

تحقیقی

## اثر پالماتین هیدروکلراید بر عملکرد حرکتی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

ملیحه آهوئی\*<sup>۱</sup>، دکتر غلامحسن واعظی<sup>۲</sup>، دکتر حمید کاللیان مقدم<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان.

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان. ۳- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود.

### چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری دیابت منجر به بروز اختلالات حرکتی می‌شود. پالماتین هیدروکلراید، آلکالوئیدی ایزوکلینین است که دارای خواص ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی است. این مطالعه به منظور ارزیابی اثر پالماتین هیدروکلراید بر عملکرد حرکتی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در چهار گروه کنترل، غیر دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابتی و دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید قرار گرفتند. دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز  $50 \text{ mg/kg/bw}$  القاء گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با پالماتین هیدروکلراید با دوز  $10 \text{ mg/kg/day}$  به مدت شش هفته و به صورت زیرجلدی انجام گردید. سطح سرمی گلوکز سرم خون در هفته‌های ۱، ۳، ۵ و ۷ پس از تزریق استرپتوزوتوسین سنجش شد. در پایان مطالعه حیوانات با استفاده از آزمون‌های حرکتی *Y maze* (طی ۸ دقیقه)، بارفیکس (*grip-traction*) و سطح شیب‌دار (*inclined plane*) ارزیابی شدند.

**یافته‌ها:** در آزمون *Y maze* تعداد ورود حیوان به بازوها در گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی داشت ( $P < 0/05$ ). در آزمون بارفیکس و سطح شیب‌دار نیز گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی نشان داد ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** تجویز پالماتین هیدروکلراید به مدت شش هفته منجر به بهبود اختلالات حرکتی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین گردید.

**کلید واژه‌ها:** دیابت ملیتوس، پالماتین هیدروکلراید، اختلالات حرکتی، استرپتوزوتوسین، موش صحرایی

\* نویسنده مسؤول: ملیحه آهوئی، پست الکترونیکی [ahouee@yahoo.com](mailto:ahouee@yahoo.com)

نشانی: دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، تلفن ۰۲۷۳-۳۳۳۵۷۲۹، شماره ۳۳۳۳۹۰۲

وصول مقاله: ۹۱/۸/۸، اصلاح نهایی: ۹۱/۱۱/۲۳، پذیرش مقاله: ۹۱/۱۲/۱۶

### مقدمه

۱۵ درصد از بیماران مبتلا به دیابت، زخم یا ایجاد می‌شود (۶). نوروپاتی دیابتی در فیبرهای عصبی محیطی و اتونوم در برگیرنده طیفی از سندرم‌های بالینی و تحت بالینی با توزیع آناتومیک متفاوت است که هر یک با آسیب منتشر و یا موضعی در فیبرهای عصبی محیطی و یا اتونوم ایجاد می‌شود. نوروپاتی می‌تواند به شکل منتشر و یا کانونی ایجاد شود (۷). نوروپاتی کانونی کمتر شایع است و معمولاً در شروع حاد و اغلب خود محدود شونده است. در نوروپاتی منتشر، پلی‌نوروپاتی حسی و حرکتی متقارن دیستال (distal symmetrical sensorimotor polyneuropathy: DPN) و نوروپاتی دیابتی اتونوم (diabetic autonomic neuropathy) شایع بوده و معمولاً مزمن و اغلب پیشرونده هستند. در DPN اختلال

بیماری دیابت در زمره شایع‌ترین بیماری‌های سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که براساس پیش‌بینی‌های به‌عمل آمده شیوع آن در جامعه انسانی رو به افزایش است (۱). دیابت ناشی از اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها است (۲).

کمبود و یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری با عوارض متابولیک حادی نظیر کتواسیدوز دیابتی، اغمای هیپراسمولار (۳) و با اختلالات مزمنی نظیر نوروپاتی (۴و۵) و اختلالات شناختی همراه است (۴).

