

اثر دیابت بر کاتالپسی ناشی از رزپین در موشهای صحرایی نر مدل پارکینسون

سابقه و هدف: بیماری پارکینسون به دلیل تحلیل پیش رونده سلولهای دوپامینرژیک جسم سیاه در عقده های قاعده ای مغز به وجود می آید که در نهایت منجر به بروز اختلالات حرکتی مشخصی از جمله ناپایداری وضعیتی، کندی حرکت، لرزش درحالت استراحت، سفتی، و سختی حرکات بدن می شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر دیابت بر کاتالپسی ناشی از رزپین در موشهای صحرایی نر مدل پارکینسون می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه از ۲۴ سر رت ویستار در ۴ گروه (کنترل، دیابت، پارکینسون و دیابت + پارکینسون) استفاده شد.

دیابت بوسیله تزریق تک دز استرپتوزوتوسین (60 mg/kg) ایجاد شد. بیماری پارکینسون بوسیله تزریق رزپین (1 mg/kg) ایجاد گردید و برای سنجش کاتالپسی از تست میله استفاده شد.

برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS با کارگیری آنالیز واریانس یکطرفه در سطح معناداری $p \leq 0.05$ استفاده شد.

یافته ها: میزان کاتالپسی در گروه دیابتی مبتلا به پارکینسون بطور معنی داری بیشتر بود.

نتیجه گیری: دیابت می تواند بر شدت کاتالپسی ناشی از رزپین در رت های مدل پارکینسون موثر باشد.

کلمات کلیدی: دیابت، بیماری پارکینسون، رزپین، تست میله، موش صحرایی

The effect of diabetes on reserpine-induced catalepsy in rats model of Parkinson's disease

Aim and Background: Parkinson's disease is a neurodegenerative disease in the central nervous system, characterized by dopaminergic neuronal loss in the nigrostriatal system with clinical symptoms such as resting tremor, rigidity, akinesia, and disturbances of postural reflex.

The aim of this study was to investigate the effect of diabetes on reserpine-induced catalepsy in male rats model of Parkinson's disease

Material and Methods: In this study, 24 Wistar rats were divided in 4 groups (control, diabetes, Parkinson's disease, Parkinson's disease + diabetes). Each of animals in the diabetic groups was given a single injection of streptozotocin (60 mg/kg, i.p). Parkinson's disease was induced by administration of Reserpine (1 mg/kg, i.p) The bar- test was used to measure cataleptic symptoms. Catalepsy was evaluated by placing both forepaws of the rat on a horizontal bar . SPSS software was used for analyzing data by using of analysis of variance that it was performed at a significance level of $p < 0.05$.

Results: catalepsy was significantly higher in the group of diabetes + Parkinson's disease.

Conclusion: Diabetes can be effective on reserpine-induced catalepsy in male rats model of Parkinson's disease.

