

Research Paper:

Effects of Chronic Administration of Pioglitazone on Learning and Memory in Rat Model of Streptozotocin-induced Alzheimer's Disease



Ehsan Aali<sup>1</sup>, \*Mohammad Hossein Esmaeili<sup>2</sup>, Sead Shima Mahmodi<sup>1</sup>, Poriea Solimani<sup>1</sup>

1. Department of Pharmacology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.  
2. Department of Physiology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.



**Citation** Aali E, Esmaeili MH, Mahmodi SSH, Solimani P. Effects of Chronic Administration of Pioglitazone on Learning and Memory in Rat Model of Streptozotocin-induced Alzheimer's Disease. Journal of Inflammatory Diseases. 2020; 24(4):294-307. <https://doi.org/10.32598/JQUMS.24.4.1>

<https://doi.org/10.32598/JQUMS.24.4.1>



Received: 21 Apr 2020

Accepted: 14 Sep 2020

Available Online: 01 Oct 2020

**Keywords:**

Pioglitazone, Memory, Insulin resistance, Streptozotocin

**ABSTRACT**

**Background** Alzheimer's Disease (AD) is a chronic neurodegenerative disease characterized by abnormal protein accumulation, synaptic dysfunction, and cognitive impairment. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) play a crucial role in regulating insulin sensitivity and may serve as potential therapeutic targets for AD. Pioglitazone (PIOG), as a PPAR $\gamma$  agonist, reduces  $\beta$ -amyloid and tau proteins, and inhibits neuroinflammation.

**Objective** This study aims to evaluate the effects of PIOG chronic administration on learning and memory in rat model of Streptozotocin (STZ)-induced AD

**Methods** Forty-two male Wistar rats were divided into two groups: A. Normal rats divided into three subgroups of Control, Dimethyl Sulfoxide (DMSO), and PIOG; and B. AD rats divided into four subgroups of Vehicle, STZ, STZ+DMSO and STZ+PIOG. The last two AD subgroups received 0.2 mL DMSO and PIOG (10 mg/kg per day) for 21 days. For induction of AD, STZ (3 mg/kg, 10  $\mu$ l per injection site) were administered into lateral ventricles. All rates were trained under the Morris water maze task.

**Findings** PIOG impaired the spatial learning and memory in normal rats. Intracerebroventricular injection of STZ significantly increased escape latency and swimming time to find the hidden platform compared to the control group ( $P < 0.05$ ). The amnesic effect of STZ was prevented by PIOG administration such that the escape latency and swimming time to find the hidden platform in the STZ+PIOG group were significantly lower than in the STZ+DMSO group ( $P < 0.05$ ). Conversely, the percentage of time spent and distance swimming in the target quadrant in the probe test in the STZ+ PIOG group rats were significantly higher than those in the STZ + DMSO group.

**Conclusion** PIOG administration impaired spatial learning and memory in normal rats, but improved learning and memory in rats with STZ-induced AD. It can be useful for treatment of cognitive impairment in AD patients.

**Extended Abstract**

**1. Introduction**



Alzheimer's Disease (AD) is the most common neurodegenerative disease character-

ized by progressive memory impairment [1]. Most of recent studies have shown an increased risk of AD in people with diabetes [2]. AD is closely associated with impaired insulin signaling in brain, suggesting it to be a brain-specific form of diabetes [3]. Thus, the most important method of reducing memory impairment in

**\* Corresponding Author:**

Mohammad Hossein Esmaeili

Address: Department of Physiology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

Tel: +98 (28) 33236001

E-Mail: mesmaili@qums.ac.ir

patients with AD is to target insulin signaling pathway. In this regard, it has been demonstrated that antidiabetic drugs such as metformin can be effective in the treatment of memory impairment in AD people. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) is a transcription factor that regulates numerous genes involved in regulation of cell differentiation and metabolism [24]. PPAR- $\gamma$  agonists (thiazolidinediones) are widely used in clinical medicine for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Recently, PPAR- $\gamma$  agonists have shown neuroprotective effects on neurodegenerative diseases. Pioglitazone (PIOG), a PPAR $\gamma$  agonist, has effective insulin-sensitizing, anti-inflammatory, neuroprotective, and anti-excitotoxic properties that make it a good candidate for improving cognition in insulin-resistant individuals. The current study aims to investigate the effects of chronic administration of PIOG on cognitive impairment in rat model of AD.

## 2. Materials and Methods

### Samples

Male Wistar rats (180–200 g) were housed in standard polycarbonate cages. They were given ad libitum access to Food and water. Animals were divided into two groups: Control group received Dimethyl Sulfoxide (DMSO) plus PIOG, and AD group divided into four subgroups of Vehicle (normal saline), STZ, STZ+DMSO and STZ+PIOG. The last two subgroups received DMSO and PIOG (10 mg/kg per day) for 21 days [21].

### Induction of AD

For induction of AD, Streptozotocin (STZ) was administered into lateral ventricles of rats. To do this, rats were first anesthetized with an Intraperitoneal (IP) injection of ketamine (60 mg/kg) and xylazine (8 mg/kg) and placed in a Stoelting stereotaxic instrument. STZ (3 mg/kg, 5  $\mu$ l/injection site) was dissolved in normal saline [9]. STZ or vehicle was administered by Intracerebroventricular (ICV) injection into lateral ventricles: Anteroposterior (AP) = -0.8 mm; Mediolateral (ML) =  $\pm$ 1.5 mm; Dorsoventral (DV) = -3.6 mm.

### Morris Water Maze test

The Morris water maze test was performed as described in Reference [37]. Escape latency was used to show the learning ability. The time spent in the platform quadrant was recorded to indicate the spatial memory.

### Data analysis

The collected data were analyzed by using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test. All data were presented using Standard Error of the Mean (SEM). A  $P < 0.05$  was considered as statistically significance level.

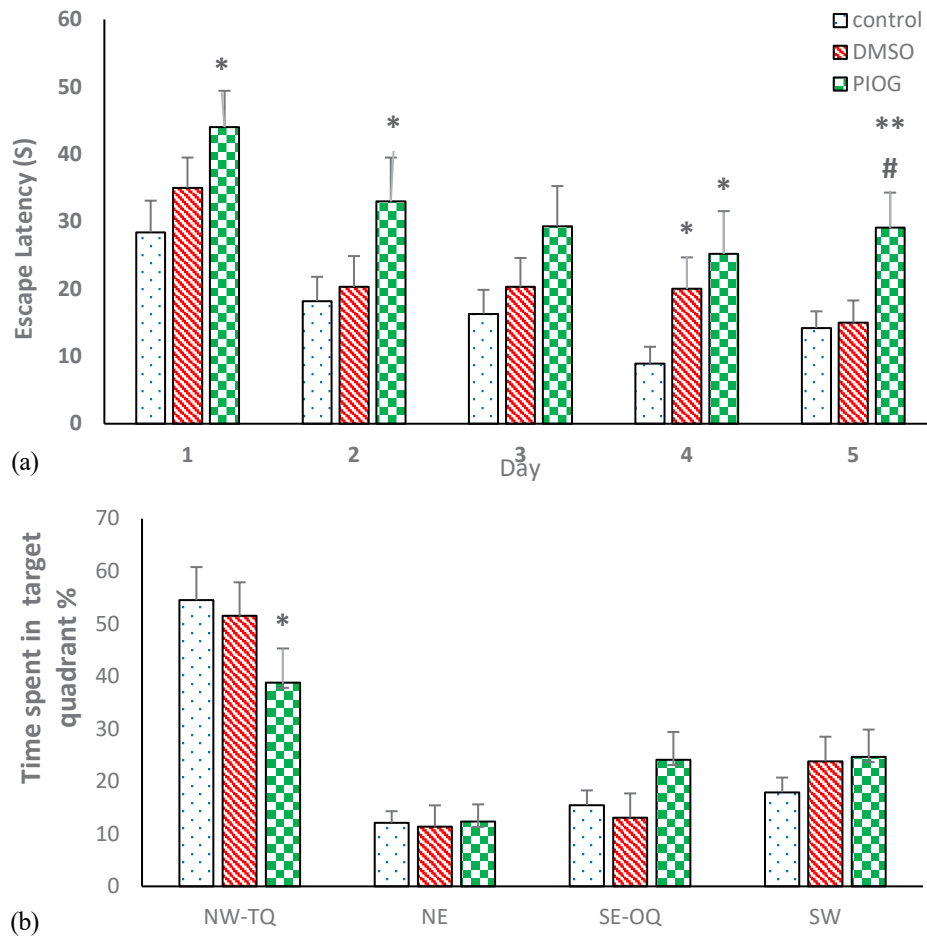
## 3. Results

PIOG caused impairment in spatial learning and memory in normal rats (Figure 1). The ICV injection of STZ significantly increased escape latency and swimming time to find the hidden platform compared to the control group ( $P < 0.05$ ). The amnesic effect of STZ was prevented by treatment with PIOG such that the escape latency and swimming time to find the platform in the STZ+PIOG group were significantly lower than in the STZ+DMSO groups ( $P < 0.05$ ). Conversely, the escape latency and the time spent in the target quadrant under the probe test in the STZ+PIOG group were significantly higher than in the STZ+DMSO group (Figure 2).