نوروپاتی دیابتی علت عمده قطع عضو غیر تروماتیک است. در

شناخته می‌شود؛ به طور گسترده در سیستم‌های مختلف پزشکی سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های چشم، گوش، رماتیسم، یرقان، دیابت، اختلالات معده، پوست، تب مالاریا و به عنوان نیروبخش استفاده شده است. اجزاء سازنده آن شامل بربرین، بریامین، پالماتین و چند ماده دیگر است. به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست ساقه گیاه، موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان، محافظت قابل ملاحظه‌ای در برابر انواع فعال اکسیژن به دست آوردند (۱۷). همچنین این ترکیب سبب تنظیم هموستاز گلوکز از طریق کاهش گلوکونوز و استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۸). پالماتین دارای آثار آنتی‌اکسیدان، ضدالتهابی، ضد مالاریا، ضد میکربی، ضد سرطان، آرام بخشی (۱۹) و کاهنده قند و چربی خون (۲۰) است. پالماتین سبب تحریک ترشح انسولین می‌شود (۲۱). میزان سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز را افزایش می‌دهد و آزادسازی رادیکال‌های آزاد را می‌کاهد (۲۲). این توانایی بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدان پالماتین هیدروکلراید است. همچنین این ماده به دلیل دارا بودن عملکرد ضدالتهابی، باعث تنظیم پاسخ سیتوکین‌ها و مهار مرگ سلولی می‌شود (۲۰). ریشه گیاه کاپتیس یک فرآورده دارویی مهم در چین است که به تنهایی و یا به شکل ترکیبی در درمان دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۶). مطالعه قبلی ما نیز نشان‌دهنده نقش موثر پالماتین بر اختلالات شناختی موش‌های صحرایی دیابتی شده بود (۲۳). لذا با در نظر گرفتن مسیرهای ایجاد نورپاتی دیابتی و اختلال عملکرد حرکتی و با توجه به شواهد متعدد که نشان‌دهنده نقش موثر پالماتین در کاهش عوارض هیپرگلیسمی و تنظیم اختلالات اکسیداتیو و التهابی ناشی از القای دیابت است؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر پالماتین هیدروکلراید بر عملکرد حرکتی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

### روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی  $240 \pm 40$  گرم خریداری شده از مؤسسه پاستور کرج در دانشگاه علوم پزشکی شاهرود در سال ۱۳۹۰ با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و براساس مجوز شماره ۹۱/۱۰۰۳۲ انجام شد.

موش‌ها برای انطباق با محیط، از یک هفته قبل از شروع آزمایش در محیط آزمایشگاه با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و چرخه تاریکی - روشنایی ۱۲ ساعته قرار گرفتند. حیوانات به‌طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند.

موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی شامل کنترل دیابتی، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید (۱۰ mg/kg)، کنترل سالم و غیردیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید

حسی معمولاً بر اختلال عصب حرکتی غالب بوده و ابتدا در بخش انتهایی اندام ظاهر می‌شود و با افزایش شدت یا مدت دیابت به سوی مبدأ اندام پیشرفت می‌کند (۸، ۷). نورپاتی حرکتی در مواردی است که اختلال عملکرد عضله به وضوح وجود داشته باشد (۹ و ۱۰). مطالعات انجام شده در انسان و حیوان نشان داده است که نورپاتی دیابتی سبب کاهش قدرت عضلانی در نمونه‌های دیابتی می‌شود (۱۱-۱۳). به نظر می‌رسد کاهش توان عضلانی در بیماری دیابت ناشی از نقص عصب‌رسانی بافت عضلانی و در نتیجه آتروفی عضلانی باشد (۱۳). بیماران دیابتی ممکن است فقط یک نوع یا همه انواع نورپاتی را نشان دهند.

پیشرفت‌های قابل توجهی در جهت درک مکانیسم‌های بیوشیمیایی منجر به نورپاتی دیابتی و در نتیجه روش‌های جدید درمانی ایجاد شده است. ازدیاد قندخون نقش مهمی در توسعه و پیشرفت نورپاتی دیابتی و همچنین سایر عوارض میکروواسکولار دیابت ایفا می‌نماید. تحقیقات مولکولی و آسیب‌شناسی بیوشیمیایی نورپاتی دیابتی بر مسیرهای سوخت و ساز گلوکز متمرکز شده است. در طول ۲۵ سال گذشته آزمایش‌های حیوانی و مطالعات در آزمایشگاه، مسیرهای بیوشیمیایی را شناسایی کرده‌اند که به نظر می‌رسد در توسعه عوارض دیابت مهم باشند و منجر به رویکردهای محتمل درمان شوند. این مسیرها شامل تغییرات گلوکز از طریق مسیر پلیول (polyol)، مسیر هگزوزآمین (Hexosamine)، فعال شدن اضافی یا نامناسب ایزوفرم‌های پروتئین کیناز C (PKC) و تجمع فرآورده نهایی گلائیکه شدن پیشرفته، فعال شدن عوامل واسطه‌های التهابی هستند (۱۴). در حالی که هر مسیر ممکن است به تنهایی مخرب باشد؛ مجموعه آنها باعث عدم تعادل در وضعیت اکسیداتیو میتوکندری سلولی و منجر به شکل‌گیری بیش از حد از گونه‌های اکسیژن فعال (reactive oxygen species: ROS) می‌شود (۱۴). عوامل ایجاد کننده استرس اکسیداتیو باعث عدم توازن محصولات رادیکالی آزاد و مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان گردیده و آسیب‌های بافتی بالقوه‌ای را در بافت‌های مختلف ایجاد می‌نمایند (۱۵). همچنین افزایش استرس اکسیداتیو در داخل سلول منجر به فعال‌سازی مسیر پلی (آدنوزین دی فسفات-ریبوز) پلی‌مراز [poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)] می‌شود که بیان ژن‌های دخیل در پیشرفت واکنش‌های التهابی و اختلال عصبی را تنظیم می‌کند (۷).