Keywords: diabetes; Parkinson's disease; reserpine; bar-test; rat

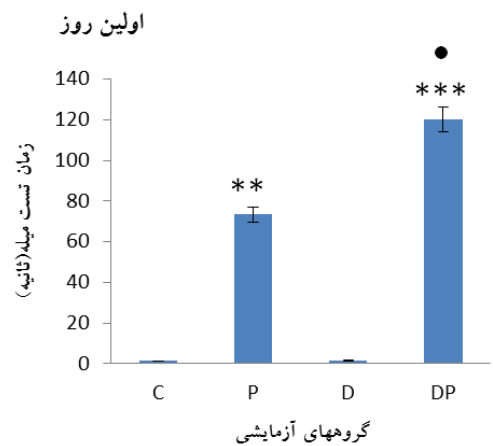
در چندین اپیدمیولوژیکی به ارتباط قوی بین دیابت و بیماری‌ها ی تخریب عصبی اشاره شده است. بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس دارای افزایش ریسک ۶۵ درصدی پیشرفت بیماری آلزایمر (۱) و افزایش ریسک ۳۶ درصدی پیشرفت بیماری پارکینسون (PD) (۲, ۳) هستند و اغلب نشانه‌های پارکینسونی را نشان می‌دهند (۴). از لحاظ کلینیکی PD و دیابت شباهتی به هم ندارند. PD بوسیله از دست دادن نورون‌های دوپامینرژیک در ناحیه مترام جسم سیاه (SNpc) مغز و حضور اجسام داخل سیتوپلاسمی لوی، که متشکل از تجمع رشته‌های آلفا-سینوکلئین است، مشخص می‌شود. اولین نشانه کلینیکی بیماران PD، سفتی عضلانی، کندی حرکت، لرزش در حالت استراحت و اختلالات وضعیتی است. اکثر نشانه‌های این بیماری بوسیله کمبود دوپامین در جسم مخطط به دلیل دژنراسیون در SNpc ایجاد می‌شود (۵). دیابت یک اختلال متابولیک می‌باشد که بوسیله هیپرگلیسمی بدنبال نقص در ترشح انسولین، مقاومت به عمل انسولین یا هر دو مشخص می‌گردد (۶). دیابت نوع اول نتیجه تخریب اتوایمون سلول‌های بتای پانکراس است که منجر به کمبود انسولین می‌گردد. دیابت نوع دوم بوسیله مقاومت به انسولین و یا کاهش نسبی میزان انسولین خون مشخص می‌شود. دیابت ملیتوس در درازمدت با عوارض چشمی، کلیوی، قلبی و عصبی همراه می‌باشد (۷, ۸). مطالعات اخیر مسیره‌های اختلال تنظیمی مشترکی که PD، دیابت و التهاب را

مرتبط می‌سازد، شناسایی کرده است (۹). برخی فاکتورهای ژنتیکی و محیطی مشابه که افراد را در خطر ابتلا به PD قرار می‌دهند، در خطر ابتلا به دیابت نیز قرار می‌دهند. هم‌چنین بیماران دیابتی و پارکینسونی اختلالهای مشترکی در مسیره‌های مکانیستیک معمول دارند. برای مثال ۶۰ درصد بیماران پارکینسونی دارای اختلال سیگنالینگ انسولین هستند و اختلال تحمل گلوکز دارند (۱۰). علاوه بر این به نظر می‌رسد شروع دیابت قبل از شروع PD، شدت علائم بیماران PD را افزایش می‌دهد (۱۱). ارتباط بین PD و دیابت بطور کامل روشن نشده است با این حال برخی مطالعات اپیدمیولوژیک پیشنهاد می‌کنند که دیابت عامل خطری برای بیماری پارکینسون است. هدف از این مطالعه بررسی اثر دیابت بر کاتالپسی ناشی از رزپین در موشهای صحرایی نر مدل پارکینسون می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش: در این مطالعه از ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی 200 ± 40 گرم تهیه شده از انیستیتو پاستور کرج استفاده شد. حیوانات در محدوده دمایی ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۴۵ درصد و در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. **گروه‌های آزمایشی:** موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل (C) ۲- گروه دیابت (D) ۳- گروه پارکینسون (P) ۴- گروه پارکینسون و دیابت (DP). **القای**

بیماری دیابت: ابتدا موش ها به مدت ۲۴ ساعت آز آب و غذا محروم گردیدند. سپس دیابت بوسیله تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین (Sigma St. Louis, MO, USA) حل شده در نرمال سالین استریل (۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی) ایجاد شد (۱۲). طبق این روش ۴۸ ساعت پس از تزریق، دیابت در موش های صحرایی ایجاد شده و جهت تایید دیابت، ۷۲ ساعت پس از تزریق **القای بیماری پارکینسون:** بیماری پارکینسون بوسیله تزریق رزوپین (۱۳) (sigma-Aldrich, India) با دوز ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن طی دو روز متوالی بصورت داخل صفاقی ایجاد شد. جهت آماده سازی رزوپین به ترتیب ذیل عمل شد. ابتدا مقدار مورد نظر از رزوپین در ۰/۰۳ میلی لیتر محلول اسید استیک گلاسیال حل و سپس محلول با استفاده از آب مقطر به حجم رسانده شد. **آزمون کاتالپسی:** برای ارزیابی کاتالپسی از تست میله (bar-test) استفاده شد. وسیله مورد استفاده در این آزمون، یک بارفیکس دارای یک سکوی چوبی بود. ارتفاع بارفیکس از سکوی ۹ سانتی متر و قطر میله ۰,۹ سانتی متر بود. برای انجام آزمایش حیوان بر روی سکوی قرار داده شد و دو دست آن به آرامی روی میله بارفیکس قرار



قرار می‌گرفت ثبت گردید (۱۳).
آنالیز آماری داده ها: داده های

با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست در دم حیوانات (که ۲۴ ساعت قبل، به منظور اندازه گیری قند خون ناشتا از آب و غذا محروم شده بودند)، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و توسط دستگاه گلوکومتر قرائت گردید و قند خون بالای mg/dl ۲۵۰ بعنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۷).