## 4. Discussion

The findings showed that PIOG administration in normal rats impaired their spatial learning and memory but improved the learning and memory in rats with STZ-induced AD. STZ caused longer escape latencies in the training trials than the control rat indicating impairment in cognitive function by STZ. The prolongation of escape latency by STZ was significantly and gradually decreased after five testing days by PIOG administration. In addition, PIOG significantly reduced the effect of STZ on swimming time spent to find hidden platform in the target quadrant under the probe test. Therefore, chronic administration of PIOG (10 mg/kg, IP for 21 days) prevented the STZ-induced deficits in memory and cognition. The results suggest that PIOG is useful for treatment of cognitive impairment in AD patients.

The improvement of spatial learning and memory by PIOG administration reported in our present study is in line with the results of previous studies. For example, Pathan et al. (2006) demonstrated that oral administration of PIOG improved cognitive function under step-through passive avoidance task in diabetic rats. Similar results have been reported by Baraka and ElGhotny (2010), where AD was induced by ICV injection of  $\beta$ -amyloid in rats and significant improvement in spatial learning and memory was observed after treatment daily by oral PIOG administration for 3 weeks. Consistent with our results, Allami et al. showed that PIOG improved the memory impaired by scopolamine under



**Figure 1.** Effects of PIOG administration on spatial learning and memory in normal rats under the Morris Water Maze test

Values are presented as+SEM of A: Escape latency; and B: Time spent in the target quadrant;

\*P<0.05; and \*\*P<0.01 compared to control group; #P<0.05 compared to DMSO group; NW-TQ: North West Target Quadrant; SE-OQ: South East Opposite Quadrant; SW: South West; NE: North East.

Y-maze test, whereas it did not affect scopolamine-induced cognitive impairment under the passive avoidance test. This discrepancy can be related to differences in setting, dosage and duration. In contrast to our study, Nicolakakis et al. (2008) reported that PIOG could not improve memory in transgenic mice model of AD [15]. This discrepancy can also be due to shorter duration of treatment with PIOG and/or the use of transgenic mice with two mutations in their study.

## 5. Conclusion

Chronic administration of PIOG (10 mg/kg, IP for 21 days) prevents the STZ-induced memory and learning

impairments. It can be useful for treatment of cognitive impairment in AD patients.

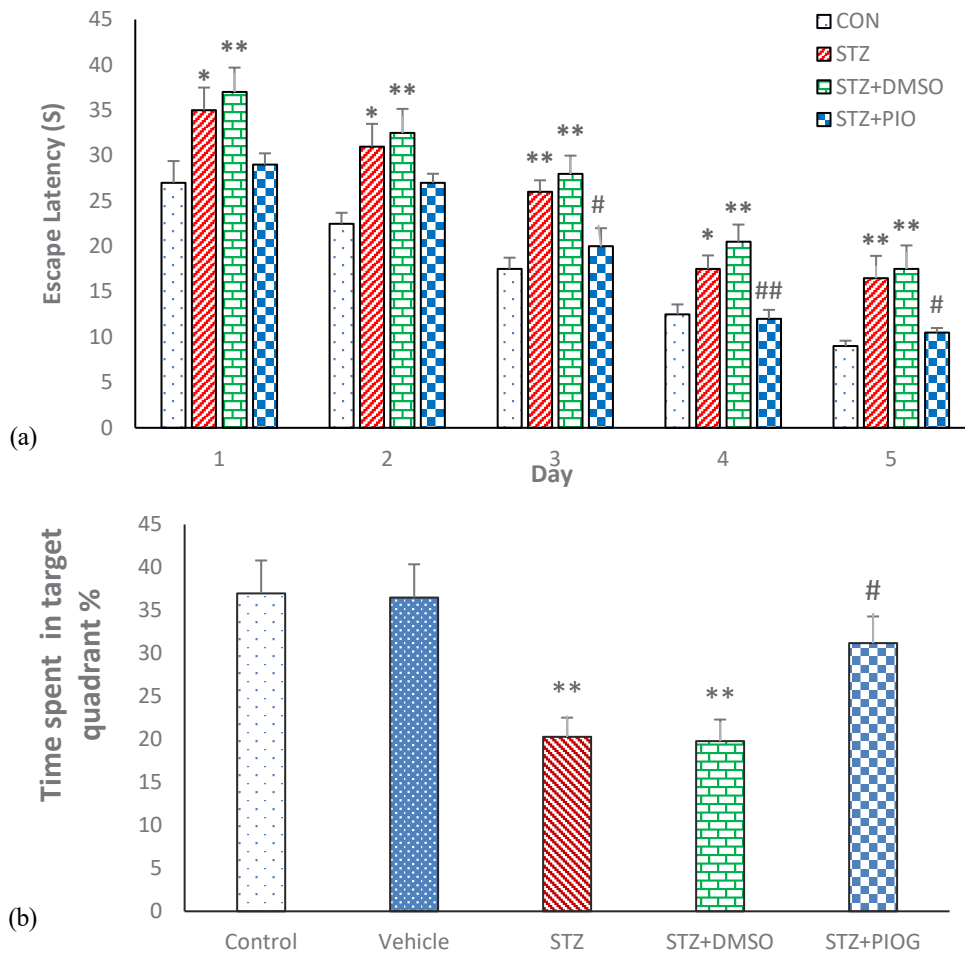
## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

This study approved by the Research Ethics Committee of Qazvin University of Medical Sciences (Code: IR.QUMS.REC. 1398.158).

### Funding

This study was extracted from the MD. thesis of third author, Department of Physiology, School of Medicine,



**Figure 2.** Effects of PIOG administration on spatial learning and memory in rats with sporadic AD under the Morris Water Maze test

Values are presented as+SEM of A: Escape latency; and B: Time spent in the Target Quadrant (TQ);

\*P<0.05; and \*\*P<0.01 compared to control group; #P<0.05; and ##P<0.01 compared to STZ+DMSO group.

Qazvin University of Medical Sciences and this study did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

**Authors' contributions**

Writing: All authors; Resources and validation: Sead Shima Mahmodi and Poriea Solimani; Editing and project administration: Ehsan Aali; Data analysis and methodology: Mohammad Hossein Esmaeili.

**Conflicts of interest**

The authors declared no conflict of interest.

---

This Page Intentionally Left Blank

---

# اثرات تجویز مزمن پیوگلیتازون بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های سالم و آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین

احسان عالی<sup>۱</sup>، \*محمدحسین اسماعیلی<sup>۲</sup>، سیده شیما محمودی<sup>۱</sup>، پوریا سلیمانی<sup>۱</sup>

۱. گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

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

## چکیده

تاریخ دریافت: ۰۲ اردیبهشت ۹۹

تاریخ پذیرش: ۲۴ شهریور ۹۹

تاریخ انتشار: ۱۱ مهر ۱۳۹۹

**منته:** بیماری آلزایمر یک بیماری مزمن تخریبی مغز است که با انباشت پروتئین غیرطبیعی، اختلال عملکرد سیناپسی و اختلال شناختی شناخته می‌شود. آگونیست‌های گیرنده فعال کننده پرولیفراسیون پروکسیزوم آلفا نقش مهمی در تنظیم حساسیت به انسولین دارند و ممکن است به عنوان اهداف بالقوه درمانی برای بیماری آلزایمر استفاده شوند. پیوگلیتازون به عنوان آگونیست این گیرنده‌ها باعث کاهش آمیلوئیدهای بتا و پروتئین‌های تاو و مهار التهاب نورونی می‌شود.

**هدف:** در این مطالعه اثرات پیوگلیتازون بر یادگیری و حافظه موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۴۲ سر موش صحرایی نر به دو گروه سالم شامل DMSO و پیوگلیتازون و آلزایمری شامل حامل، استرپتوزوتوسین و استرپتوزوتوسین به همراه DMSO (۰/۲ میلی‌لیتر) و استرپتوزوتوسین به همراه پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۲۱ روز) تقسیم شدند. برای ایجاد آلزایمر، استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۵ میکرولیتر در محل تزریق) به داخل بطن‌های طرفی مغز تزریق شد. تمام موش‌ها در ماز آبی موریس آموزش داده شدند.