پالماتین هیدروکلراید یک پروتوبربرین از گروه آلکالوئیدها است که در ریشه و پوست ساقه خانواده‌های گیاهی متعددی از جمله *Berberis aristata*, *Coptis chinensis* فرانس و *Coptidis rhizoma* یافت شده است (۱۶ و ۱۷). گیاه زرشک خاردار (*Berberis aristata*) که در طب هندوستان به عنوان *Daruharidra*

(۱۰ mg/kg) تقسیم شدند.

داروهای به کار رفته در این مطالعه شامل پالماتین هیدروکلراید (SC-۲۰۵۷۸۸) (شرکت سانتاکروز بیوتکنولوژی، آمریکا) و استرپتوزوتوسین (S0۱۳۰) (شرکت سیگما، آمریکا) بود.

القای دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۵۵ mg/kg) حل شده در بافر سیترات (۰/۰۵M، pH=۴/۵) انجام شد. سنجش قندخون یک هفته بعد از تزریق STZ و با استفاده از خون سیاهرگ دمی به کمک دستگاه گلوکوکاردا USA۰۱ انجام شد. موش‌های صحرایی دارای قندخون بالاتر از ۳۰۰ mg/dl دیابتی در نظر گرفته شدند. گروه درمانی تحت تیمار با دارو و گروه غیردیابتی تیمار با دارو به مدت ۶ هفته، داروی پالماتین هیدروکلراید را با دوز ۱۰ mg/kg به صورت زیر جلدی دریافت نمودند.

در هفته هفتم پس از تزریق استرپتوزوتوسین برای سنجش عملکرد حرکتی از آزمون Y maze (۲۴ و ۲۵) استفاده شد. Y maze مازی Y شکل و دارای دو بازو به ابعاد ۱۵×۳۰×۵۰ سانتی‌متر و بازوی سوم بلندتر به طول ۷۰ cm با همان عرض و ارتفاع بود. برای انجام این آزمون موش را در انتهای یکی از بازوها قرار دادیم و به مدت ۸ دقیقه رفتارها و حرکات حیوان در درون هر سه بازو مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمون تعداد ورود حیوان به بازوها ارزیابی گردید. منظور از ورود حیوان به یک بازو، ورود هر چهار پای جانور به آن بازو بود.

ابزار مورد استفاده برای انجام آزمون سطح شیب‌دار (۲۶) یک صفحه با اندازه ۴۰×۶۰ سانتی‌متر بود. در یک سمت طول این صفحه نقاله‌ای قرار داشت که برای اندازه‌گیری زاویه صفحه با سطح افقی (زمین) استفاده گردید. این صفحه بر روی یک پایه بالاتر از سطح زمین قرار گرفت و سطح صفحه با یک پوشش لاستیکی پوشانده شد. در شروع آزمون هر موش بر روی صفحه قرار گرفت. در این حالت شیب صفحه به میزان ۳۰ درجه و برای کاهش حرکت و جابجایی موش در شروع آزمون بود. پس از آن میزان زاویه صفحه به تدریج افزایش یافت؛ تا جایی که حیوان قادر به حفظ وضعیت خود بر روی صفحه نبود و سر می‌خورد. زاویه مشاهده شده در این حالت به عنوان حداکثر زاویه برای حیوان ثبت شد.

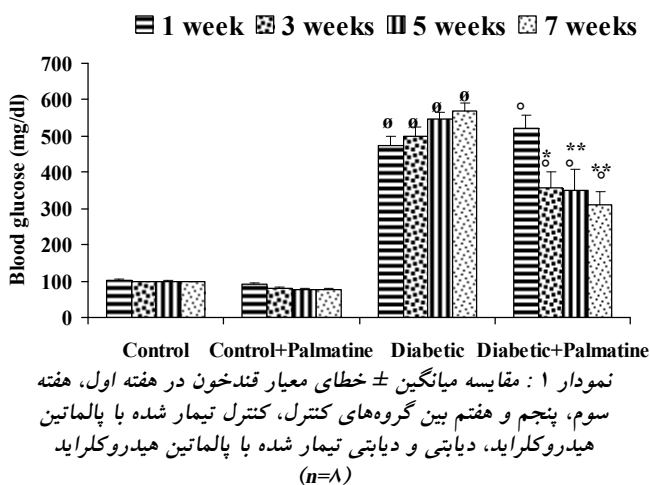
برای انجام آزمون بارفیکس (۲۷) از میله فلزی محکم به طول ۴۵ سانتی‌متر و با قطری مناسب در حدود ۰/۶ سانتی‌متر استفاده شد. به طوری که در حالت عادی موش توانایی گرفتن میله را داشت. این میله از دو طرف توسط گیره به پایه‌ها متصل شد. ارتفاع میله از سطح ۴۵ سانتی‌متر بود. در این آزمون موش را از طریق دو تا پنجه پای جلو از میله آویزان کردیم و زمان سقوط ثبت شد. حداکثر زمان آزمون برای هر موش ۶۰ ثانیه بود. زمان ثبت شده شامل مدتی بود

