,24)}=79/049$  و  $p=0/001$ ) (نمودار 3).

این تفاوت بین گروه‌های کنترل، DMF و pio0/001 و pio0/01 معنادار نبود ( $p=0/07$ ).

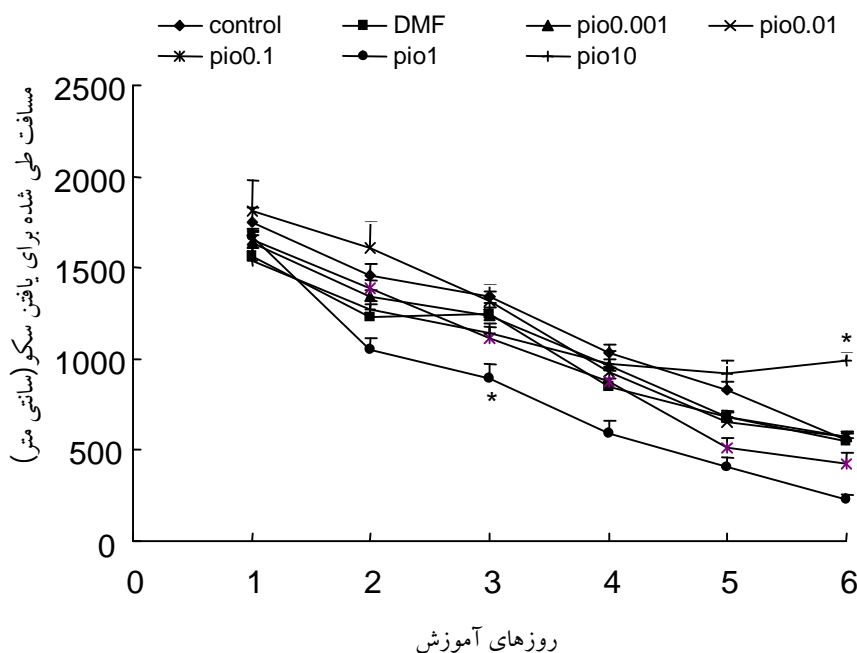
اما این تفاوت از یک طرف بین گروه DMF با pio0/01 و از طرف دیگر بین گروه DMF با pio1 و همچنین DMF با pio10 معنادار بود ( $p=0/016$ ).

در قسمت دیگری از مطالعه، میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان در آب به‌عنوان شاخصه دیگری از فرآیند یادگیری فضایی مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به این شاخصه نیز حیوانات در کلیه گروه‌ها موفق به یادگیری شدند. به طوری که تفاوت بین روزهای اول و ششم آموزش در کلیه گروه‌های مذکور معنادار بود ( $P=0/036$ ) (نمودار 2).

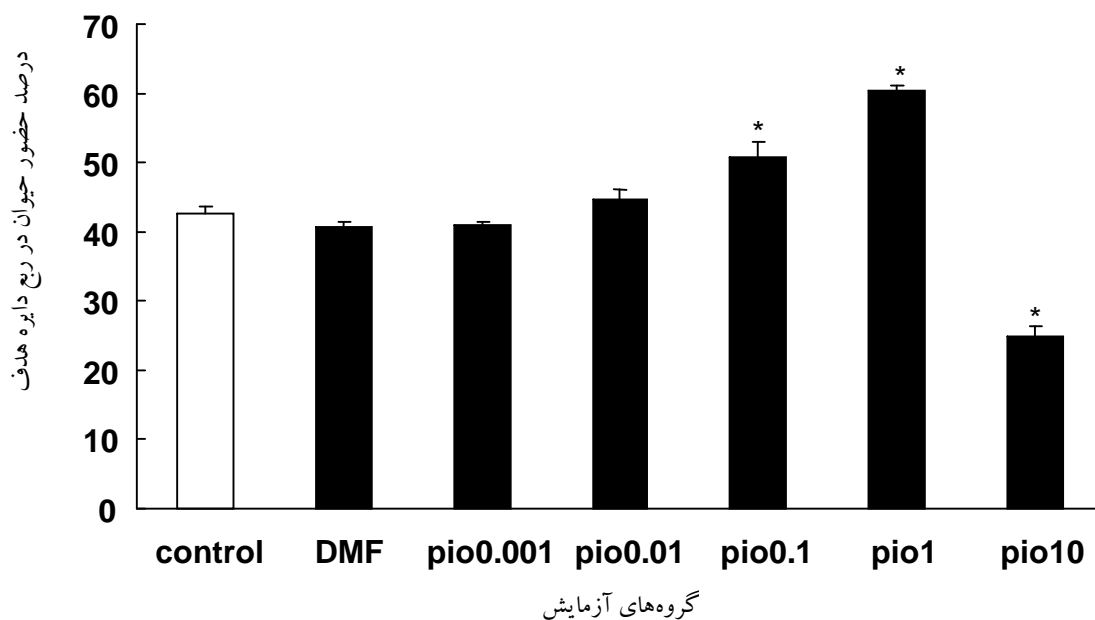
از طرف دیگر آنالیز *post hoc* نشان داد این تفاوت بین گروه‌های کنترل و DMF در هیچ‌یک از روزهای آزمایش معنادار نیست (نمودار 2).