**یافته‌ها:** پیوگلیتازون، یادگیری و حافظه فضایی موش‌های سالم را مختل کرد. نتایج نشان داد که تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین باعث افزایش معنی‌دار تأخیر زمانی و فاصله شنا کردن برای پیدا کردن سکو در گروه آلزایمری در مقایسه با گروه شاهد می‌شود ( $P < 0/05$ ). از اثرات فراموشی استرپتوزوتوسین با تزریق پیوگلیتازون جلوگیری شد، به طوری که تأخیر زمانی و مسافت طی شده برای پیدا کردن سکو در گروه استرپتوزوتوسین+پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به طور معنی‌داری کمتر از گروه استرپتوزوتوسین به همراه DMSO بود ( $P < 0/05$ ). برعکس، درصد زمان سپری شده و مسافت طی شده در ربع هدف در تست پروب در گروه استرپتوزوتوسین به همراه پیوگلیتازون به طور معنی‌داری بیشتر از گروه استرپتوزوتوسین بود.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌ها نشان داد که پیوگلیتازون، یادگیری و حافظه موش‌های نرمال را مختل می‌کند؛ در حالی که یادگیری و حافظه در موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین را بهبود می‌بخشد. نتایج نشان می‌دهد که درمان با پیوگلیتازون برای درمان اختلالات شناختی در بیماران آلزایمری مفید است.

## کلیدواژه‌ها:

پیوگلیتازون، حافظه، مقاومت به انسولین، استرپتوزوتوسین

نام دیابت نوع ۳ را به آن داده‌اند [۱-۳]. مطالعات قبلی نشان داده است که دیابت خطر ابتلا به آلزایمر را افزایش می‌دهد [۱]. بیان تاوهای فسفریله و آمیلوئید بتا در مغز موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۱ و ۲ افزایش می‌یابد [۴-۶]. جالب اینکه یافته‌های اخیر نشان داده‌اند بتا آمیلوئید، می‌تواند حذف گیرنده‌های انسولین از غشای نورون‌ها را تحریک کند و این امر منجر به ایجاد مقاومت بیشتر به انسولین در نورون‌ها می‌شود [۷، ۸]. به تازگی بیان شده است که القای مقاومت به انسولین در مغز به وسیله تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین کافی است تا تعدادی از جنبه‌های مهم بیماری آلزایمر از جمله اختلال در یادگیری و حافظه را در حیوانات ایجاد

## مقدمه

تجمع داخل و خارج سلولی آمیلوئید بتا و پروتئین‌های تاو فوسفریله و التهاب و استرس‌های اکسیداتیو و اختلال در خون‌رسانی به مغز و اختلال در مصرف گلوکز نورون‌های مغز از عوامل ایجادکننده و از ویژگی‌های پاتولوژیک بیماری آلزایمر است. در حال حاضر این موضوع که بیماری آلزایمر با اختلال در سیگنالینگ انسولین و متابولیسم گلوکز در مغز مرتبط است به طور گسترده‌ای به رسمیت شناخته شده است و به همین دلیل پیشنهاد شده است که بیماری آلزایمر فرم خاصی از دیابت است و

\* نویسنده مسئول:

محمدحسین اسماعیلی

نشانی: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی.

تلفن: ۰۱ ۳۳۲۳۶۰۰۱ (۲۸) ۹۸+

رایانامه: mesmaili@qums.ac.ir

در مرحله دوم آزمایش، تأثیر داروی پیوگلیتازون بر یادگیری و حافظه موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله سی سر موش در پنج گروه (شش رأس موش در هر گروه) شامل گروه شاهد، گروه حامل (از محلول نرمال سالین به عنوان حلال استرپتوزوتوسین استفاده شد)، گروه استرپتوزوتوسین<sup>۵</sup>، گروه STZ+DMSO و گروه STZ+پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مورد آزمایش قرار گرفتند. گروه STZ+DMSO و گروه STZ+پیوگلیتازون از هفت روز بعد از تزریق STZ تا روز قبل از آموزش در ماز آبی به مدت ۲۱ روز و روزی یک مرتبه محلول DMSO (۰/۲ میلی‌لیتر) و پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

برای القای آلزایمر، ۵ میکرولیتر از محلول استرپتوزوتوسین با غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به وسیله جراحی استرئوتاکسیک به درون هر کدام از بطن‌های جانبی مغز با این مختصات نسبت به برگما تزریق شد (AP: -۰/۸mm, ML: ±۱/۵mm and DV: -۳/۶). در این جراحی، ابتدا حیوانات با استفاده از کتامین /ازیلازین (۶/۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش و سپس در دستگاه استرئوتاکس قرار داده شدند و پس از فیکس کردن حیوان در این دستگاه، در پشت سر حیوان در خط وسط یک برش ایجاد شد. در گروه حامل، نرمال سالین به جای STZ به درون بطن‌ها تزریق شد.

بعد از تمیز کردن سطح جمجمه و یافتن نقطه برگما به عنوان مرجع، با استفاده از اطلس پاکسینوز به روش استرئوتاکسیک، محل موردنظر تزریق در دو طرف سر نشانه‌گذاری شد. بعد از علامت‌گذاری نقاط هدف روی سطح جمجمه، دو سوراخ به کمک دریل دندان‌پزشکی ایجاد شد و سپس با استفاده از سرنگ هامیلتون محلول استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۰ میکرولیتر در هر طرف) به صورت دوطرفه به درون بطن‌های جانبی به آرامی تزریق شد.

برای ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی حیوان از ماز آبی مورس استفاده شد که یک تانک آب با قطر ۱۸۰ و عمق ۶۰ سانتی‌متر است و تا نیمه از آب پر می‌شود و یک سکوی نجات با قطر ۱۰ سانتی‌متر در یکی از چهار ربع آن، ۱ سانتی‌متر زیر سطح آب قرار می‌گیرد. تانک آب در اتاقی نیمه‌تاریک قرار دارد و سطح آب سیاه‌رنگ دیده می‌شود و سکوی نجات قابل مشاهده نیست. این مجموعه از طریق دوربین ردیابی و اطلاعات مربوط به آزمایش در رایانه ذخیره و آنالیز شد. حداکثر زمانی که حیوان جهت پیدا کردن سکو در اختیار داشت ۶۰ ثانیه بود. در صورتی که حیوان در طول این مدت سکو را پیدا نمی‌کرد با دست به سمت سکو هدایت می‌شد و به مدت ۱۰ ثانیه روی آن قرار می‌گرفت، تا موقعیت سکو نسبت به علائم نصب‌شده در آزمایشگاه را به خاطر بسپارد. در صورتی که حیوان سکو را پیدا می‌کرد هم‌زمان با قرارگیری حیوان روی سکو، عمل ضبط دوربین متوقف می‌شد [۲۱-۱۸]. این آزمایش به مدت پنج روز و هر روز

5. Streptozocin (STZ)

کند [۹]. بنابراین بهبود خون‌رسانی به مغز و کاهش مقاومت نوروون نسبت به انسولین می‌تواند راهبردهای آینده درمان بیماری آلزایمر باشد. شاید تیزولیدین دیون‌ها شامل پیوگلیتازون<sup>۲</sup> و روزیگلیتازون<sup>۳</sup> به عنوان آگونیست‌های گیرنده گامای فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم<sup>۴</sup> که به طور وسیعی در درمان دیابت نوع ۲ مصرف می‌شوند به عنوان ترکیبات مؤثر بر اختلالات عروقی و دیابت از این نظر کاندیدای مناسبی باشند [۱۰].

نقش PPAR- $\gamma$  تنظیم بیان ژن‌هایی است که منجر به تنظیم گلوکز و آدیپوژن می‌شوند [۱۰]. پیوگلیتازون از طریق تحریک تمایز آدیپوسیت‌ها باعث کاهش چربی اضافه سایر بافت‌ها می‌شود و در نتیجه مقاومت به انسولین کاهش می‌یابد [۱۱]. بر اساس تعدادی از مطالعات، تیزولیدین دیون‌ها در کاهش میزان التهاب و سطح پپتید استرپتوزوتوسین و افزایش جریان خون مغز نیز نقش دارند [۱۳، ۱۲]. گروه دیگری از محققین با مطالعه روی حیوانات نشان داده‌اند که تیزولیدین دیون‌ها در کاهش سایتوکاین‌های التهابی، استرس اکسیداتیو، رسوب استرپتوزوتوسین، فعال‌سازی گلیال و فسفریلاسیون تائو مؤثر هستند [۱۶-۱۴]. همچنین به نظر می‌رسد پیوگلیتازون از طریق تنظیم هموستاز کلسیم در هیپوکامپ، اثرات محافظتی بر نورون‌ها دارد [۱۷].