که حیوان با پنجه پاهای جلوی خود میله را می‌گرفت. آزمون آماری برای تک‌تک گروه‌ها با کمک برنامه prism و آزمون Repeated measure Anova انجام گردید. برای سنجش معنی‌دار بودن یا نبودن تفاوت گروه‌ها از آزمون تعقیبی بونفرنی استفاده شد. سطح معنی‌داری تمام آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

ارزیابی میزان قندخون گروه‌ها هر دو هفته یک بار، نشان داد که گروه کنترل تیمار با دارو و گروه کنترل در تمام هفته‌ها تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند. گروه دیابتی تیمار با دارو در هفته اول (قبل از شروع دارو) تفاوت آماری معنی‌داری با گروه دیابتی کنترل نداشت؛ ولی در هفته‌های سوم ( $P<۰/۰۱$ )، پنجم و هفتم ( $P<۰/۰۰۰۱$ )، میزان قندخون این گروه کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی داشت و گروه دیابتی در تمام هفته‌ها افزایش معنی‌داری ( $P<۰/۰۰۰۱$ ) نسبت به گروه کنترل نشان داد. همچنین میزان قندخون گروه دیابتی تیمار با دارو در تمام هفته‌ها افزایش معنی‌داری ( $P<۰/۰۰۰۱$ ) نسبت به گروه کنترل تیمار با دارو نشان داد (نمودار یک).

مقایسه تعداد حرکت در بازوهای Y maze نشان داد که گروه کنترل تیمار با دارو و گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند. گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، افزایش معنی‌داری ( $P<۰/۰۵$ ) نسبت به گروه دیابتی داشت ( $۱۰/۶۳ \pm ۱/۲۶۷$ ) در مقابل ( $۶/۷ \pm ۰/۴۵۲$ ) و تعداد حرکت گروه دیابتی ( $۶/۷ \pm ۰/۴۵۲$ ) کاهش معنی‌داری ( $P<۰/۰۰۱$ ) نسبت به گروه کنترل ( $۱۳ \pm ۰/۹۲۵۸$ ) داشت. همچنین گروه دیابتی تیمار با دارو تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل تیمار با دارو نداشت (نمودار ۲).



نمودار ۱: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای معیار قندخون در هفته اول، هفته سوم، پنجم و هفتم بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابتی و دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید ( $n=۸$ )

φ تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل  $P<۰/۰۰۰۱$

\* تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی  $P<۰/۰۰۱$  و \*\*  $P<۰/۰۰۰۱$

○ تفاوت معنی‌دار با گروه سالم تیمار با پالماتین هیدروکلراید  $P<۰/۰۰۰۱$

درجه سطح شیب‌دار در گروه کنترل تیمار با دارو و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. مقدار درجه سطح شیب‌دار در گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید افزایش معنی‌داری ( $P < 0.0001$ ) نسبت به گروه کنترل دیابتی داشت ( $66/38 \pm 1/101$ ) در مقایسه با  $52/88 \pm 2/869$  و در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری ( $P < 0.0001$ ) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ( $52/88 \pm 2/869$ ) در مقابل  $68 \pm 0/7559$ ). گروه دیابتی تیمار با دارو تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل تیمار با دارو نداشت (نمودار ۳).

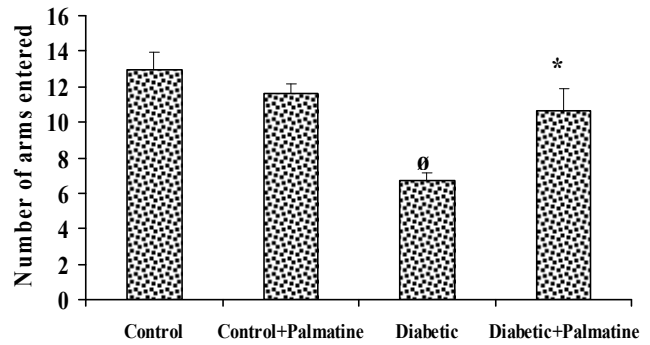
مدت زمان بارفیکس در گروه کنترل تیمار با دارو تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت. گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید افزایش معنی‌داری ( $P < 0.0001$ ) نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان داد ( $14/88 \pm 1/716$ ) در مقایسه با  $5/60 \pm 0/6153$  و گروه دیابتی کاهش معنی‌داری ( $P < 0.0001$ ) نسبت به گروه کنترل داشت ( $5/60 \pm 0/6153$ ) در مقایسه با  $5/60 \pm 0/9373$ ). گروه دیابتی تیمار با دارو تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل تیمار با دارو نداشت (نمودار ۴).

