



بررسی ارتباط بین سطح آهن سرم و بروز پارکینسون القا شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی نر

هاشم حق دوست‌یزدی^۱، محمد صوفی‌آبادی^{۲*}، محمدحسین اسماعیلی^۳، منیردخت میرزاده^۳، اشکان همت‌زاده^۴

۱- دانشیار- مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر، پژوهشکده پیشگیری از بیماری‌های غیرواگیر- دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

۲- استاد- مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر، پژوهشکده پیشگیری از بیماری‌های غیرواگیر- دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

۳- دانشیار- گروه پزشکی اجتماعی- دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

۴- دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، دانشجوی پزشکی، قزوین، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۳، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۱

چکیده

مقدمه: پارکینسون از بیماری‌های تخریبی مغز به‌شمار می‌رود. شواهد نشان می‌دهد که تغییر در هموستاز عناصر کمیاب از جمله آهن، در ایجاد این بیماری نقش مهمی دارد و آهن یک کوفاکتور مهم در ساخت دوپامین می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی ارتباط بین سطح آهن سرم و پارکینسون تجربی در موش‌های صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: ۲۴ موش صحرایی نر به سه گروه کنترل، سم، پارکینسونی شده تقسیم شدند. برای القای پارکینسون، سم ۶-هیدروکسی دوپامین (۴ میکروگرم/ میکرولیتر) تحت جراحی استرئوتاکسی به ناحیه دسته مغز جلویی میانی (MFB) نیکره راست مغز موش‌ها تزریق شد. شدت پارکینسون در هفته‌های سوم، پنجم، هشتم و دهم پس از جراحی با آزمون چرخش القاء شده با تزریق آپومورفین (۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و آزمون سیلندر ارزیابی شد. خونگیری یک بار قبل از جراحی و سه نوبت پس از آن انجام و آهن سرم با روش Iron Selective Electrode Method اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با آزمون‌های آماری واریانس یک طرفه و توکی تحلیل شدند.

نتایج: براساس شدت علائم رفتاری، موش‌های دریافت‌کننده سم به سه زیرگروه خفیف، متوسط و شدید تقسیم شدند. سطح سرمی آهن در خونگیری اول برابر با $4/6 \pm 1/2/5$ بود. سطح سرمی آهن در گروه‌ها پس از تیمار کاهش یافت که این روند کاهش در گروه موش‌های پارکینسونی در مقایسه به گروه کنترل معنی‌دار بود. همچنین، سطح سرمی آهن در موش‌های پارکینسونی شدید نسبت به زیرگروه خفیف به شکل معنی‌داری کمتر بود. نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌ها، پارکینسون تجربی موجب کاهش قابل‌توجهی در سطح سرمی آهن می‌شود و میزان کاهش آهن با شدت علائم رفتاری پارکینسون در موش‌ها ارتباط دارد.

واژه‌های کلیدی: بیماری پارکینسون، آهن، ۶-هیدروکسی دوپامین، آپومورفین، ناحیه دسته مغز جلویی میانی.

*نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک، استیتو تحقیقاتی برای جلوگیری از بیماری‌های غیر واگیر، تلفن: ۰۲۸۳۳۳۳۰۵۳۴، نمابر: ۰۲۸۳۳۳۴۹۷۱.

Email: mohasofi@yahoo.com

ارجاع: حق دوست‌یزدی‌هاشم، صوفی‌آبادی محمد، اسماعیلی محمدحسین، میرزاده منیردخت، همت‌زاده اشکان. بررسی ارتباط بین سطح آهن سرم و بروز پارکینسون القا شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی نر. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۳؛ ۱۹(۴): ۴۸-۴۱.