با این اوصاف تیزولیدین دیون‌ها می‌توانند در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو مثل آلزایمر سودمند باشند. از آنجایی که در مدل‌های مختلف ایجاد آلزایمر تجربی، اثرات متفاوتی از تیزولیدین دیون‌ها گزارش شده است، در این تحقیق بر آن شدیم تا اثرات تزریق مزمن (۲۱ روزه) پیوگلیتازون به عنوان داروی کاهش‌دهنده مقاومت به انسولین را بر یادگیری و حافظه موش‌های معمولی و موش‌های آلزایمری شده مدل استرپتوزوتوسین که در آن مستقیماً سیگنالی‌نگ سلولی انسولین نورون‌ها دچار مشکل می‌شود، با استفاده از آزمون ماز آبی مورس مورد ارزیابی قرار دهیم.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی، در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قرظین در سال ۱۳۹۸ در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول آزمایش، تأثیر داروی پیوگلیتازون بر یادگیری و حافظه موش‌های نرمال (سالم) مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله هجده سر موش بزرگ صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در سه گروه (شش رأس موش در هر گروه) شامل گروه‌های شاهد، حامل (از محلول DMSO به عنوان حلال پیوگلیتازون استفاده شد) و پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) مورد آزمایش قرار گرفتند.

1. Thiazolidinediones
2. Pioglitazone
3. Rosiglitazone
4. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  (PPARs)

در تجزیه و تحلیل داده‌ها برای بررسی تفاوت‌های درون گروهی و بین گروهی (تأخیر زمانی در ماز آبی: گروه‌های مورد آزمایش به عنوان فاکتور بین گروهی و روزهای آموزش به عنوان فاکتور درون گروهی) از آزمون آنوای یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معناداری برای تمامی نمونه‌ها  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. در نهایت نمودار حاصل از نتایج توسط نرم‌افزار اکسل ترسیم شد.

### یافته‌ها

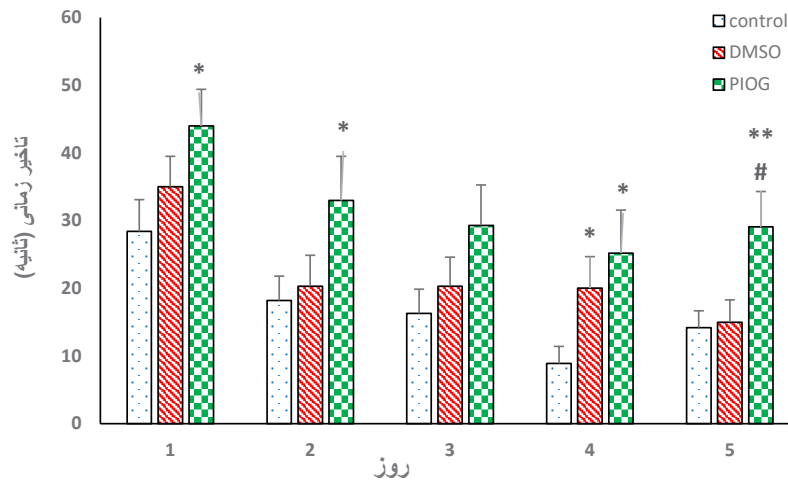
#### اثر پیوگلیتازون بر یادگیری و حافظه موش‌های سالم

همان‌طور که در شکل شماره ۱ مشاهده می‌شود، تزریق مزمن پیوگلیتازون، یادگیری فضایی موش‌های سالم را مختل کرد؛ به گونه‌ای که موش‌های گروه پیوگلیتازون با صرف زمان بیشتری

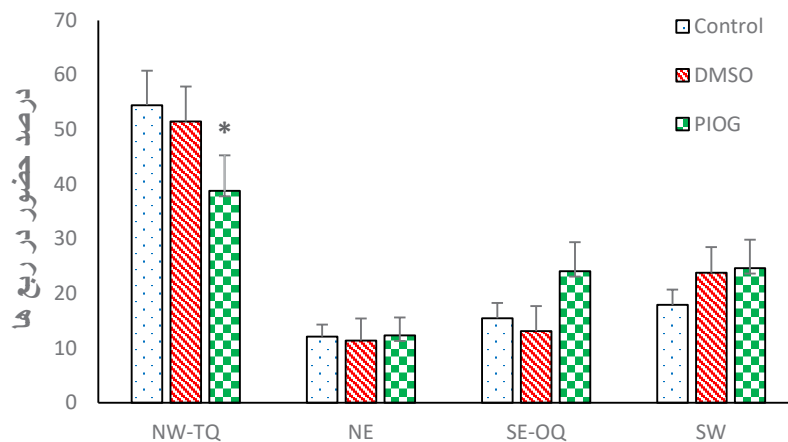
چهار بار با فاصله ۱۰ دقیقه تکرار شد. در این مراحل روند یادگیری حیوان بر اساس مدت‌زمان سپری‌شده و مسافت طی‌شده تا رسیدن به سکو سنجیده شد. مدت‌زمان طی‌شده تا رسیدن به سکو معیار و میزان سنجش یادگیری بود.

در روز ششم پس از اتمام آزمایشات یک مرحله پروب انجام شد؛ بدین صورت که پس از برداشتن سکو (Probe) حیوان از یکی از جهات درون ماز رها شد. این آزمایش بر این اساس است که با فرض اینکه حیوان محل سکو را به خاطر سپرده باید بیشترین زمان و مسافت را در ربع محل قرارگیری سکو بماند. این مرحله برای هر حیوان یکبار تکرار شد که مدت آن ۶۰ ثانیه بود. زمان سپری‌شده در ربع هدف (محل قرارگیری سکو) و تعداد دفعات عبور از روی محل سکو معیار و میزان سنجش حافظه بود.

داده‌های حاصل از مطالعه وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ شدند.

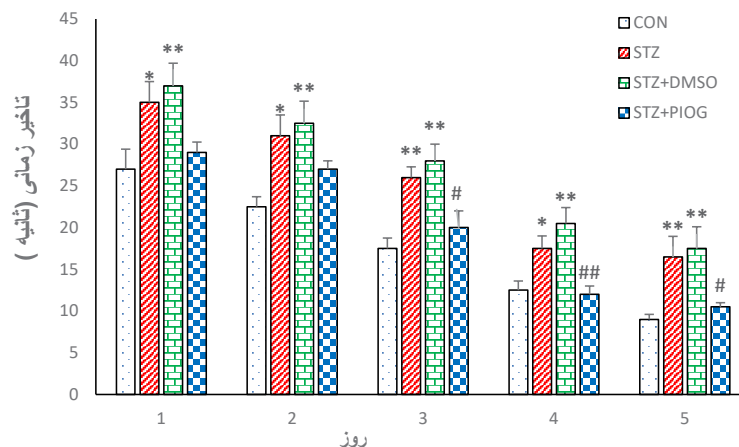


شکل ۱. اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون بر تأخیر زمانی رسیدن به سکو موش‌های سالم در پنج روز ( $P < 0.001$ ) هر ستون نشان‌دهنده میزان میانگین  $\pm$  انحراف معیار است.  $P < 0.05$ \* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد؛  $P < 0.05$ # اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه DMSO است.



شکل ۲. اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون بر درصد زمان حضور در ربع‌های چهارگانه ماز آبی در موش‌های سالم هر ستون نشان‌دهنده میزان میانگین  $\pm$  انحراف معیار است.  $P < 0.05$ \* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد.





مجله  
بیماری‌های تنه‌ای

شکل ۳. اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، درون صفاقی) بر تأخیر زمانی رسیدن به سکو در طول پنج روز آموزش موش‌های آزمایشی مدل استرپتوزوتوسین

هر ستون نشان‌دهنده میزان میانگین ± انحراف معیار است.  
\* $P < 0.05$  و \*\* $P < 0.01$  اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد؛  
# $P < 0.05$  و ## $P < 0.01$  اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه STZ.