### بحث

در این مطالعه نشان داده شد که تجویز زیرجلدی پالماتین هیدروکلراید در موش‌های صحرایی دیابتی، به مدت شش هفته، علاوه بر کاهش قند خون به‌طور معنی‌داری سبب افزایش عملکرد حرکتی در حیوان گردید. در واقع افزایش تعداد دفعات ورود به بازوهای Ymaze و افزایش عملکرد حرکتی در آزمون‌های بارفیکس و سطح شیب‌دار نشان‌دهنده اثر پالماتین هیدروکلراید در پیشگیری از ایجاد اختلالات حرکتی در گروه‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین است.

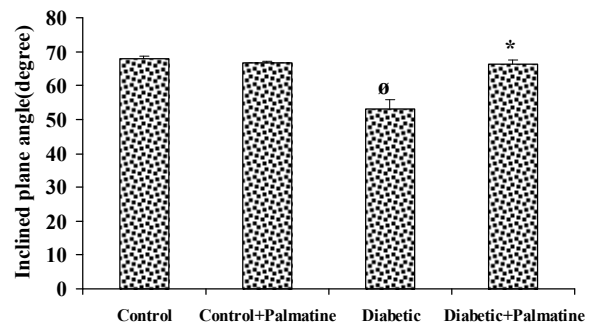
پالماتین، اینتر لوکین ۱۰ را افزایش داده و از افزایش عامل نکروز تومور آلفا جلوگیری می‌کند. شایان ذکر است که این عامل، آبخاری از سیتوکین‌های التهابی را ایجاد می‌کند. همچنین پالماتین آسیب کبدی ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال را با تعدیل پاسخ سیتوکین‌ها و مهار مرگ سلولی کاهش می‌دهد (۲۵ و ۲۰). پالماتین بیان نیتریک اکساید سینتاز و Cyclooxygenase-2 (COX2) را که دو ژن التهابی مهم هستند را کاهش داده و بیان Hemeoxygenase-1 (HO-1) را نیز القاء می‌نماید. اگرچه HO-1 دارای عملکرد آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی است؛ لیکن اثبات این رابطه نیاز به تحقیقات بیشتری دارد (۲۲).

بیماری دیابت سبب تولید  $TNF-\alpha$  از واسطه‌های التهابی نظیر COX-2، اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۸ می‌شود (۲۸-۳۰). هنگامی که گلوکز بیش از حد از طریق مسیرهای متابولیک جایگزین حذف شود؛ واسطه‌های علامت‌دهنده و عوامل رونویسی تغییر می‌یابد. یکی از نتایج خاص این تغییرات، جذب سلول‌های التهابی، تولید



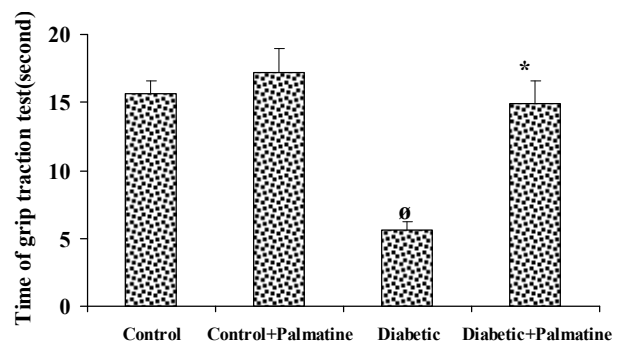
نمودار ۲: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای معیار تعداد حرکت در بازوهای Ymaze بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابتی و دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید ( $n=8$ )

$\phi$  تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل  $P < 0.0001$   
\* تفاوت معنی‌داری با گروه دیابتی  $P < 0.05$



نمودار ۳: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای معیار درجه سطح شیب‌دار بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابتی، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید ( $n=8$ )

$\phi$  تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل  $P < 0.0001$   
\* تفاوت معنی‌داری با گروه دیابتی  $P < 0.0001$



نمودار ۴: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای معیار مدت زمان بارفیکس، بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابتی و دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید ( $n=8$ )

$\phi$  تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل  $P < 0.0001$   
\* تفاوت معنی‌داری با گروه دیابتی  $P < 0.0001$