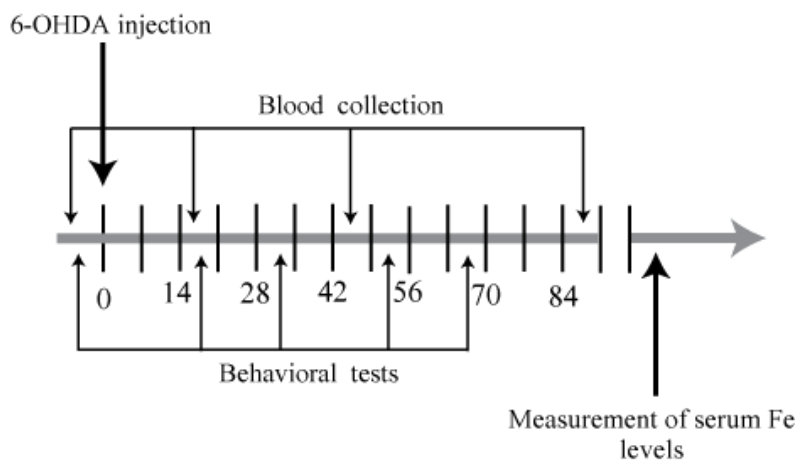
مقدمه

بیماری پارکینسون شایع‌ترین اختلال نورودژنراتیو مزمن پس از آلزایمر می‌باشد. این بیماری با اختلالات حرکتی ناتوان‌کننده متعددی شامل برادی کینزی، سفتی عضلات، لرزش در هنگام استراحت و عدم تعادل وضعیتی همراه است. از نظر پاتولوژی، مشخصه بارز این بیماری تخریب آهسته و تدریجی نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه بوده که منجر به کاهش سطح دوپامین در استریاتوم می‌گردد (۱ و ۲). میزان بروز جهانی پارکینسون سالانه ۶۱ مورد جدید در هر صد هزار مرد و ۳۸ مورد جدید در هر صد هزار زن بوده و با افزایش سن شانس بروز بیماری نیز افزایش پیدا می‌کند و متوسط سن شروع بیماری هم حدود ۵۳ سال می‌باشد (۳ و ۴). در ایجاد آسیب هسته جسم سیاه چندین عامل دخالت دارند ولی شواهد جدید استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد میتوکندریایی را از عوامل مهم آسیب معرفی می‌کند (۵). بر اساس شواهد توسط میتوکندری در جریان تنفس سلولی تقریباً صد درصد اکسیژن مولکولی مصرف می‌شود و اکسیدان‌های قدرتمندی شامل پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، به‌عنوان محصول فرعی تولید می‌شوند و با مهار کمپلکس I تولید سوپر اکسید افزایش می‌یابد که می‌تواند رادیکال‌های هیدروکسیل سمی را تولید و یا اینکه با نیتریک اکسید واکنش داده و پراکسی نیتريت را ایجاد کند. همه این مولکول‌ها می‌توانند با اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و چربی‌ها واکنش داده و با ایجاد آسیب سلولی در مغز، دژنراسیون نورون‌های دوپامینی را در پی داشته باشند (۶ و ۷). یکی از روش‌های مدل‌سازی بیماری پارکینسون، تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین (OHDA-۶) است. پس از تزریق ۶-OHDA به داخل استریاتوم و یا دسته مغزی جلویی میانی، کاهش قابل توجه، طولانی‌مدت و پایدار تعداد نورون‌ها در جسم سیاه همان سمت مشاهده می‌شود (۸). آهن به عنوان یک عنصر شیمیایی رایج در زمین، وظایف بسیار مهمی را در بدن انجام می‌دهد. در درجه اول در انتقال اکسیژن از ریه‌ها به بافت‌ها نقش دارد. علاوه بر این، آهن به‌عنوان جزئی از برخی پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در متابولیسم نیز نقش دارد و تعداد زیادی از آنزیم‌ها برای عمل خود به آهن به‌عنوان کوفاکتور نیاز دارند. در میان آنها، آنزیم‌های دخیل در فسفریلاسیون اکسیداتیو، مسیر متابولیکی که مواد مغذی را به انرژی تبدیل می‌کند، هستند. با این حال، آهن در حالت آزاد برای بدن سمی است (۹). کمبود آهن عمدتاً موجب کم خونی می‌شود (۱۰) و به احتمال زیاد این کم خونی فقر آهن است که می‌تواند با اختلالات عملکردی بر رشد شناختی (۱۱)، مکانیسم‌های ایمنی (۱۲)، ظرفیت کاری و پیامدهای نامطلوب برای مادر و نوزاد (۱۳) مرتبط باشد. در مغز، آهن در انتقال اکسیژن، سنتز میلین، تنفس میتوکندری و به‌عنوان یک کوفاکتور برای سنتز انتقال‌دهنده‌های

عصبی و متابولیسم نقش دارد (۱۴). گزارش‌ها نشان می‌دهد که تغییر در هموستاز عناصر کمیاب از جمله آهن، در ایجاد بیماری پارکینسون نقش مهمی خواهد داشت (۱۵ و ۱۶). تغییرات بیومولکولی مشابه آنچه در بیماری‌های پارکینسون وهانتینگتون مشاهده می‌شود، در مدل‌های حیوانی با کمبود آهن تغذیه‌ای نیز گزارش شده است (۱۷ و ۱۸). با این حال، تجمع آهن مرتبط با افزایش سن در مغز نیز همراه با بیماری پارکینسون مشاهده گردیده است (۱۹). با این همه هنوز بدستی ارتباط بین سطح آهن و بیماری پارکینسون شناخته نشده است (۲۰ و ۲۱). با توجه به مطالب ذکر شده، مطالعات انجام شده می‌توانند تأییدی بر نقش اولیه آهن در پاتوژنز بیماری پارکینسون و یا احتمال وجود نقص در متابولیسم سیستمیک آهن در طی روند این بیماری باشد. بنابراین باتوجه به وجود تناقضات و همچنین عدم وجود مطالعه قابل قبولی بروی حیوانات آزمایشگاهی در این زمینه، در این تحقیق ارتباط بین سطح سرمی آهن با شدت علائم رفتاری در مدل حیوانی ۶-هیدروکسی دوپامین بیماری پارکینسون در موش صحرایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۲۳ موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند که در حیوان‌خانه دانشگاه در قفس‌های بزرگ و در اتاقی با درجه حرارت حدود ۲۳ درجه سانتیگراد و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی درحالی که به آب و غذا به صورت نامحدود دسترسی داشتند، نگهداری می‌شدند. تمامی مراحل این تحقیق (با کد اخلاق IR.QUMS.REC.1400.184) بر اساس دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی ارایه شده توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و منطبق با معاهده‌نامه هلسینکی انجام گرفت. موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل (n=۷) -۲- گروه شم (n=۸) (دریافت حلال، سالین حاوی ۲٪ درصد اسید آسکوربیک) و ۳- گروه دریافت‌کننده OHDA-۶ (n=۸). تمامی حیوانات به جز گروه کنترل تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند. جراحی با تزریق ترکیب کتامین و زیلازین (۱۰۰ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلو وزن بدن/ درون صفاقی) انجام شد. به کمک اطلس پاکسینوس و واتسون و با استفاده از سرنگ همیلتون ۱۰ میکرولیتر حلال یا سم ۶-هیدروکسی دوپامین (۴ میکروگرم/میکرولیتر) به دو نقطه از منطقه دسته‌ی میانی مغز قدامی (Medial forebrain bundle; MFB) در نیمکره راست بر اساس مختصات AP:-4, L:-1.8, V:9 و V:8, L:-2, AP:-4.4, TB:-3.3 تزریق گردید (۲۲). ایجاد مدل و شدت پارکینسون توسط آزمون‌های رفتاری چرخش القاء شده با آپومرفین و آزمون سیلندر در هفته‌های سوم، پنجم، هشتم و دهم پس از جراحی مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفت (۲۳).