تزریق STZ به درون بطن‌های جانبی مغز موش‌ها به منظور ایجاد آلزایمر تجربی باعث اختلال در یادگیری فضایی موش‌ها و افزایش معنی‌دار تأخیر زمانی<sup>۸</sup> در پیدا کردن سکوی نجات از روز اول تا روز پنجم آموزش (روز اول  $P = 0.034$ ، روز دوم  $P = 0.015$ ، روز سوم  $P = 0.003$ ، روز چهارم  $P = 0.014$ ، روز پنجم  $P = 0.001$ ) در مقایسه با گروه شاهد و حامل شد. تزریق داخل صفاقی محلول DMSO به عنوان حلال داروی پیوگلیتازون به موش‌های آلزایمری (گروه STZ+DMSO) باعث ایجاد اختلال بیشتر در یادگیری فضایی موش‌های آلزایمری شد؛ به گونه‌ای که اختلاف گروه STZ+DMSO و گروه شاهد در پارامتر تأخیر زمانی در تمام پنج روز آموزش معنی‌دار بود ( $P < 0.001$ ).

همچنین نتایج نشان داد که درمان موش‌های آلزایمری با داروی پیوگلیتازون (گروه STZ+PIOG) باعث کاهش معنی‌دار تأخیر زمانی در روزهای سوم ( $P = 0.012$ )، چهارم ( $P = 0.007$ ) و پنجم ( $P = 0.011$ ) آموزش در مقایسه با موش‌های گروه STZ شد. به این ترتیب تزریق مزمن پیوگلیتازون به موش‌های آلزایمری زمان صرف‌شده برای پیدا کردن سکوی نجات را کاهش داد؛ به نحوی که بین گروه STZ+PIOG و گروه STZ در سه روز آخر، اختلاف معنی‌دار بود ( $P = 0.012$ )، ( $P = 0.007$ )، ( $P = 0.011$ )، ولی بین گروه شاهد و گروه STZ+PIOG اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون بر حافظه فضایی موش‌های آلزایمری

همان‌طور که در شکل‌های شماره ۴ و ۵ نشان داده شده است

نسبت به گروه شاهد توانستند سکوی نجات را پیدا کنند و این مسئله باعث اختلاف نتایج گروه پیوگلیتازون در مقایسه با گروه شاهد شد. اختلاف گروه پیوگلیتازون با گروه شاهد در چهار روز از پنج روز آموزش معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

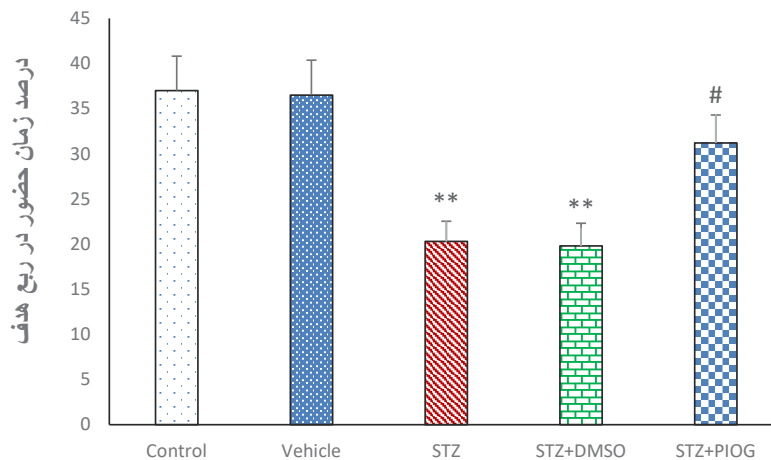
شکل شماره ۲ نیز اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، درون صفاقی) را بر درصد زمان حضور موش‌ها در ربع‌های چهارگانه ماز آبی (شمال غربی، شمال شرقی، جنوب شرقی، جنوب غربی) نشان می‌دهد. طبق این شکل، درصد زمان حضور در ربع هدف شمال غربی<sup>۹</sup> در گروه پیوگلیتازون کمتر از گروه شاهد بود و اختلاف این دو گروه معنی‌دار بود و برعکس، درصد زمان حضور در ربع مخالف ربع هدف جنوب شرقی<sup>۷</sup> در گروه پیوگلیتازون بیشتر از گروه شاهد بود که نشان می‌دهد موش‌های گروه پیوگلیتازون مکان فضایی سکو را به‌خوبی موش‌های گروه شاهد به یاد نمی‌آورند.

اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون بر یادگیری فضایی موش‌های آلزایمری

در شکل شماره ۳، اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون بر تأخیر زمانی رسیدن به سکو در طی پنج روز آموزش موش‌های آلزایمری مشاهده می‌شود. طبق نتایج، روند یادگیری گروه شاهد و گروه حامل مشابه بود و تزریق سالین به عنوان حلال STZ به درون بطن‌های مغز در گروه حامل تأثیری بر یادگیری فضایی نداشت و اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نشد؛ به همین خاطر برای واضح‌تر شدن نمودار اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون بر یادگیری فضایی موش‌های آلزایمری، نتایج گروه حامل نشان داده نشد و در ادامه، نتایج بقیه گروه‌ها با گروه شاهد مقایسه شد (شکل شماره ۳).

8. Escape latency

6. North West-Target Quadrant (NW-TQ)  
7. South East Opposite Quadrant (SE-OQ)



شکل ۴. اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون بر درصد زمان حضور در ربع هدف (ناحیه سکوی) در تست پروب هر ستون نشان‌دهنده میزان میانگین  $\pm$  انحراف معیار است.  $P < 0/01$  اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد؛  $P < 0/05$  اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه STZ.

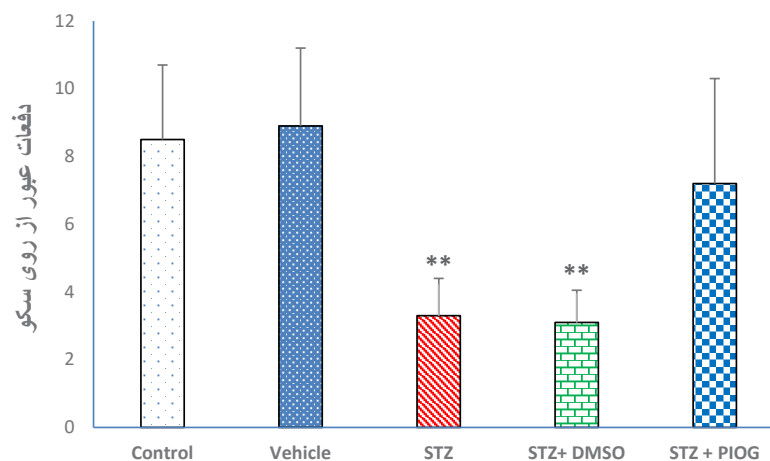
مجله  
بیماری‌های التهابی

مزمن پیوگلیتازون به موش‌های آلزایمری منجر به افزایش درصد زمان حضور در ربع هدف نسبت به گروه STZ+DMSO و STZ شده است ( $P < 0/05$ ).

در شکل شماره ۵ اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، درون صفاقی) بر تعداد دفعات عبور از روی سکوی در تست پروب موش‌های آلزایمری مشاهده می‌شود. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تزریق STZ باعث کاهش تعداد دفعات عبور از روی سکوی در موش‌های گروه STZ و STZ+DMSO شده است ( $P < 0/01$ ). تزریق مزمن پیوگلیتازون به موش‌های آلزایمری منجر به افزایش تعداد دفعات عبور از روی سکوی موش‌های آلزایمری نسبت به گروه STZ و STZ+DMSO شده است؛ هرچند این افزایش معنی‌دار نبود.

تزریق STZ به درون بدن‌های جانبی مغز موش‌ها به منظور ایجاد آلزایمر تجربی باعث اختلال در حافظه فضایی موش‌ها و کاهش معنی‌دار زمان صرف‌شده در ربع هدف سکوی و تعداد دفعات عبور از روی محل سکوی در مقایسه با گروه شاهد شد ( $P = 0/001$ ). از طرف دیگر، درمان موش‌های آلزایمری با داروی پیوگلیتازون (گروه STZ+PIOG) باعث افزایش قابل توجهی در زمان صرف‌شده در ربع سکوی ( $P = 0/033$ ) و تعداد دفعات عبور از روی محل سکوی ( $P = 0/002$ ) در مقایسه با گروه STZ شد.