علاوه بر مکانیسم‌های احتمالی فوق‌الذکر، مطالعات اخیر بر نقش مخرب استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی و معرفی آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک روش درمانی تأکید می‌نماید (۳۶-۳۴) که باید مورد پژوهش بیشتری قرار گیرد. پالماتین هیدروکلراید علاوه بر مکانیسم‌های فوق‌الذکر در هموستاز گلوکز، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. پالماتین در سلول‌های اپی‌تلیال توبول‌های کلیوی، تولید پراکسی نیتريت را مهار نموده و سلول‌ها را از آسیب ناشی از آن محافظت می‌نماید. همچنین پالماتین هیدروکلراید، مقادیر سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز و گلوکاتیون ردوکتاز (۱۸) را افزایش داده و پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهد. بدین ترتیب پالماتین قادر است آزادسازی رادیکال‌های آزاد را بکاهد (۲۰). در مجموع می‌توان، بخش عمده‌ای از آثار محافظت نورونی این دارو در مقابل اختلالات حرکتی ناشی از دیابت را به آثار آنتی‌اکسیدان آن نسبت داد. در این مطالعه مشاهده شد که دیابت سبب کاهش معنی‌دار در تعداد دفعات ورود به بازوهای Ymaze همچنین مدت زمان بارفیکس و میزان درجه سطح شیب‌دار گردید. تمام متغیرهای ذکر شده، در گروه دیابتی تحت درمان با پالماتین به طور قابل ملاحظه‌ای بهبود یافت. با توجه به مطالعات اندک در زمینه اثرات پالماتین هیدروکلراید پیشنهاد می‌گردد؛ مکانیسم‌های مرتبط با آن در تحقیقات بعدی مورد آزمون قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز پالماتین هیدروکلراید به مدت مناسب می‌تواند سبب بهبود اختلالات حرکتی شود. زیرا این دارو از یک سو با اثر بر واکنش‌های متابولیکی و آنزیم‌های درگیر در هموستاز گلوکز و از سوی دیگر با کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو و آثار مخرب ناشی از آن می‌تواند از تخریب احتمالی نوروهای محیطی موش‌های صحرایی دیابتی شده جلوگیری و بهبود چشمگیری در عملکرد حرکتی حیوانات ایجاد نماید.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم ملیحه آهویی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود. بدین وسیله از همه عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند؛ صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

موضعی سایتوکاین‌ها و کاهش جریان خون است که منجر به تولید بیشتر ROS و آسیب نورونی می‌شود (۷). لذا بخشی از آثار محافظت نورونی پالماتین هیدروکلراید در بیماری دیابت و در نتیجه پیشگیری از اختلالات حرکتی به عملکرد ضدالتهابی آن مربوط است.

پالماتین هیدروکلراید در حضور عامل رشد عصبی (NGF) (nerve growth factor) رشد فیبرهای عصبی را افزایش می‌دهد (۳۱) که خود می‌تواند به عنوان یکی دیگر از مکانیسم‌های حفاظت‌گر نورونی پالماتین مورد ارزیابی قرار گیرد.

در مجموع شواهد متعددی اختلالات مرتبط با حافظه و حرکت را در بیماران دیابتی نشان داده و ارتباط معنی‌داری را بین کنترل قندخون و بهبود این اختلالات نشان داده‌اند (۳۲ و ۳۳). با توجه به این که هیپرگلیسمی نقش مهمی در توسعه و پیشرفت نوروپاتی دیابتی و همچنین سایر عوارض میکروواسکولار ایفا می‌کند؛ لذا با کاهش آن می‌توان از کلیه عوارض ناشی از هیپرگلیسمی، از جمله نوروپاتی پیشگیری نمود. در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد که پالماتین میزان قندخون را در گروه دیابتی تحت تیمار با دارو از هفته سوم به بعد به طور معنی‌داری کاهش داد. در مطالعاتی پالماتین بر خورددهای مشخصی را با متابولیسم چربی و کربوهیدرات نشان داده است (۱۸ و ۲۱). این دارو سبب بقاء سلول‌های بتا و تحریک ترشح انسولین می‌شود و به طور معنی‌داری قندخون نمونه‌های دیابتی را کاهش می‌دهد. پالماتین در شرایط آزمایشگاهی عملکردی نظیر تولبوتامید داشته است. به طوری که در فقدان و حضور گلوکز سبب تحریک ترشح انسولین شده است (۲۱). پالماتین یکی از ترکیبات اصلی و فعال گیاه بربریس آریستاتا است. عصاره ریشه این گیاه به طور معنی‌داری قندخون نمونه‌های دیابتی را کاهش می‌دهد. این ترکیب از طریق افزایش فعالیت گلوکوکیناز و گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز و کاهش فعالیت گلوکز ۶ فسفاتاز، سبب تنظیم هموستاز گلوکز می‌شود (۱۸). گلوکوکیناز یکی از آنزیم‌های مهم در کاتابولیسم گلوکز است که گلوکز را فسفوریل کرده و آن را به گلوکز ۶ فسفات تبدیل می‌کند. در دیابتی‌های تجربی این آنزیم کاهش می‌یابد. گلوکز ۶ فسفاتاز نیز یک آنزیم مهم در هموستاز گلوکز است. زیرا واکنش‌های بیوشیمیایی گلیکوژنولیز و گلوکونئوژن را کاتالیز می‌کند. فعالیت این آنزیم در دیابت افزایش می‌یابد و لیپوژن را افزایش می‌دهد. بنابراین پالماتین سبب مهار گلوکونئوژن و در نتیجه مهار تولید گلوکز کبدی نیز می‌گردد (۱۸).