بدست آمده در نمونه‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده ها با آزمون واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) آنالیز شده و سطح معناداری بین گروهها با استفاده از تست توکی (TUKEY) و با در نظر گرفتن $p < 0.05$ مشخص شدند.

یافته ها

در پژوهش حاضر تجویز رزوپین در گروه‌های پارکینسونی باعث افزایش معنی داری در زمان تست میله نسبت به گروه کنترل سالم (C) گشت (نمودار ۱ تا ۴). در گروه پارکینسونی مبتلا به دیابت (DP) افزایش معنی دار در زمان تست میله نسبت به گروه پارکینسون (P) مشاهده شد (نمودار ۱ تا ۴).

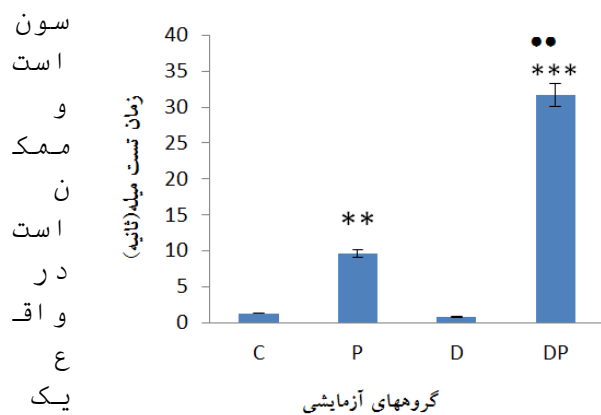
نمودار ۱. بررسی اثر دیابت بر زمان تست میله در موش‌های صحرایی پارکینسونی در روز اول

***P<0.001 اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، **P<0.01 اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، P<0.05 اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه پارکینسون، ••P<0.01 اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه پارکینسون ستون‌ها بیانگر Mean±SEM است (n=6).

بحث

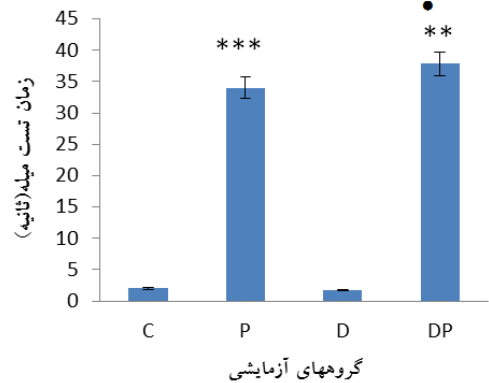
دیابت به عنوان یک بیماری سیستمیک، سیستم‌های عصبی مرکزی و محیطی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در مقایسه با جمعیت عمومی شیوع بالای دیابت در بیماران مبتلا به بیماری‌های حرکتی غیرارادی از جمله هانتینگتون کره ای، *tardive dyskinesia*، ترمور، بیماری پارکینسون و پارکینسونیسم ناشی از نورولپتیک مشاهده شده است (۱۴). اخیراً گزارش شده است که دیابت با نشانه‌های پارکینسونی، خصوصاً اختلال رفلکس‌های وضعیتی-اختلال راه رفتن مرتبط است (۴) برخی مطالعاتی انجام شده، نشان می‌دهد که دیابت ملیتوس یکی از ویژگی‌های مشترک بیماری پار

بیست و یکمین روز



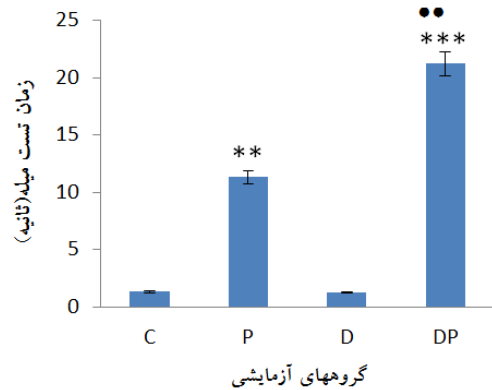
خطر برای این بیماری باشد. همانطور که نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد، دیابت باعث