شکل ۱- برنامه اجرایی و زمان بندی آزمایش‌ها

اعداد، روزهای پس از جراحی و تزریق سم را نشان می‌دهند.

جراحی و در هفته‌های سوم و هفتم پس از آن از دم و در هفته سیزدهم از قلب به دست آمد. خونگیری ابتدا یک بار قبل از جراحی و سپس طی هفته‌های سوم، هفتم (از دم) و سیزدهم (خونگیری از قلب) صورت گرفت. قبل از خونگیری حیوانات با ترکیب کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. پس از انعقاد خون، سرم با استفاده از سانتریفوژ جدا گردید و در دمای ۸۰- تا زمان اندازه‌گیری آهن نگهداری شد. اندازه‌گیری آهن با روش ion selective electrode method (ISE) صورت گرفت (۲۵).

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون ANOVA یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد.

نتایج

از دو آزمون چرخش القاء شده با آپومرفین و سیلندر به منظور اطمینان از ایجاد مدل و همچنین ارزیابی شدت پارکینسون قبل از تزریق سم و هفته‌های دوم، چهارم، ششم و هشتم پس از آن به عمل آمد.

نمودار A-۱ مقایسه میزان چرخش را نشان می‌دهد که قبل از تزریق سم، موش‌ها در هیچ یک از گروه‌ها چرخش معنی‌دار و مشخصی را نشان ندادند. این رفتار در موش‌های گروه کنترل و شم (که سم دریافت نکردند) پس از تزریق سم نیز مشاهده شد. از طرف دیگر، موش‌هایی که سم ۶- هیدروکسی دوپامین به آنها تزریق شده بود، تعداد قابل توجه و زیادی چرخش خالص به سمت نیمکره مقابل تزریق سم نشان دادند. تعداد این چرخش‌ها در هفته‌های هشتم و دهم پس از تزریق سم به میزان قابل توجهی بیش از آن در هفته سوم و پنجم بودند (۳۰ ± ۱۶۵ در هفته سوم، ۴۰ ± ۲۰۰ در هفته پنجم، ۴۵ ± ۲۴۵ در هفته هشتم و ۳۵ ± ۲۷۵ در هفته دهم).

همان طوری که در نمودار B-۱ مشاهده می‌شود قبل از تزریق سم نمره عدم تقارن (Asymmetry score) در همه گروه‌ها نزدیک به صفر بود. به

رفتار چرخشی شاخصی برای ارزیابی شدت آسیب و تغییرات نورولوژیک مرتبط با بیماری پارکینسون است. برای اجرای این آزمون موش‌ها ابتدا در داخل یک استوانه پلکسی گلاس شفاف با ابعاد ۲۸ سانتیمتر قطر و ۳۸ سانتیمتر ارتفاع قرار داده شدند و به آنها ۵ دقیقه جهت سازش با محیط زمان داده شد. سپس آپومرفین هیدروکلراید (۰/۵ mg/kg, i.p.) به موش‌ها تزریق شد و ۱ دقیقه پس از آن تعداد چرخش‌ها به طرف محل تزریق سم (عدد منفی) و یا خلاف آن (عدد مثبت) به مدت ۱ ساعت در فواصل ۱۰ دقیقه‌ای ثبت گردید. در پایان تعداد چرخش خالص موش‌ها به یک طرف با جمع جبری اعداد به دست آمده محاسبه شد (۲۳).

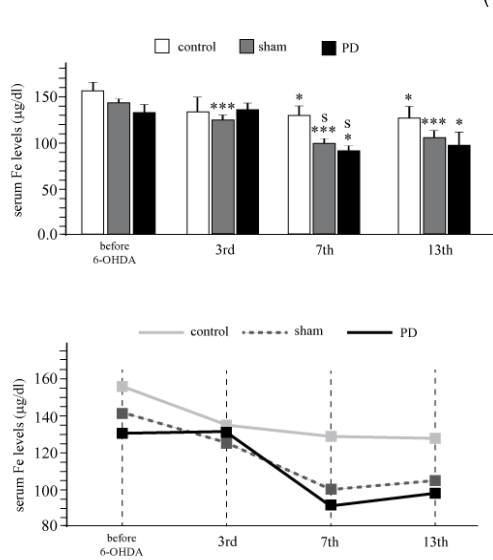
در این آزمون موش‌ها در یک ظرف استوانه‌ای قرار گرفتند (قطر، ۲۸ سانتیمتر، ارتفاع، ۳۸ سانتیمتر) و به مدت ده دقیقه اجازه حرکت آزادانه در محیط را داشتند. در این مدت، تعداد تماس‌های دست راست یا چپ یا هر دو با دیواره ظرف به منظور حفظ تعادل و یا وزن بدن توسط شخصی که برای این آزمایش آموزش دیده بود، شمارش شد. سپس، نمره عدم تقارن با معادله زیر محاسبه شد:

$$I \setminus I + C + B - C \setminus I + C + B = \text{نمره عدم تقارن}$$

که در آن I و C به ترتیب تعداد تماس‌های دست طرف آسیب (نیمکره راست) و یا طرف مقابل (نیمکره چپ) را نشان می‌دهند و B نشان‌دهنده تعداد تماس‌های هر دو دست می‌باشد. امتیازات مربوط به عدم تقارن دست‌ها از ۱- تا ۱+ است. نمرات مثبت و منفی نشان می‌دهند که دست طرف آسیب (راست) و یا دست طرف سالم (چپ) به ترتیب برای تماس با دیواره ظرف غالب بودند. بنابراین انتظار می‌رود که یک موش همی پارکینسونی شده در نیمکره راست نمره عدم تقارن مثبت قابل توجهی را نشان دهد (۲۴).

نمونه‌گیری خون و تهیه سرم در هفته قبل از جراحی و در هفته‌های سوم، هفتم و سیزدهم پس از جراحی انجام گرفت. نمونه‌های خون قبل از

کنترل در خونگیری‌های سوم و چهارم نسبت به خونگیری اول کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$) $0/05$). در گروه شم نیز مقادیر آهن سرمی در خونگیری‌های دوم، سوم و چهارم کاهش چشمگیر و معنی‌داری را نسبت به خونگیری اول داشته است ($P < 0/001$). همچنین مقادیر بدست آمده در خونگیری‌های سوم و چهارم نیز نسبت به خونگیری دوم کاهش معنی‌داری را از لحاظ آماری نشان داده است (به ترتیب $P < 0/01$ و $P < 0/05$). در گروه PD نیز مقادیر سطح سرمی آهن در خونگیری‌های سوم و چهارم نسبت به خونگیری‌های اول و دوم کاهش قابل توجه و معنی‌داری داشته است ($P < 0/05$).

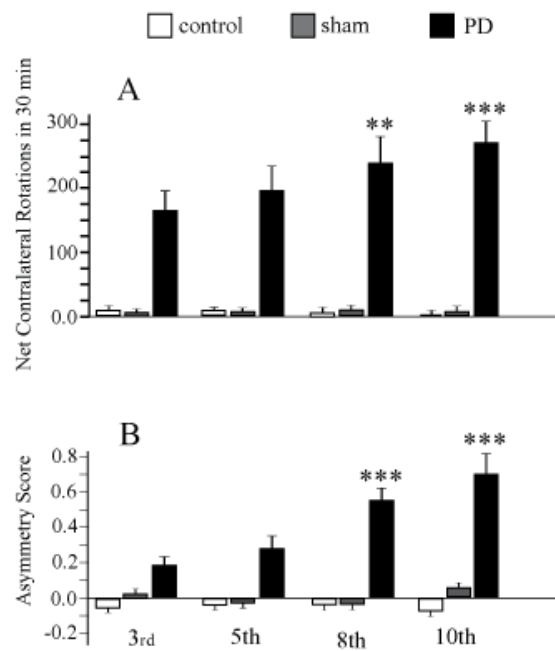


نمودار ۲- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار سطح سرمی آهن در گروه‌های گوناگون آزمایشی در طی چهار خونگیری مختلف

$P < 0/05$ ، * $P < 0/01$ ، ** $P < 0/001$ در مقایسه با خونگیری اول و $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل همان بازه خونگیری.

در موش‌های دریافت‌کننده سم، شدت علائم رفتاری یکسان نبود. به منظور مطالعه بیشتر، این موش‌ها بر اساس تعداد چرخش‌ها در آزمون چرخش القاء شده با آپومرفین، به سه زیر گروه تقسیم شدند. زیر گروه اول موش‌هایی بودند که پس از تزریق سم علائم رفتاری خفیفی (Mild) از خود بروز دادند ($n=2$). زیر گروه دوم موش‌هایی بودند که پس از تزریق سم، علائم رفتاری متوسطی (Moderate) از خود نشان دادند؛ به طوری که، میانگین تعداد چرخش‌های آنان کمتر از ۲۰۰ بار بود ($n=3$). زیر گروه سوم موش‌هایی بودند که پس از تزریق سم علائم رفتاری شدیدی (Severe) از خود نشان دادند که میانگین چرخش این گروه از موش‌ها بیش از ۲۰۰ بار بوده است ($n=3$). نمودار (۳) نتایج شدت چرخش القاء شده با آپومرفین و ارتباط آن با سطح سرمی آهن را در این زیر گروه‌ها نشان می‌دهد. بر اساس نتایج، اختلاف معنی‌داری در سطح سرمی آهن بین زیر گروه‌ها مشاهده شد؛ به گونه‌ای که هر چه علائم رفتاری شدیدتر بود، سطح سرمی آهن کاهش بیشتری می‌یافت.