در شکل شماره ۴ اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، درون صفاقی) بر درصد زمان حضور در ربع هدف (ناحیه سکوی) در تست پروب موش‌های آلزایمری مشاهده می‌شود. طبق شکل، تزریق STZ باعث کاهش درصد زمان حضور در ربع هدف در موش‌های گروه STZ و STZ+DMSO شده است ( $P < 0/01$ ). تزریق



شکل ۵. اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون بر تعداد دفعات عبور از روی سکوی در تست پروب هر ستون نشان‌دهنده میزان میانگین  $\pm$  انحراف معیار است.  $P < 0/01$  اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد.

مجله  
بیماری‌های التهابی

آزایمر و پارکینسون سودمند باشند. در تأیید این پیش‌بینی، اسکرین‌های ۱ و همکارانش نشان دادند درمان طولانی‌مدت با روزیگلیتازون از طریق کاهش آمیلوئید بتا و پروتئین‌های تائو باعث بهبود حافظه فضایی و عملکرد ذهنی موش‌های آزایمری مدل ترنس ژنیک می‌شود [۱۸]. هرچند مطالعات ۱۱ و همکارانش نشان داد که تجویز خوراکی ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پیوگلیتازون برای مدت چهار ماه به موش‌های مسن ترنس ژنیک باعث کاهش معنی‌دار پلاک‌های آمیلوئیدی نمی‌شود، ولی باعث کاهش سطح آمیلوئیدهای بتای محلول می‌شود [۱۹]. همچنین گوپتا<sup>۱۲</sup> و همکارانش نشان دادند که درمان طولانی‌مدت با پیوگلیتازون باعث بهبود حافظه فضایی موش‌های آزایمری مدل اسکوپولامین می‌شود [۲۰]. هرچند در مطالعه مشابهی که توسط گلدماچر<sup>۱۳</sup> و همکارانش روی پیوگلیتازون انجام شد، چنین افزایش معنی‌داری در حافظه دیده نشد [۲۱].

اولین مکانیسم مطرح در این مورد، بهبود سیگنالینگ سلولی انسولین (کاهش مقاومت به انسولین) نورون‌های مغز بر اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون به موش‌های آزایمری است؛ چراکه محققین قبلی نشان داده‌اند که استفاده از پیوگلیتازون در موش‌های دیابتی نوع ۲ از طریق کاهش مقاومت به انسولین می‌تواند باعث بهبود یادگیری و حافظه شود [۳۰]. این مکانیسم با نتایج مطالعاتی که نشان می‌دهد پیوگلیتازون می‌تواند اختلال متابولیسم قشر مغز و مخچه در بیماران آزایمری را اصلاح کند، مطابقت دارد [۳۱].

دومین مکانیسم، کاهش سطح آمیلوئیدهای بتا در مغز موش‌های آزایمری بر اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون است؛ چراکه محققین قبلی نشان داده‌اند که استفاده از پیوگلیتازون در موش‌های دیابتی با اصلاح هایپرگلیسمی و مهار آنزیم شکننده پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا<sup>۱۴</sup>، و در نتیجه کاهش سطح آمیلوئیدهای بتا در مغز می‌تواند باعث بهبود یادگیری و حافظه شود [۳۲]. پژوهشگران نشان داده‌اند که استفاده از پیوگلیتازون در موش‌های دیابتی باعث کاهش سطح آمیلوئیدهای بتا و پروتئین تائو در کورتکس و هیپوکامپ می‌شود [۳۰، ۳۳]. همچنین نتایج مطالعه‌ای نشان داد که داروی پیوگلیتازون، تولید و رسوب پلاک‌های آمیلوئیدی و نقص سیناپس را در موش‌های آزایمر کاهش می‌دهد [۳۴، ۳۵].

مکانیسم سوم در این مورد، کاهش میزان التهاب و کاهش استرس‌های اکسیداتیو مغز بر اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون به موش‌های آزایمری است؛ چراکه مطالعات قبلی نشان داده‌اند که استفاده از داروی پیوگلیتازون از طریق کاهش سطح سایتوکاین‌ها در هیپوکامپ باعث بهبود حافظه موش‌های آزایمری می‌شود [۳۶]. همچنین در این رابطه محققین نشان داده‌اند که استفاده

سرعت شنای موش‌های گروه‌های مورد آزمایش نیز مقایسه شد. نتایج نشان داد که تزریق پیوگلیتازون و STZ تأثیری بر سرعت شنای موش‌های گروه‌های مختلف نداشت و از این نظر تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد.

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مرحله اول مطالعه ما نشان داد که تزریق مزمن پیوگلیتازون، یادگیری و حافظه فضایی موش‌های سالم را مختل می‌کند. در مرحله دوم آزایمری کردن موش‌ها با تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین باعث اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود (علائم شبیه آزایمر) و تزریق داخل صفاقی داروی ضد دیابتی پیوگلیتازون اختلال ایجاد شده در یادگیری و حافظه موش‌های آزایمری را بهبود می‌بخشد.

سؤال مهم این است که پیوگلیتازون از طریق کدام مکانیسم یادگیری و حافظه فضایی موش‌های سالم را مختل کرده است؟ مهم‌ترین مکانیسم کاهش سطح انسولین خون و مغز موش‌های سالم بر اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون است. در این ارتباط اریک<sup>۹</sup> و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که پیوگلیتازون سطح انسولین خون را در موش‌های سالم جوان و پیر کاهش می‌دهد و به موازات کاهش سطح انسولین، سیگنالینگ گیرنده انسولین در بافت‌های محیطی و مغز کاهش می‌یابد [۲۲]. به طور مشابه محققین نشان داده‌اند که حساسیت به انسولین در مغز بیماران آزایمری و مدل‌های حیوانی آزایمر کاهش می‌یابد [۲۳، ۲۴]. می‌توان پیش‌بینی کرد که کاهش سطح انسولین خون و مغز اثری مشابه کاهش حساسیت مغز نسبت به انسولین در نورون‌های مغز خواهد داشت. اگر کاهش حساسیت مغز نسبت به انسولین می‌تواند موجب فراموشی و اختلال در حافظه و یادگیری افراد آزایمری شود کاهش سطح انسولین خون نیز می‌تواند به طور مشابه باعث اختلال در حافظه و یادگیری شود [۲۵-۲۹].

نتایج مرحله دوم مطالعه حاضر نشان داد که آزایمری کردن موش‌ها با تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین احتمالاً از طریق اختلال در سیگنالینگ سلولی انسولین یا ایجاد استرس اکسیداتیو باعث مختل شدن یادگیری و حافظه شد (علائم شبیه آزایمر) و تزریق داخل صفاقی داروی ضد دیابتی پیوگلیتازون، اختلال ایجاد شده در یادگیری و حافظه موش‌های آزایمری را بهبود بخشید. سؤال مهم این است که پیوگلیتازون از طریق کدام مکانیسم اختلال یادگیری و حافظه فضایی موش‌های آزایمری را بهبود بخشیده است؟

تیازولیدین دیون‌ها احتمالاً از طریق کاهش مقاومت به انسولین، کاهش میزان التهاب، کاهش استرس‌های اکسیداتیو و افزایش جریان خون مغز می‌توانند در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو

10. Escribano  
11. Yan  
12. Gupta  
13. Geldmacher  
14.  $\beta$ -amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1)

9. Eric

از داروی پیوگلیتازون از طریق کاهش استرس اکسیداتیو باعث بهبود متابولیسم گلوکز در مغز می‌شود [۳۷].

مکانیسم چهارم، کاهش سطح گلوکوکورتیکوئید مغز بر اثر تزریق مزمن پیوگلیتازون به موش‌های آلزایمری است. در این رابطه محققین نشان داده‌اند که استرس‌های مزمن باعث افزایش سطح گلوکوکورتیکوئید بدن و به دنبال آن افزایش مقاومت به انسولین و افزایش سطح بتا آمیلوئید مغز می‌شوند [۳۸، ۳۹]. افزایش سطح گلوکوکورتیکوئید مغز باعث اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود؛ بنابراین هر عاملی که بتواند سطح گلوکوکورتیکوئید مغز را کاهش دهد، به بهبود اختلال در یادگیری و حافظه کمک خواهد کرد. شاید تزریق مزمن پیوگلیتازون به موش‌های آلزایمری از طریق کاهش سطح گلوکوکورتیکوئید مغز باعث بهبود اختلال یادگیری و حافظه موش‌های آلزایمری شده است؛ چراکه پدرسین<sup>۱۵</sup> و همکارانش نشان دادند که تزریق رزیگلیتازون<sup>۱۶</sup> به موش‌های ترنس ژنیک مقاوم به انسولین باعث کاهش سطح گلوکوکورتیکوئید، مقاومت به انسولین و سطح بتا آمیلوئید ۴۲ مغز می‌شود [۴۰]. خواص متعدد تیاژولیدون دیون‌ها از جمله ویژگی ضدالتهابی آن‌ها و اصلاح متابولیسم گلوکز در توضیح اینکه چگونه این داروها می‌توانند باعث بهبود اختلالات شناختی در بیماران آلزایمری و مدل‌های حیوانی تراریخته آلزایمری و دیابتی شوند، کمک می‌کند [۳۱، ۳۶].