اما این تفاوت در روز دوم بین گروه‌های DMF و pio0/001 و pio1 ( $p=0/033$ ) از یک طرف، و از طرف دیگر بین گروه‌های DMF و pio0/01 ( $P=0/029$ ) معنی دار است (نمودار 2).

در روز سوم بین گروه‌های DMF و pio0/01 ( $p=0/039$ ) و همچنین DMF و pio1 ( $p=0/0007$ ) از یک طرف، و بین گروه‌های DMF و pio0/001 و pio1 و نیز DMF و pio0/01 از طرف دیگر ( $p=0/041$ ) اختلاف



نمودار 2- مقایسه میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو (distance) در روزهای آموزش در گروه‌های آزمایش،  $p < 0/05$  \* نسبت به گروه DMF.



نمودار 3- مقایسه درصد حضور حیوان در ربع دایره هدف در مرحله تثبیت حافظه (probe trial) در گروه‌های آزمایش،  $p < 0/05$  \* نسبت به گروه DMF.

(10 $\mu$ g/Rat) منجر به تخریب فرآیندهای یادگیری و حافظه می‌شود.

در همین راستا یافته‌های ما نشان داد تفاوت مدت زمان لازم و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان، بین گروه‌های کنترل و DMF (دی متیل فرامید) در هیچ‌یک از روزهای آزمایش معنادار نیست. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که تزریق داخل هیپوکامپی DMF به‌عنوان حلال پیوگلیتازون، تأثیری بر یادگیری و حافظه فضایی ندارد.

نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که مدت زمان لازم برای رسیدن به سکوی پنهان (escape latency) و مسافت طی شده بین گروه موش‌هایی که تجویز داخل هیپوکامپی پیوگلیتازون با دوزهای 0/001 $\mu$ g/Rat و 0/01 $\mu$ g/Rat داشتند و گروه DMF در هیچ‌یک از روزهای آزمایش اختلاف معناداری نداشت. این مسأله بیانگر عدم تأثیر پیوگلیتازون با دوزهای مذکور در فرآیند یادگیری می‌باشد. همچنین نتایج حاکی از آن است که میزان حضور حیوانات در ربع دایره هدف در روز هفتم (probe

تفاوت مذکور همچنین بین گروه‌های pio1 و pio0/1 از یک‌طرف و گروه‌های pio0/1 و pio0/01 از طرف دیگر و همچنین بین گروه‌های pio1 و pio10 معنادار بود ( $P=0/022$ ).

از طرف دیگر درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف بین گروه‌های pio0/1 و pio10 و نیز گروه‌های pio0/01 و pio10 دارای اختلاف معنادار بود ( $P=0/028$ ).

### بحث

در تحقیق حاضر نقش تزریق پیوگلیتازون در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی در موش‌های صحرایی نر در ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که تجویز موضعی پیوگلیتازون به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ در دوزهای پائین (0/01 $\mu$ g/Rat و 0/001) بر روی فرآیندهای یادگیری و حافظه فاقد اثر، در دوزهای متوسط (0/1 $\mu$ g/Rat و 1) سبب تقویت یادگیری و حافظه و در دوز بالا