این معنا که موش‌ها ارجحیتی در استفاده از یک دست برای لمس دیواره ظرف آزمایش نداشتند. در گروه‌های کنترل و شم نمره در آزمون‌های پس از تزریق سم نیز نزدیک به صفر بود. ولی، در گروه دریافت‌کننده سم (پارکینسونی PD) این نمره به شدت افزایش یافت و به $0/19 \pm 0/05$ در هفته دوم، $0/29 \pm 0/08$ در هفته چهارم، $0/58 \pm 0/05$ در هفته ششم و $0/71 \pm 0/11$ در هفته هشتم رسید. این اعداد به این معنا می‌باشند که موش‌های دریافت‌کننده سم تمایل داشتند بیشتر از دست راست خود برای لمس دیواره ظرف آزمایش استفاده کنند.

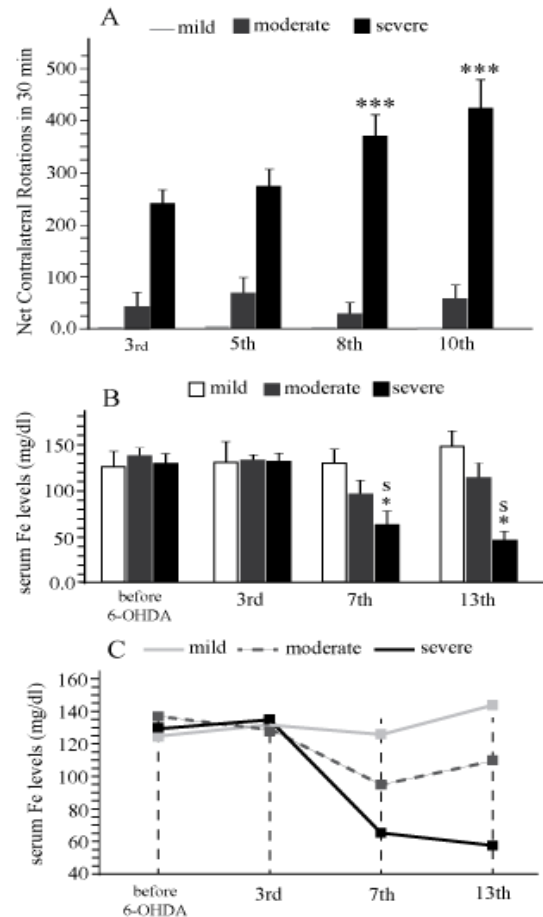


نمودار ۱- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار میزان چرخش‌ها در آزمون چرخش القاء شده توسط آپومرفین در گروه‌های آزمایشی در هفته‌های سوم، پنجم، هشتم و دهم پس از جراحی (A) و نتایج آزمون سیلندر در این گروه‌ها در هفته‌های مذکور (B)

* $P < 0/01$ ، ** $P < 0/001$ در مقایسه با هفته سوم.

نتایج سطح سرمی آهن را در زمان‌های مختلف آزمایش در نمودار ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، در خونگیری اول که قبل از جراحی و تزریق سم صورت گرفته است مقادیر به دست آمده تقریباً همگی همگن بودند و هیچ اختلاف معنی‌داری در مقادیر آهن سرمی در بین گروه‌ها مشاهده نمی‌شد. از این رو می‌توان آن را به عنوان مقادیر طبیعی آهن سرمی در موش‌های صحرائی در نظر گرفت. میانگین سطح سرمی آهن در خونگیری اول برابر با $4/6 \pm 142/5$ mg/dl بود. کمترین و بیشترین مقدار به ترتیب ۹۶ و ۱۸۴ mg/dl بوده است. در خونگیری‌های دوم، سوم و چهارم تقریباً در تمامی گروه‌های مورد مطالعه مقادیر سطح سرمی آهن نزولی بود و میانگین سطح سرمی آهن در گروه