نتایج مرحله دوم ما با نتایج محققینی که نشان داده‌اند تیاژولیدون دیون‌ها در موش‌های دیابتی و آلزایمری باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شوند هم‌خوانی دارد [۳۰]، ولی با نتایج کار محققینی که نشان داده‌اند مصرف داروی ضددیابت متفورمین در بیماران دیابتی نه تنها حافظه را بهبود نمی‌بخشد، بلکه از طریق کاهش سطح ویتامین B12 بدن و افزایش آمیلوئید بتا و کاهش تقویت طولانی مدت<sup>۱۷</sup> در برش‌های هیپوکامپ باعث ایجاد اختلالات شناختی بیشتر می‌شود، مغایرت دارد [۲۶-۲۹]. در این رابطه محققین نشان داده‌اند که متفورمین ممکن است خطر ابتلا به آلزایمر را افزایش دهد و به بقای سلول‌های عصبی آسیب برساند. برای مثال، محققان متوجه شدند که درمان با متفورمین در یک موش ترانس ژنیک آلزایمری باعث افزایش بیان بتا سکر تاژ-۱ می‌شود که با افزایش تولید آمیلوئید بتا و تشکیل پلاک‌های کوچک همراه است [۲۷].

در سال ۲۰۱۵ پیکون<sup>۱۸</sup> و همکاران نشان دادند که غلظت بالای متفورمین باعث افزایش بیان ژن پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید در محیط کشت نورونی می‌شود. علاوه بر این، آن‌ها نشان دادند که این دارو باعث افزایش بیان ژن پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید در مغز موش هم می‌شود [۲۵، ۴۱]. یکی از جدیدترین مطالعات نشان

داده است که متفورمین، پردازش و تجمع آمیلوئید بتا، عمدتاً در ناحیه قشر مغز را افزایش می‌دهد [۲۷]. دانشمندان تأیید کرده‌اند که متفورمین مستقیماً با پپتید آمیلوئید بتا تعامل<sup>۱۹</sup> می‌کند و باعث تجمع آن می‌شود که نهایتاً منجر به نورودژنراسیون در مغز موش می‌شود. این نتایج با نتایج مطالعه ما مغایرت دارد که دلیل آن می‌تواند تفاوت در دارو و یا گونه حیوانات مورد استفاده یا روش اجرای آزمایش (روش آلزایمری کردن موش‌ها) باشد.

به طور کلی تزریق مزمن پیوگلیتازون به موش‌های سالم احتمالاً از طریق کاهش سطح انسولین خون و مغز، یادگیری و حافظه فضایی آن‌ها را مختل کرده است، در حالی که درمان موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین با پیوگلیتازون احتمالاً از طریق کاهش مقاومت به انسولین، کاهش التهاب مغزی یا کاهش سطح آمیلوئید بتای مغز باعث بهبود اختلال یادگیری و حافظه آن‌ها شده است. نتایج نشان می‌دهد که درمان با پیوگلیتازون برای درمان اختلالات شناختی در بیماران آلزایمری مفید است.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد اخلاق IR.QUMS.REC.1398.158 در دانشگاه علوم پزشکی قزوین ثبت شده است.

#### حامی مالی

این مقاله حاصل پایان‌نامه نویسنده سوم، دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین است و کلیه مخارج این مقاله بر عهده نویسندگان مقاله بوده است و هیچ کمک خاصی از سازمان‌های تأمین‌کننده در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

#### مشارکت نویسندگان

نگارش: همه نویسندگان؛ منابع و اعتبارسنجی: سیده شیما محمودی و پوریا سلیمانی؛ روش‌شناسی و تحلیل داده‌ها: احسان عالی؛ ویراستاری و مدیریت پروژه: محمدحسین اسماعیلی.

#### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

15. Pedersen  
16. Rosiglitazone  
17. Long Term Potentiation (LTP)  
18. Picone

19. Interacts

## References

- [1] Zhang J, Chen C, Hua Sh, Liao H, Wang M, Xiong Y, et al. An updated meta-analysis of cohort studies: Diabetes and risk of Alzheimer's disease. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017; 124:41-7. [DOI:10.1016/j.diabres.2016.10.024] [PMID]
- [2] Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: A systematic review. *Lancet Neurol.* 2006; 5(1):64-74. [DOI:10.1016/S1474-4422(05)70284-2] [PMID]
- [3] Accardi G, Caruso C, Colonna-Romano G, Camarda C, Monastero R, Candore G. Can Alzheimer disease be a form of type 3 diabetes? *Rejuvenation Res.* 2012; 15(2):217-21. [DOI:10.1089/rej.2011.1289] [PMID]
- [4] 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 Alzheimers Dis.* 2005; 7(1):63-80. [DOI:10.3233/JAD-2005-7107] [PMID]
- [5] El-Mir MY, Deteil D, R-Villanueva G, Delgado-Esteban M, Guigas B, Attia S, et al. Neuroprotective role of antidiabetic drug metformin against apoptotic cell death in primary cortical neurons. *J Mol Neurosci.* 2008; 34(1):77-87. [DOI:10.1007/s12031-007-9002-1] [PMID]
- [6] 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. [DOI:10.1016/j.stem.2012.03.016] [PMID]
- [7] Gupta A, Bisht B, Dey CS. Peripheral insulin-sensitizer drug metformin ameliorates neuronal insulin resistance and Alzheimer's-like changes. *Neuropharmacology.* 2011; 60(6):910-20. [DOI:10.1016/j.neuropharm.2011.01.033] [PMID]
- [8] Zhao WQ, De Felice FG, Fernandez S, Chen H, Lambert MP, Quon MJ, et al. Amyloid beta oligomers induce impairment of neuronal insulin receptors. *FASEB J.* 2009; 22(1):246-60. [DOI:10.1096/fj.06-7703com] [PMID]
- [9] Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, de la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: Relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2006; 9(1):13-33. [DOI:10.3233/JAD-2006-9102] [PMID]
- [10] Searcy JL, Phelps JT, Pancani T, Kadish I, Popovic J, Anderson KL, et al. Long-term pioglitazone treatment improves learning and attenuates pathological markers in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2012; 30(4):943-61. [DOI:10.3233/JAD-2012-111661] [PMID] [PMCID]
- [11] Lamontagne J, Jalbert-Arsenault É, Pepin É, Peyot ML, Ruderman NB, Nolan CJ, et al. Pioglitazone acutely reduces energy metabolism and insulin secretion in rats. *Diabetes.* 2013; 62(6):2122-9. [DOI:10.2337/db12-0428] [PMID] [PMCID]
- [12] Sato T, Hanyu H, Hirao K, Kanetaka H, Sakurai H, Iwamoto T. Efficacy of PPAR-γ agonist pioglitazone in mild Alzheimer disease. *Neurobiol Aging.* 2011; 32(9):1626-33. [DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2009.10.009] [PMID]
- [13] Esposito K, Ciotola M, Merante D, Giugliano D. Rosiglitazone cools down inflammation in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26(6):1413-4. [DOI:10.1161/01.ATV.0000223874.94624.11] [PMID]
- [14] 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. [DOI:10.1016/S0197-4580(01)00296-2] [PMID]
- [15] Nicolakakis N, Aboukassim T, Ongali B, Lecrux C, Fernandes P, Rosa-Neto P, et al. Complete rescue of cerebrovascular function in aged Alzheimer's disease transgenic mice by antioxidants and pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor γ agonist. *J Neurosci.* 2008; 28(37):9287-96. [DOI:10.1523/JNEUROSCI.3348-08.2008] [PMID] [PMCID]
- [16] To AWM, Ribe EM, Chuang TT, Schroeder JE, Lovestone S. The ε3 and ε4 alleles of human APOE differentially affect tau phosphorylation in hyperinsulinemic and pioglitazone treated mice. *PLoS One.* 2011; 6(2):e16991. [DOI:10.1371/journal.pone.0016991] [PMID] [PMCID]
- [17] Pancani T, Phelps JT, Searcy JL, Kilgore MW, Chen KC, Porter NM, et al. Distinct modulation of voltage-gated and ligand-gated Ca<sup>2+</sup> currents by PPAR-γ agonists in cultured hippocampal neurons. *J Neurochem.* 2009; 109(6):1800-11. [DOI:10.1111/j.1471-4159.2009.06107.x] [PMID] [PMCID]
- [18] Escribano L, Simón AM, Gimeno E, Cuadrado-Tejedor M, López de Maturana R, García-Osta A, et al. Rosiglitazone rescues memory impairment in Alzheimer's transgenic mice: Mechanisms involving a reduced amyloid and tau pathology. *Neuropsychopharmacology.* 2010; 35(7):1593-604. [DOI:10.1038/npp.2010.32] [PMID] [PMCID]
- [19] Yan Q, Zhang J, Liu H, Babu-Khan S, Vassar R, Biere AL, et al. Anti-inflammatory drug therapy alters beta-amyloid processing and deposition in an animal model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2003; 23(20):7504-9. [DOI:10.1523/JNEUROSCI.23-20-07504.2003] [PMID] [PMCID]
- [20] Gupta R, Gupta LK. Improvement in long term and visuo-spatial memory following chronic pioglitazone in mouse model of Alzheimer's disease. *Pharmacol Biochem Behav.* 2012; 102(2):184-90. [DOI:10.1016/j.pbb.2012.03.028] [PMID]
- [21] Esmaeili MH, Enayati M, Khabbaz Abkenar F, Ebrahimian F, Salari AA. Glibenclamide mitigates cognitive impairment and hippocampal neuroinflammation in rats with type 2 diabetes and sporadic Alzheimer-like disease. *Behav Brain Res.* 2020; 379:112359. [DOI:10.1016/j.bbr.2019.112359] [PMID]
- [22] Blalock EM, Phelps JT, Pancani T, Searcy JL, Anderson KL, Gant JC, et al. Effects of long-term pioglitazone treatment on peripheral and central markers of aging. *PLoS One.* 2010; 5(4):e10405. [DOI:10.1371/journal.pone.0010405] [PMID] [PMCID]
- [23] de la Monte SM, Tong M, Lester-Coll N, Plater M Jr, Wands JR. Therapeutic rescue of neurodegeneration in experimental type 3 diabetes: Relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2006; 10(1):89-109. [DOI:10.3233/JAD-2006-10113] [PMID]