مغز قرار گرفته‌اند، سبب بهبود حافظه فضایی تخریب شده ناشی از دیابت شده است. و نیز پیوگلیتازون، کاهش وزن ایجاد شده در این موش‌ها را بهبود بخشیده است که به دلیل اثرات نوروپروتکتیوی این دارو بوده است (29). پیوگلیتازون سبب کاهش سطوح MDA می‌شود. MDA محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها است و سبب آسیب‌های اکسیداتیو به وسیله رادیکال‌های آزاد می‌گردد (30). پیوگلیتازون همچنین سبب افزایش گلوتاتیون می‌شود. گلوتاتیون یک تری‌پپتید است و به عنوان آنتی‌اکسیدان اندوژن عمل می‌کند (31). تحقیقات نشان می‌دهد که عملکرد آنتی‌اکسیدانی پیوگلیتازون، اثرات سودمندی روی دیابت و حافظه دارد (32). در مطالعه‌ای که Pedersen و همکارانش در سال 2005 انجام دادند، ثابت شد که روزیگلیتازون از دسته تیزولیدین دیونها، قادر است که حافظه و یادگیری را در موش‌های ترانس ژنیک Tg 2576 مبتلا به آلزایمر افزایش دهد (33). Joles و همکارانش پیشنهاد کردند که اثرات روزیگلیتازون بر حافظه و یادگیری ممکن است به علت افزایش گلوکوکورتیکوئیدها باشد. گلوکوکورتیکوئیدها اثرات خود را بر روی گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی و گیرنده‌های مینرالوکورتیکوئیدی که در مغز پراکنده شده‌اند می‌گذارند (34). تیزولیدین دیونها علاوه بر این که به‌عنوان آگونیست گیرنده  $\gamma$ -PPAR عمل می‌کنند، مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهند. اثرات کاهش گلوکز توسط این داروها به دلیل افزایش حساسیت به انسولین است. نتایج حاصل از تزریق مرکزی انسولین در حیوانات سالم با قند خون نرمال، اثرات تقویتی آن را بر انواع مختلف حافظه به اثبات رسانده است (35). مطابق با یافته‌های این مطالعه، مطالعات دیگری انجام شده‌اند که اثرات تسهیلی تزریق داخل بطنی (36) و یا داخل هیپوکامپی (37) انسولین را بر حافظه اجتنایی غیرفعال به اثبات رسانیده‌اند. همچنین در مطالعه دیگر مشخص شد که تزریق داخل هیپوکامپی انسولین، باعث تقویت حافظه فضایی در موش‌های صحرایی می‌شود (38).

نیز در گروه‌های  $\text{pio}0/001$  و  $\text{pio}0/01$  در مقایسه با گروه DMF اختلاف معناداری نداشته که نشان‌دهنده عدم تغییر میزان حافظه تثبیت شده در موش‌هایی است که پیوگلیتازون با دوز پایین دریافت کرده‌اند. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی پیوگلیتازون با دوزهای  $0/1\mu\text{g}/\text{Rat}$  و  $1\mu\text{g}/\text{Rat}$  یادگیری را تقویت می‌کند، به طوری که کاهش معناداری در زمان و مسافت طی شده برای رسیدن سکو در طی روزهای آموزش نسبت به گروه DMF وجود داشت. مقایسه پارامترهای مذکور بین دو گروه  $\text{pio}0/1$  و DMF و نیز بین دو گروه  $\text{pio}1$  و DMF نشان می‌دهد که در اکثر روزهای آموزش، میزان یادگیری توسط تجویز پیوگلیتازون با دوزهای مذکور تقویت شده است. این نتایج بر نقش پیوگلیتازون در ناحیه CA1 هیپوکامپ در فرآیند یادگیری و حافظه فضایی دلالت دارد.

همچنین نتایج حاکی از آن است که میزان درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در روز هفتم (probe trial) در گروه‌های  $\text{pio}0/1$  و  $\text{pio}1$  در مقایسه با گروه DMF افزایش معناداری داشته که نشان دهنده تقویت حافظه در موش‌هایی است که پیوگلیتازون با دوزهای متوسط دریافت کرده‌اند. در تأیید یافته‌های این بخش از تحقیق حاضر، شواهد متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد پیوگلیتازون بر اعمال شناختی حیوان اثر دارد و مطرح‌کننده ارتباط و درگیری پیوگلیتازون در تقویت یادگیری و حافظه می‌باشد. پیوگلیتازون به گیرنده هسته‌ای  $\gamma$ -PPAR (گیرنده گامای فعال شده با پرولیفراتیو پراکسی‌زوم) اتصال می‌یابد (3). تحقیقات نشان داده است که تعداد زیادی از گیرنده‌های  $\gamma$ -PPAR در مغز وجود دارند (28). بیان  $\gamma$ -PPAR در مناطق خاصی از مغز، به‌خصوص کورتکس و هیپوکامپ بالاست. بنابراین نقش  $\gamma$ -PPAR در پیری و تخریب نورون‌ها، یادگیری و حافظه فضایی بسیار مهم است (12). در مطالعه‌ای تجویز خوراکی پیوگلیتازون به‌صورت طولانی مدت در موش‌هایی که تحت تجویز استرپتوزوتوسین داخل بطنی