نتیجه روند پیری طبیعی در موش‌ها باشد. بر اساس مطالعات، یکی از علل اصلی کمبود آهن بدن از دست دادن خون به هر نحوی است (۲۶). بنابراین، عمل جراحی و خونریزی ناشی از آن در موش‌های گروه شم می‌تواند یکی از علل کاهش‌دهنده سطح آهن سرمی در آنها باشد. همچنین، خونگیری‌های متعدد نیز احتمالاً یکی دیگر از عوامل کاهش‌دهنده آهن سرمی در تمامی گروه‌ها بوده است. از طرف دیگر اثبات شده که کمبود آهن در سنین بالا شایع‌تر است (۲۷). بنابراین، پیری موش‌ها نیز می‌تواند یکی دیگر از عوامل کاهش سطح آهن در سایر گروه‌ها باشد. البته کاهش سطح سرمی آهن در موش‌های پارکینسونی از موش‌های غیر پارکینسونی به مراتب بیشتر بود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که کهولت سن و ابتلا به بیماری پارکینسون موجب تشدید بیشتر کاهش آهن در موش‌های پارکینسونی شدید شده است و لذا شیب این کاهش در گروه موش‌های پارکینسونی بیشتر از موش‌های سایر گروه‌ها بوده است. مطالعات متعددی نشان داده اند که علائم رفتاری پارکینسونیسم القاء شده توسط سم ۶-هیدروکسی دوپامین، بویژه رفتار چرخشی، ناشی از مرگ یک طرفه نورون‌های دوپامینرژیک در بخش متراکم جسم سیاه در مغز میانی می‌باشد (۲۸). البته شدت علائم رفتاری لزوماً همبستگی مثبت با شدت مرگ این نورون‌ها ندارد و شدت‌های خفیف تا متوسط مرگ نورون‌های دوپامینرژیک ممکن است سبب بروز رفتار چرخشی نشود که داده‌های ما نیز مؤید این نکته می‌باشد (۲۹). مطالعات انسانی انجام شده در مورد ارتباط بین سطح سرمی آهن و بیماری پارکینسون، نتایج یکسان و همگونی نداشته‌اند، نتایج مطالعه ما تأییدکننده آن بخش از مطالعات انسانی می‌باشد که سطح سرمی آهن در بیماران پارکینسونی را نسبت به گروه کنترل کمتر گزارش کرده و بیان نموده‌اند که به مرور زمان و طی پیشرفت بیماری پارکینسون، سطح آهن سرم به تدریج در بیماران کاهش می‌یابد. در همین زمینه، مادنی و همکاران با مطالعه روی ۳۳ مرد و ۲۷ زن پارکینسونی و مقایسه آنها با گروه کنترل دریافتند که یک رابطه معکوس بین طول مدت علائم بیماری با سطح سرمی آهن، فریتین، هموگلوبین و هماتوکریت بیماران وجود دارد به طوری که هرچه طول مدت بیماری و شدت آن افزایش پیدا می‌کند، سطح آنها نیز کاهش می‌یافت (۳۰). در مطالعه‌ای دیگری که توسط صدیقی و همکارش روی ۳۴ بیمار پارکینسونی انجام شد، سطح سرمی آهن در بیماران پارکینسونی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت (۳۰). همچنین، آدانی و همکاران طی یک متآنالیز، به این نتیجه رسیدند که سطوح پلاسمایی/ سرمی آهن پایین‌تر ولی در مقابل، محتوای آهن CSF در بیماران پارکینسونی بالاتر می‌باشد (۳۱). همچنین هجدی و همکاران سطوح پایین‌تر آهن و زینک پلازما/ سرم و CSF را در بیماران پارکینسونی مزمن گزارش کرده‌اند (۳۲). در مقابل، در مطالعه فوکوشیما و همکاران آهن سرم به شکل قابل ملاحظه‌ای در بیماران PD نسبت به گروه شاهد بالاتر بوده



نمودار ۳- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار نتایج آزمون چرخشی (A) و سطح سرمی آهن (B, C) در موش‌های دریافت‌کننده سم: mild (بدون علائم رفتاری)، moderate (علائم متوسط) و severe (با علائم شدید) سطح سرمی آهن در موش‌هایی که علائم رفتاری بیشتری از خود نشان می‌دادند پایین‌تر بود. $P < 0.05$ در مقایسه با خونگیری اول و $S: P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل در همان زمان خونگیری. $P < 0.001$:*** در مقایسه با هفته سوم پس از جراحی برای آزمون چرخش القاء شده با اپومرفین.

بحث

مهمترین یافته این مطالعه، کاهش معنی‌دار میزان آهن سرم در موش‌های پارکینسونی شده با ۶-OHDA در طول مطالعه بود، هرچند که سطح سرمی آهن به مرور زمان در همه گروه‌ها نیز کاهش یافت، البته این کاهش در موش‌های دریافت‌کننده سم به مراتب بیشتر از گروه کنترل بود. براساس نتایج، میزان کاهش سطح آهن سرم با شدت پارکینسون ارتباط دارد، به طوری که میزان آهن سرم در موش‌های پارکینسونی با علائم رفتاری شدید به طور معنی‌داری از موش‌های پارکینسونی با علائم رفتاری خفیف کمتر بود. از طرف دیگر سطح سرمی آهن در گروه شم نیز کاهش قابل ملاحظه‌ای داشت که ممکن است علت آن، اثرات‌کننده جراحی یا

بیماری شان می‌گذرد، نتیجه‌ی ابتلا به بیماری است و نه دلیل آن و علت آن هم احتمالاً وضعیت تغذیه‌ای ناکافی یا تغییرات متابولیسم این عناصر کمیاب در اثر پیشرفت بیماری می‌باشد (۴۰-۳۹). به‌طور خلاصه، داده‌های این تحقیق نشان می‌دهند که پارکینسون با تغییراتی در غلظت آهن سرم همراه است که میزان این تغییرات با شدت علائم رفتاری همبستگی دارد به‌طوری که در موش‌های با علائم خفیف رفتاری میزان تغییر در آهن سرم بسیار اندک است ولی در موش‌های با علائم پارکینسون شدید، سطح سرمی آهن کاهش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد. از آنجایی که علائم رفتاری شدید بر اثر مرگ بیشتر نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه ایجاد می‌شود، بنابراین تغییرات غلظت آهن نمی‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر دقیق برای تشخیص زود هنگام این بیماری در نظر گرفته شود. اگرچه در این مطالعه سطح آهن سرم با گذشت زمان در موش‌های پارکینسونی شده کاهش می‌یافت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین که هزینه انجام این تحقیق را تأمین نمودند کمال قدردانی و تشکر را دارند.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اعلام می‌دارند که نتایج گزارش شده در تحقیق حاضر، در هیچ مجله دیگری منتشر نشده است و کلیه ملاحظات اخلاقی مرتبط با نگارش و تحقیق رعایت شده است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی در انتشار این مقاله وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در تهیه مفهوم، طراحی، انجام پژوهش، تحلیل، نگارش و بازنگری مقاله مشارکت داشته‌اند.