- [24] Szapary PO, Bloedon LT, Samaha FF, Duffy D, Wolfe ML, Soffer D, et al. Effects of pioglitazone on lipoproteins, inflammatory markers, and adipokines in nondiabetic patients with metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26(1):182-8. [DOI:10.1161/01.ATV.0000195790.24531.4f] [PMID]
- [25] Picone P, Vilasi S, Librizzi F, Contardi M, Nuzzo D, Caruana L, et al. Biological and biophysics aspects of metformin-induced effects: cortex mitochondrial dysfunction and promotion of toxic amyloid pre-fibrillar aggregates. *Aging (Albany NY).* 2016; 8(8):1718-34. [DOI:10.18632/aging.101004] [PMID] [PMCID]
- [26] Moore EM, Mander AG, Ames D, Kotowicz MA, Carne RP, Brodaty H, et al. Increased risk of cognitive impairment in patients with diabetes is associated with metformin. *Diabetes Care.* 2013; 36(10):2981-7. [DOI:10.2337/dc13-0229] [PMID] [PMCID]
- [27] Chen Y, Zhou K, Wang R, Liu Y, Kwak YD, Ma T, et al. Antidiabetic drug metformin (GlucophageR) increases biogenesis of Alzheimer's amyloid peptides via up-regulating BACE1 transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106(10):3907-12. [DOI:10.1073/pnas.0807991106] [PMID] [PMCID]
- [28] Potter WB, O'Riordan KJ, Barnett D, Osting SMK, Wagoner M, Burger C, et al. Metabolic regulation of neuronal plasticity by the energy sensor AMPK. *PLoS One.* 2010; 5(2):e8996. [DOI:10.1371/journal.pone.0008996] [PMID] [PMCID]
- [29] Imfeld P, Bodmer M, Jick SS, Meier CR. Metformin, other anti-diabetic drugs, and risk of Alzheimer's disease: A population-based case-control study. *J Am Geriatr Soc.* 2012; 60(5):916-21. [DOI:10.1111/j.1532-5415.2012.03916.x] [PMID]
- [30] Liu LP, Yan TH, Jiang LY, Hu W, Hu M, Wang C, et al. Pioglitazone ameliorates memory deficits in streptozotocin-induced diabetic mice by reducing brain  $\beta$ -amyloid through PPAR $\gamma$  activation. *Acta Pharmacol Sin.* 2013; 34(4):455-63. [DOI:10.1038/aps.2013.11] [PMID] [PMCID]
- [31] Chang KL, Wong LR, Pee HN, Yang Sh, Ho PCL. Reverting metabolic dysfunction in cortex and cerebellum of APP/PS1 mice, a model for Alzheimer's disease by pioglitazone, a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR $\gamma$ ) agonist. *Mol Neurobiol.* 2019; 56(11):7267-83. [DOI:10.1007/s12035-019-1586-2] [PMID]
- [32] Jiang LY, Tang SS, Wang XY, Liu LP, Long Y, Hu M, et al. PPAR $\gamma$  agonist pioglitazone reverses memory impairment and biochemical changes in a mouse model of type 2 diabetes mellitus. *CNS Neurosci Ther.* 2012; 18(8):659-66. [DOI:10.1111/j.1755-5949.2012.00341.x] [PMID] [PMCID]
- [33] Hu SH, Jiang T, Yang SS, Yang Y. Pioglitazone ameliorates intracerebral insulin resistance and tau-protein hyperphosphorylation in rats with type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2013; 121(4):220-4. [DOI:10.1055/s-0032-1333277] [PMID]
- [34] Fernandez-Martos CM, Atkinson RA, Chuah MI, King AE, Vickers JC. Combination treatment with leptin and pioglitazone in a mouse model of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y).* 2016; 3(1):92-106. [DOI:10.1016/j.trci.2016.11.002] [PMID] [PMCID]
- [35] Yang S, Chen Z, Cao M, Li R, Wang Z, Zhang M. Pioglitazone ameliorates A $\beta$ 42 deposition in rats with diet-induced insulin resistance associated with AKT/GSK3 $\beta$  activation. *Mol Med Rep.* 2017; 15(5):2588-94. [DOI:10.3892/mmr.2017.6342] [PMID] [PMCID]
- [36] Beheshti F, Hosseini M, Hashemzahi M, Soukhtanloo M, Khazaei M, Shafei MN. The effects of PPAR- $\gamma$  agonist pioglitazone on hippocampal cytokines, brain-derived neurotrophic factor, memory impairment, and oxidative stress status in lipopolysaccharide-treated rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2019; 22(8):940-8. [DOI:10.22038/ijbms.2019.36165.8616] [PMID] [PMCID]
- [37] Pathan AR, Viswanad B, Sonkusare SK, Ramarao P. Chronic administration of pioglitazone attenuates intracerebroventricular streptozotocin induced-memory impairment in rats. *Life Sci.* 2006; 79(23):2209-16. [DOI:10.1016/j.lfs.2006.07.018] [PMID]
- [38] Mohammad Rezaei R, Pourali-Malabad R, Shiravi A, Rashidy-Pour A, Vafaei AA. Interaction between 5-HT $_6$  receptors and acute stress and corticosterone on fear memory reconsolidation in mice. *Koomesh.* 2020; 22(1):185-91. [DOI:10.29252/koomesh.22.1.185]
- [39] Choobdar S, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Sedaghat K. Protective role of vitamin-D on chronic stress induced-learning and memory deficits in rats. *Koomesh.* 2019; 21(4):708-15. [In Persian] <http://koomeshjournal.semums.ac.ir/article-1-5220-en.html>
- [40] Pedersen WA, Flynn ER. Insulin resistance contributes to aberrant stress responses in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 2004; 17(3):500-6. [DOI:10.1016/j.nbd.2004.08.003] [PMID]
- [41] Picone P, Nuzzo D, Caruana L, Messina E, Barea A, Vasto S, et al. Metformin increases APP expression and processing via oxidative stress, mitochondrial dysfunction and NF- $\kappa$ B activation: Use of insulin to attenuate metformin's effects. *Biochim Biophys Acta.* 2015; 1853(5):1046-59. [DOI:10.1016/j.bbamcr.2015.01.017] [PMID]