اثرات مخرب پیوگلیتازون با دوز بالا بر یادگیری و حافظه فضایی، احتمالاً به این علت است که پیوگلیتازون با چنین دوزهایی سبب ایجاد سمیت و در نتیجه تخریب حافظه می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده آن است که تزریق پیوگلیتازون با دوزهای پایین به داخل ناحیه CA1 هیپوکمپ فاقد اثر بر یادگیری و حافظه فضایی، در دوزهای متوسط دارای اثرات تقویت‌کنندگی و در دوزهای بالا موجب تخریب یادگیری و حافظه فضایی می‌شود.

عدم تأثیر تزریق دوزهای پائین پیوگلیتازون به داخل ناحیه CA1 هیپوکمپ بر یادگیری و حافظه فضایی، احتمالاً به این علت است که پیوگلیتازون با چنین دوزهایی قادر به افزایش حساسیت گیرنده‌های انسولین نیست. همچنین اثرات تقویت‌کنندگی یادگیری و حافظه توسط تجویز داخل هیپوکامپی پیوگلیتازون با دوزهای متوسط را می‌توان ناشی از دو عامل دانست:

- 1) تأثیر مستقیم بر گیرنده‌های  $\gamma$ -PPAR در هیپوکامپ، زیرا که نقش این گیرنده‌ها بر یادگیری و حافظه فضایی به اثبات رسیده است.
- 2) افزایش حساسیت به انسولین. نقش انسولین نیز در تقویت یادگیری و حافظه ذکر گردید.

### References

1. Cole AR, Astellb A, Greena C, Sutherland C. Molecular connections between dementia and diabetes. *Neurosci Biobehav Rev* 2007; 31(7): 1046–63.
2. Zhao Y, Ye W, Boye KS, Holcombe JH, Hall JA, Swindle R. Prevalence of other diabetes-associated complications and co morbidities and its impact on health care charges among patients with diabetic neuropathy. *J Diabetes complications* 2010; 24(1): 9-19.
3. Harrison, Principles of Internal Medicine, 17<sup>th</sup>ed. Loscalzo J. New York: McGraw-Hill Professional, 2008: 192-247.
4. Gillies PS, Dunn CJ. Pioglitazone. *Drugs* 2000; 60(1): 333–43.
5. Brett AS. Pioglitazone for nonalcoholic steatohepatitis in nondiabetic patients. *J Wat Gen Med* 2008; 28(2): 73-180.
6. Tan MH. How pioglitazone affects glucose and lipid metabolism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000; 108(2): 224–33.
7. Landreth GE, Heneka MT. Anti-inflammatory actions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22(6): 937-44.
8. Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998; 391(6662): 79-82.
9. Chen H, Jacobs E, Schwarzschild MA, McCullough ML, Calle EE, Thun MJ, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and the risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2005; 58(6): 963-67.
10. Breidert T, Callebert J, Heneka MT, Landreth G, Launay JM, Hirsch EC. Protective action of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist pioglitazone in a mouse model of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2002; 82(3): 615-24.
11. Bright JJ, Natarajan C, Muthian G, Barak Y, Evans RM. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-deficient heterozygous mice develop an exacerbated neural antigen-induced Th1 response and experimental allergic encephalomyelitis. *J Immunol* 2003; 171(11): 5743-50.
12. Cocco S, Diaz G, Stancampiano R, Diana A, Carta M, Curreli R, et al. Vitamin A deficiency produces spatial learning and memory impairment in rats. *Neuroscience* 2002; 115(2): 475–82.
13. Marks JL, Porte D Jr, Stahl WL, Baskin DG: Localization of insulin receptor mRNA in rat brain by in situ hybridization. *Endocrinology* 1991; 127(6): 3234-36.
14. Dore S, Kar S, Rowe W, Quirion R. Distribution and levels of [125I] IGF-I, [125I] IGF-II and [125I] Insulin receptor binding sites in the hippocampus of aged memory-unimpaired and-impaired rats. *Neuroscience* 1997; 80(4): 1033-40.
15. Park CR. Cognitive effects of insulin in the central nervous system. *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25(4): 311-23.
16. Kopf SR, Baratti CM. Memory-improving actions of glucose: involvement of a central cholinergic muscarinic mechanism. *Behav Neur Biol* 1994; 62(3): 237-43.