حمایت مالی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد، بدین‌وسیله از حمایت این معاونت محترم در تأمین مالی مطالعه جاری قدردانی می‌شود.

References

- Mullin S, Schapira AH. Pathogenic mechanisms of neurodegeneration in Parkinson disease. *Neurol Clin* 2015; 33:1-17. doi: 10.1016/j.ncl.2014.09.010
- Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17013. doi: 10.1038/nrdp.2017.13
- Elisabetta Pupillo, Claudio Cricelli, Francesco Mazzoleni, Iacopo Cricelli, Alessandro Pasqua, Serena Pecchioli, et al. Epidemiology of Parkinson's Disease: A Population-Based Study in Primary Care in Italy. *Neuroepidemiology* 2016;47:38-45. doi: 10.1159/000448402

است (۲۱). همچنین، تاکاهاشی و همکاران میزان بالاتر آهن سرمی را در بیماران پارکینسونی با طول مدت بیشتر بیماری گزارش کرده‌اند (۳۳). مجموع این مطالعات نشان می‌دهد که سطح سرمی / پلاسمایی آهن می‌تواند در بیماری پارکینسون تغییر کند. حال اینجا یک سوال مهم و اساسی مطرح می‌شود که آیا تغییر در سطح سرمی آهن یک پیش‌درآمد و عاملی برای ایجاد یا پیشرفت بیماری پارکینسون بوده است و یا اینکه این تغییر نتیجه و معلول این بیماری می‌باشد. مطالعات عصب شناختی و تصویربرداری، تجمع آهن را در جسم سیاه بیماران پارکینسونی نشان داده‌اند. تجمع آهن، تولید رادیکال‌های آزاد را تسریع می‌بخشد و در پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت آسیب و مرگ نورونی وابسته به استرس اکسیداتیو نقش دارد (۱۴، ۲۵ و ۳۴). در بیماران پارکینسونی گیرنده‌های لاکتوفیرین افزایش می‌یابد که این افزایش توسط سطح پایین سرمی فریتین و ترانسفرین و ناهماهنگی در متابولیسم آهن ایجاد می‌شود (۳۶). یکی از عملکردهای فریتین در مغز برداشت آهن اضافی است. سطح فریتین در جسم سیاه بیماران پارکینسونی به شکل غیرطبیعی پایین‌تر گزارش شده است. بنابراین این برداشت آهن اضافی و سم زدایی در بیماران پارکینسونی به خوبی اتفاق نمی‌افتد (۳۷). یک رابطه معکوس بین طول مدت بیماری با سطح سرمی آهن و فریتین بیماران وجود دارد؛ به‌طوری که با افزایش مدت بیماری سطح آهن و فریتین کاهش می‌یابد. که در این مورد دو فرضیه مطرح شده است: یکی انتقال تدریجی و مداوم آهن از خون به مغز و دیگری کاهش جذب آهن از روده به علت گاستروپاروزی و سوءتغذیه حاصل از پیشرفت بیماری پارکینسون می‌باشد. بنابراین سطوح کمتر آهن و فریتین سرم در بیماران پارکینسونی ممکن است به‌عنوان یک یافته آزمایشگاهی مطرح‌کننده پیشرفت بیماری در نظر گرفته شود (۲۰). افزون بر این موارد، عنوان شده است که تغییر در میزان عناصر کمیاب، نظیر سلنیم، مس، آهن و روی، می‌تواند از طریق القای گونه‌های فعال اکسیژن روی سیستم عصبی تأثیرات مخربی گذاشته و در اتیولوژی بیماری پارکینسون نقش داشته باشد و به شکل خاص، این تغییر در ناقل‌های فلزی و یا تغییر در سد خونی - مغزی رخ می‌دهد که بر نسبت خون/CSF عناصر کمیاب هم تأثیر می‌گذارد (۳۱). اخیراً یک مکانیسم هم‌افزایی بین آهن و مس با شواهدی مبنی بر تعامل این عناصر با آلفا - سینوکلئین هم پیشنهاد شده است (۳۸). مس و آهن ممکن است بر تجمع این پروتئین، از طریق تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن تأثیر بگذارند. علاوه بر این، توزیع ناقص آهن ممکن است باعث آسیب مغزی شود (۳۱). به‌طور کلی، پیشرفت بیماری پارکینسون با کاهش سطوح در گردش برخی از عناصر کمیاب همراه است بدین معنی که سطوح بالاتر این عناصر در CSF احتمالاً فاکتور خطر برای ایجاد یا تشدید روند بیماری محسوب می‌شود و نه محصول آن. همچنین، سطوح پایین‌تر این عناصر و به‌طور خاص آهن، در تمام بیماران پارکینسونی یا کسانی که مدت زیادی از شروع