هفتمین روز



نمودار ۲. بررسی اثر دیابت بر زمان تست میله در موش‌های صحرایی پارکینسونی در روز هفتم

چهاردهمین روز



نمودار ۳. بررسی اثر دیابت بر زمان تست میله در موش‌های صحرایی پارکینسونی در روز چهاردهم

نمودار ۴. بررسی اثر دیابت بر زمان تست میله در موش‌های صحرایی پارکینسونی در روز بیست و یکم

نمودار ۱ تا ۴:

افزایش معناداری در میزان کاتالپسی ناشی از رزپین در موشهای صحرایی مدل پارکینسونی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین شده است. به عبارت دیگر دیابت باعث شدت یافتن کاتالپسی گشته است. در مطالعه ای بالینی مشخص شده است که دیابت با بدتر شدن سفتی عضلانی و راه رفتن مرتبط است اما در کندی حرکت یا لرزش در حال استراحت تغییری ایجاد نمی کند (۱). تاثیر بالقوه هایپرگلیسمی مزمن در علائم حرکتی بیماری پارکینسون تا حد زیادی نادیده گرفته شده است اما از اهمیت بالینی خاصی برخوردار است. Saller و Chiodo طی مطالعات پری کلینیکال نشان دادند که هایپرگلیسمی انتقال دوپامینرژیک انشعابات جسم مخطط را کاهش می دهد. همینطور حساسیت گیرنده های دوپامین پس سیناپسی را نیز افزایش می دهد (۱۵). علاوه بر این مطالعات Trulson و Himmel نشان می دهد که در موشهای صحرایی هایپرگلاسمیک مزمن دی هیدروکسی فنیل آلانین، پیش ساز دوپامین، و متابولیت هومووانیلک اسید به طور قابل توجهی (به ترتیب ۴۳٪ و ۳۰٪) در جسم مخطط کاهش می یابد (۱۶). ارتباط بین دیابت و PD بطور کامل روشن نشده است. اما مطالعات Xu Q و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نشان می دهد که التهاب مزمن و استرس اکسیداتیو اشاره شده در دیابت ممکن است منجر به ریسک بالای PD در سالهای بعدی شود (۲). علاوه بر این مطالعات حیوانی و *in vitro* توسط Watson و Craft نشان می دهد که انسولین در تنظیم فعالیت دوپامینرژیک مغز نقش دارد (۱۷). اختلال تنظیمی انسولین و تغییر عمل انسولین از نگرانی های پاتوفیزیولوژی و نشانه

های کلینیکی PD شده است (۱۸). از طرفی مطالعات C.F.Saller نشان می دهد که نرخ سنتز دوپامین در سیناپتوزوم های آماده شده از جسم مخطط در رت های دیابتی شده با آلوکسان بطور قابل توجهی نسبت به کنترل کمتر است، که نشان می دهد عملکرد دوپامینرژیک ممکن است در رت های دیابتیک آسیب ببیند (۱۵). مطالعات دیگری نشان داده است که افزایش طولانی مدت قند خون در رت های دیابتی با کاهش متابولیسم و سنتز دوپامین مرتبط است (۱۵). مکانیسم دقیق ارتباط تنظیم انسولین و متابولیسم گلوکز با نورودژنراسیون مبهم باقی مانده است (۵). بعلاوه مطالعات نشان می دهند که فاکتورهای ژنتیکی و محیطی مانند شیوه های غذایی ضعیف ممکن است آبخاری از حوادث مشاهده شده در هر دو بیماری مزمن را به راه بیندازد: احتمالاً اختلال تنظیمی انسولین، اختلال میتوکندریایی، استرس شبکه اندوپلاسمی (ER)، از بین رفتن سیستم های یوبی کوئیتین- پروتئازوم و لیزوزوم- اتوفازی و التهاب در سبب شناسی و یا پیشرفت هر دو بیماری نقش مهمی دارد (۵).