17. Parkes M, White KG. Glucose attenuation of memory impairments. *Behav Neurosci* 2000; 114(2): 307-19.
18. Park CR, Seely RJ, Craft S, Woods SC. Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task. *Physiol Behav* 2000; 68(4): 509-14.
19. Winocur G, Gagnon S. Glucose treatment attenuates spatial learning and memory deficits of aged rats on tests of hippocampal function. *Neurobiol Aging* 1998; 19(3): 233-41.
20. Messier C, Gagnon M, Knott V. Effect of glucose and peripheral glucose regulation on memory in the elderly. *Neurobiol Aging* 1997; 18(3): 297-304.
21. Manning CA, Ragozzino ME, Gold PE. Glucose enhancement of memory in patients with probable senile dementia of the Alzheimer's type. *Neurobiol Aging* 1993; 14(6): 523-28.
22. Palovcik RA, Phillips MI, Kappy MS, Raizada MK. Insulin inhibits pyramidal neurons in hippocampal slices. *Brain Res* 1984; 309(1): 187-91.
23. Kumari M, Brunner E, Fuhrer R. Minireview: mechanisms by which the metabolic syndrome and diabetes impair memory. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000; 55(5): 228-32.
24. Steen E, Terry BM, Rivera EJ, Cannon JL, Neely TR, Tavares R, et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease is this type 3 diabetes? *J Alzheimer Dis* 2005; 7(1): 63-80.
25. Pourmotabbed A, Nedaei SE, Mehrabinasab E. [Assessment of the role of NMDA receptors located in hippocampal CA1 area on the effects of oral morphine dependency on spatial learning and memory in rat (Persian)]. *Physiol & Pharmacol J* 2006; 2(10): 115-123.
26. Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S. The use of Morris water maze in the study of memory and learning. *Intern. J Neurosci* 1989; 48(1-2): 29-69.
27. Mc Namara RK, Skelton RW. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. *Brain Res Rev* 1993; 18(1): 33-49.
28. Dehmer T, Heneka MT, Sastre M, Dichgans J, Schulz JB. Protection by pioglitazone in the MPTP model of Parkinson's disease correlates with I kappa B alpha induction and block of NF kappa B and iNOS activation. *J Neurochem* 2004; 88(2): 494-501.
29. Pathana R, Viswanada B, Swapnil K, Ramarao P. Chronic administration of pioglitazone attenuates intracerebroventricular streptozotocin induced-memory impairment in rats. *J Life Sciences* 2006; 79(23): 2209-16.
30. Polidori MC, Mecocci P. Plasma susceptibility to free radical-induced antioxidant consumption and lipid peroxidation is increased in very old subjects with Alzheimer disease. *J Alzh Dis* 2002; 4(6): 517-22.
31. Schuessel K, Leutner S, Cairns NJ, Muller WE, Eckert A. Impact of gender on up regulation of antioxidant defense mechanisms in Alzheimer's disease brain. *J Neu Trans* 2004; 111(2): 1167-82.
32. Dobrian AD, Schriver SD, Khraibi AA, Prewitt RL. Pioglitazone prevents hypertension and reduces oxidative stress in diet-induced obesity. *Hypertension* 2004; 43(1): 48-56.
33. Pedersen W, McMillanb P, Kulstadb J, Leverenz J, Craftb S, Haynatzkig GR. Rosiglitazone attenuates learning and memory deficits in Tg2576 Alzheimer mice. *J Exp Neur* 2006; 199(2): 265-73.
34. Joels M, Vreugdenhil E. Corticosteroids in the brain. Cellular and molecular actions. *Mol Neurobiol* 1998; 17(2): 87-108.
35. Park CR Cognitive effects of insulin in the central nervous system. *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25(4): 311-23.
36. Roozendaal B, Phillips RG, Power AE, Brooke SM, Sapolsky RM, McGaugh JL. Memory retrieval impairment induced by hippocampal CA3 lesions is blocked by adrenocortical suppression. *Nat Neurosci* 2001; 4(12): 1169-71.
37. Moosavi M., Naghdi N, Maghsoudi N, Zahedi S. The effect of intrahippocampal insulin microinjection on spatial learning and memory. *J Horm Behav* 2006; 50(5): 748-52.
38. Kern W, Peters A, Fruehwald-Schultes B, Deininger E, Born J, Fehm HL. Improving influence of insulin on cognitive functions in humans. *Neuroendocrinology* 2001; 74(4): 270-80.