### References

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit.* 2006 Jul;12(7):RA130-47.
2. Hall JE. [Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology]. Translate by Sepehri H, Rastkar A, Ghasemi K. 12<sup>th</sup>. Tehran: Andishe Rafia publication. 2011; p: 1194. [Persian]

3. Wändell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health Care.* 2005 Jun;23(2):68-74.
4. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's principles of internal medicine. 17<sup>th</sup>.

New Jersey: McGraw-Hill. 2008; pp: 2060-5.

5. Pop-Busui R, Sima A, Stevens M. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006 Jul-Aug; 22(4):257-73.
6. Gordoys A, Scuffham P, Shearer A, Oglesby A, Tobian JA. The health care costs of diabetic peripheral neuropathy in the US. *Diabetes Care.* 2003 Jun;26(6):1790-5.
7. Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacol Ther.* 2008 Oct; 120(1):1-34.
8. Freeman R. Autonomic peripheral neuropathy. *Lancet.* 2005 Apr; 365(9466):1259-70.
9. Partanen J, Niskanen L, Lehtinen J, Mervaala E, Siitonen O, Uusitupa M. Natural history of peripheral neuropathy in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1995 Jul; 333(2):89-94.
10. Novella SP, Inzucchi SE, Goldstein JM. The frequency of undiagnosed diabetes and impaired glucose tolerance in patients with idiopathic sensory neuropathy. *Muscle Nerve.* 2001 Sep; 24(9):1229-31.
11. Andreassen CS, Jakobsen J, Andersen H. Muscle weakness: a progressive late complication in diabetic distal symmetric polyneuropathy. *Diabetes.* 2006 Mar;55(3):806-12.
12. Andersen H, Nielsen S, Mogensen CE, Jakobsen J. Muscle strength in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2004 Jun;53(6):1543-8.
13. Andreassen CS, Jakobsen J, Flyvbjerg A, Andersen H. Expression of neurotrophic factors in diabetic muscle--relation to neuropathy and muscle strength. *Brain.* 2009 Oct;132(Pt 10):2724-33.
14. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care.* 2003;26(5):1553-79.
15. Liu Q, Chen L, Hu L, Guo Y, Shen X. Small molecules from natural sources, targeting signaling pathways in diabetes. *Biochim Biophys Acta.* 2010 Oct-Dec;1799(10-12):854-65.
16. Yuan L, Tu D, Ye X, Wu J. Hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of *Coptis chinensis* franch inflorescence. *Plant Foods Hum Nutr.* 2006 Sep;61(3):139-44.
17. Gupta JK, Mishra P, Rani A, Mazumder PM. Blood glucose lowering potential of stem bark of *berberis aristata* Dc in Alloxan-induced diabetic Rats. *Iran J Pharmacol Ther.* 2010;9(1):21-4.
18. Singh J, Kakkar P. Antihyperglycemic and antioxidant effect of *Berberis aristata* root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2009 May; 123(1):22-6.
19. Shin JS, Kim EI, Kai M, Lee MK. Inhibition of dopamine biosynthesis by protoberberine alkaloids in PC12 cells. *Neurochem Res.* 2000 Mar;25(3):363-8.
20. Lee WC, Kim JK, Kang JW, Oh WY, Jung JY, Kim YS, et al. Palmatine attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure in mice. *Food Chem Toxicol.* 2010 Jan; 48(1):222-8.
21. Patel MB, Mishra S. Hypoglycemic activity of alkaloidal

fraction of *Tinospora cordifolia*. *Phytomedicine.* 2011 Sep; 18(12):1045-52.