نتیجه گیری

داده های مطالعه حاضر نشان داد که دیابت شدت سفتی عضلانی را در موشهای صحرایی افزایش می دهد. با توجه به اینکه احتمالاً دیابت به دلیل هایپرگلیسمی که باعث کاهش انتقالات دوپامینرژیک و کاهش آزاد شدن دوپامین می گردد، افزایش استرس اکسیداتیو، اختلال تنظیمی انسولین که باعث اختلال در نقش انسولین در تنظیم فعالیت دوپامینرژیک مغز می گردد، و همچنین کاهش بیان ژن های خاص که منتج به اختلال در مسیر اکسیداتیو

میتوکندریایی می‌شود و همینطور وجود مسیرهای مشترکی که واسطه دیابت و PD هستند، ممکن است عامل خطری برای بیماری پارکینسون بوده و باعث تشدید علائم و شدت این بیماری شود. البته نتیجه‌گیری قطعی در این زمینه نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. انتظار می‌رود با استفاده از مدل‌های حیوانی دیابتی و پارکینسونی و مطالعات مولکولی، درک کاملی از چگونگی ارتباط متقابل عوامل مختلف مکانسیم‌های مشترک منجر به پیشرفت هر دو بیماری میسر شود.

References

1. Arvanitakis Z, Wilson RS, Bienias JL, Evans DA, Bennett DA. Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. *Archives of neurology*. 2004;61(5):661-6.
2. Xu Q, Park Y, Huang X, Hollenbeck A, Blair A, Schatzkin A, et al .Diabetes and risk of Parkinson's disease. *Diabetes care*. 2011;34(4):910-5.
3. Hu G, Jousilahti P, Bidel S, Antikainen R, Tuomilehto J. Type 2 diabetes and the risk of Parkinson's disease. *Diabetes care*. 2007;30(4):842-7.
4. Arvanitakis Z, Wilson RS, Bienias JL, Bennett DA. Diabetes and parkinsonian signs in older persons. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*. 2007;21(2):144-9.
5. Santiago JA, Potashkin JA. Shared dysregulated pathways lead to Parkinson's disease and diabetes. *Trends in molecular medicine*. 2013;19(3):176-86.
6. Gavin III JR, Alberti K, Davidson MB, DeFronzo RA. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 1997;20(7):1183.
7. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV ,Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life sciences*. 2003;73(15):1907-16.
8. Gispen WH, Biessels G-J. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends in neurosciences*. 2000;23(11):542-9.
9. Moran LB, Graeber MB. Towards a pathway definition of Parkinson's disease: a complex disorder with links to cancer, diabetes and inflammation. *Neurogenetics*. 2008;9(1):1-13.
10. Bosco D, Plastino M, Cristiano D, Colica C, Ermio C, De Bartolo M, et al. Dementia is associated with insulin resistance in patients with Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*. 2012;315(1):39-43.
11. Cereda E, Barichella M, Cassani E, Caccialanza R, Pezzoli G. Clinical features of Parkinson disease when onset of diabetes came first A case-control study. *Neurology*. 2012;78(19):1507-11.
12. Pushparaj P, Tan C, Tan B. Effects of Averrhoa bilimbi leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;72(1):69-76.
13. Singh A, Naidu PS, Kulkarni SK. FK506 as effective adjunct to L-dopa in reserpine-induced catalepsy in rats. *Indian journal of experimental biology*. 2003;41(11):1264-8.
14. Harati Y. Diabetes and the nervous system. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 1996;25(2):325-59.
15. Saller CF, Chiodo LA. Glucose suppresses basal firing and haloperidol-induced increases in the firing rate of central dopaminergic neurons .*Science*. 1980;210(4475):1269-71.
- 16.Trulson M, Himmel C. Decreased Brain Dopamine Synthesis Rate and Increased [3H] Spiroperidol Binding in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Journal of neurochemistry*. 1983;40(5):1456-9.
17. Craft S, Watson GS. Insulin and neurodegenerative disease: shared and specific mechanisms. *The Lancet Neurology*. 2004;3(3):169-78.
18. Craft S, Stennis Watson G. Insulin and neurodegenerative disease: shared and specific mechanisms. *The Lancet Neurology*. 2004;3(3):169-78.