22. Kim YM, Ha YM, Jin YC, Shi LY, Lee YS, Kim HJ, et al. Palmatine from *Coptidis rhizoma* reduces ischemia-reperfusion-mediated acute myocardial injury in the rat. *Food Chem Toxicol.* 2009 Aug;47(8):2097-102.
23. Ahoeei M, Vaezi Gh, Kalalian Moghaddam H, Alamalhoda F. [Effect of palmatine hydrochloride on improvement of cognitive dysfunction in streptozotocin-induced diabetic Rats]. *J Gorgan Uni Med Sci.* 2013; 15(1): 38-44. [Article in Persian]
24. Ammar Imad H, Muzaimi M, Sharif Mahsufi M. The effects on motor behaviour and short-term memory tasks in mice following an acute administration of *Mitragyna speciosa* alkaloid extract and mitragynine. *J Med Plants Res.* 2011;5(24): 5810-17.
25. McGranahan TM, Patzlaff NE, Grady SR, Heinemann SF, Booker TK.  $\alpha 4\beta 2$  nicotinic acetylcholine receptors on dopaminergic neurons mediate nicotine reward and anxiety relief. *J Neurosci.* 2011 Jul;31(30):10891-902.
26. Popa-Wagner A, Stöcker K, Balseanu AT, Rogalewski A, Diederich K, Minnerup J, et al. Effects of granulocyte-colony stimulating factor after stroke in aged rats. *Stroke.* 2010 May; 41(5):1027-31.
27. Zhou Y, Lekic T, Fathali N, Ostrowski RP, Martin RD, Tang J, et al. Isoflurane posttreatment reduces neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats by the sphingosine-1-phosphate/phosphatidylinositol-3-kinase/Akt pathway. *Stroke.* 2010 Jul; 41(7):1521-7.
28. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001 Dec;414(6865):813-20.
29. Vincent AM, Feldman EL. New insights into the mechanisms of diabetic neuropathy. *Rev Endocr Metab Disord.* 2004 Aug; 5(3): 227-36.
30. Kannan V. Molecular mechanisms of diabetic neuropathy. *Int J Diab Dev Countries.* 2000; 20:101-3.
31. Shigeta K, Ootaki K, Tatemoto H, Nakanishi T, Inada A, Muto N. Potentiation of nerve growth factor-induced neurite outgrowth in PC12 cells by a *Coptidis Rhizoma* extract and protoberberine alkaloids. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2002 Nov;66(11):2491-4.
32. Biessels GJ, Kerssen A, de Haan EH, Kappelle LJ. Cognitive dysfunction and diabetes: implications for primary care. *Prim Care Diabetes.* 2007 Dec;1(4):187-93.
33. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006 May;537(1-3):106-10.
34. Kucukatay V, Ağar A, Gumuslu S, Yargıçoğlu P. Effect of sulfur dioxide on active and passive avoidance in experimental diabetes mellitus: relation to oxidant stress and antioxidant enzymes. *Int J Neurosci.* 2007 Aug;117(8):1091-107.
35. Stewart R, Liolitsa D. Type 2 diabetes mellitus, cognitive impairment and dementia. *Diabet Med.* 1999 Feb;16(2):93-112.
36. Tüma I. [Diabetes mellitus and cognitive impairments]. *Vnitr Lek.* 2007 May;53(5):486-8. [Article in Czech]

Original Paper

## Palmatine hydrochloride improves motor dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats

Ahouei M (M.Sc)<sup>\*1</sup>, Vaezi Gh (Ph.D)<sup>2</sup>, Kalalian Moghaddam H (Ph.D)<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Physiologist, <sup>2</sup>Associated Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran. <sup>3</sup>Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

---

### Abstract

**Background and Objective:** Diabetes induces motor dysfunctions, Palmatine is an isoquinoline alkaloid, with anti-diabetic and antioxidant activities. This study was conducted to evaluate the effect of Palmatine on motor dysfunction in STZ-induced diabetic rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 32 male wistar rats were randomly allocated into control, Palmatine-treated non-diabetic, diabetic and Palmatine-treated diabetic groups. Diabetes was induced by STZ administration at the dose of 55 mg/kg/bw, intraperitoneally. Palmatine hydrochloride was administered subcutaneous at doses of 10 mg/kg/bw per day for a period of 6 weeks, one week after induction of diabetes. Blood glucose level was measured 1, 3, 5, 7 weeks after STZ injection. Locomotor activity tests including Y maze, grip-traction and inclined plane tests were performed to determining locomotor activity.

**Results:** In Y maze test, the number of arms entered significantly increased in Palmatine-treated diabetic group compared to diabetic group ( $P < 0.05$ ). Grip traction and inclined plane tests significantly increased in Palmatine-treated diabetic group compared to diabetics animals ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Palmatine hydrochloride administration for 6 weeks improves motor dysfunctions in streptozotocin-induced diabetic rats.

**Keywords:** Diabetes mellitus, Palmatine hydrochloride, Motor dysfunctions, Streptozotocin, Rat

---

\* Corresponding Author: Ahouei M (M.Sc), E-mail: [ahouei@yahoo.com](mailto:ahouei@yahoo.com)

Received 29 October 2012

Revised 11 February 2013

Accepted 6 March 2013