4. Roohani M, Ali Shahidi G, Miri S. Demographic study of parkinson's disease in Iran: Data on 1656 cases. *Iran J Neurol* 2011; 10:19-21.
5. Grünewald A, Kumar KR, Sue CM. New insights into the complex role of mitochondria in Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology* 2019;177:73-93. doi:10.1016/j.pneurobio.2018.09.003
6. Cacabelos R. Parkinson's disease: from pathogenesis to pharmacogenomics. *Int J Mol Sci* 2017;18. doi: 10.3390/ijms18030551
7. Yadav A, Agarwal S, Tiwari SK, Chaturvedi RK. Mitochondria: prospective targets for neuroprotection in Parkinson's disease. *Curr Pharm Des* 2014;20:5558-73. doi: 10.2174/1381612820666140305224545
8. Morin N, Jourdain VA, Di Paolo T. Modeling dyskinesia in animal models of Parkinson disease. *Exp Neurol* 2014;256:105-16. doi: 10.1016/j.expneurol.2013.01.024
9. Nantel G, Tontisirin K. Expert consultation on human vitamin and mineral requirements, vitamin and mineral requirements in human nutrition: Report of joint FAO/WHO expert consultation; 2nd ed. Bangkok:2004. FAO/WHO. p.341
10. Wood RJ, Ronnenberg A. Iron. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins;2005.p.248-70.
11. Beard JL, Connor JR. Iron status and neural functioning. *Annu Rev Nutr* 2003;23:41-58. doi: 10.1146/annurev.nutr.23.020102.075739
12. Failla ML. Trace elements and host defense: Recent advances and continuing challenges. *J Nutr* 2003;133:S1443-7. doi: 10.1093/jn/133.5.1443S
13. CDC. Breastfeeding Report Card, United states: Outcome Indicators (Publication, from Centers for Disease Control and Prevention, National Immunization Survey.2010.
14. Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L. The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol* 2014;13:1045-60. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70117-6
15. Giacoppo S, Galuppo M, Calabro RS, D'Aleo G, Marra A, Sessa E, et al. Heavy metals and neurodegenerative diseases: an observational study. *Biol Trace Elem Res* 2014;161:151-60. doi: 10.1007/s12011-014-0094-5
16. Pino JMV, da Luz MHM, Antunes HKM, Giampá SQC, Martins VR, Lee KS. Iron-Restricted Diet Affects Brain Ferritin Levels, Dopamine Metabolism and Cellular Prion Protein in a Region-Specific Manner. *Front Mol Neurosci* 2017;10:145. doi: 10.3389/fnmol.2017.00145
17. Bjorklund G, Stejskal V, Urbina MA, Dadar M, Chirumbolo S, Mutter J. Metals and Parkinson's Disease: Mechanisms and Biochemical Processes. *Curr Med Chem* 2018;25:2198-214. doi: 10.2174/0929867325666171129124616
18. Beard J, Erikson KM, Jones BC. "Neonatal Iron Deficiency Results in Irreversible Changes in Dopamine Function in Rats". *The Journal of Nutrition* 2003;133:1174-9. doi:10.1093/jn/133.4.1174. ISSN 0022-3166
19. Dominic J, Hare KL. Double. "Iron and dopamine: a toxic couple". *Brain* 2016;139:1026-35. doi:10.1093/brain/aww022
20. Madenci G, Bilen S, Arli B, Saka M, Ak F. Serum Iron, Vitamin B12 and Folic Acid Levels in Parkinson's Disease. *Neurochem Res* 2012;37:1436-1441. doi: 10.1007/s11064-012-0729-x
21. Fukushima T, Tan X, Luo Y, Kanda H. Relationship between Blood Levels of Heavy Metals and Parkinson's Disease in China. *Neuroepidemiology* 2010;34:18-24. doi: 10.1159/000255462
22. Minaei A, Sarookhani MR, Haghdoost-Yazdi H, Rajaei F. Hydrogen sulfide attenuates induction and prevents progress of the 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rat through activation of ATP-sensitive potassium channels and suppression of ER stress. *Toxicol Appl Pharmacol* 2021;423:115558. doi: 10.1016/j.taap.2021.115558
23. Sofiabadi M, haghdoost-yazdi H, Mahmudi M, Pri H, Dargahi T, et al. Effect of potassium channel blocker 4-aminopyridine pretreatment on the 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats. *J Inflamm Dis* 2015;19:e155895.
24. Sofiabadi M, Haghdoost-Yazdi H, Piri H, Esmaeili M. B Vitamins Supplement Potentiates Antiparkinsonian Effect of Flunarizine: the Behavioral and Biochemical Evidences From 6-Hydroxydopamine Animal Model. *Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2018;25:414-27.
25. De Marco R, Martizano J. Response of a copper (II) and iron (III) ion-selective electrode bielectrode array in saline media. *Talanta* 2008;75:1234-9. doi: 10.1016/j.talanta.2008.01.018
26. Kumar A, Sharma E, Marley A, Samaan MA, Brookes MJ. Iron deficiency anaemia: pathophysiology, assessment, practical management. *BMJ* 2022;9:e000759. doi: 10.1136/bmjast-2021-00759
27. Romano AD, Paglia A, Bellanti F, et al. Molecular aspects and treatment of iron deficiency in the elderly. *Int J Mol Sci* 2020;21:3821. doi: 10.3390/ijms21113821
28. Yuan H, Sarre S, Ebinger G, Michotte Y. Histological, behavioural and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA lesions as rat models of Parkinson's disease. *J Neurosci Methods* 2005; 144:35-45. doi: 10.1016/j.jneumeth.2004.10.004
29. Iancu R, Mohapel P, Brundin P, Paul G. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behav Brain Res* 2005;162:1-10. doi: 10.1016/j.bbr.2005.02.023
30. Seddiqi B, Mansouri G. Determination of serum iron and TIBC levels in patients with Parkinson's disease in Kerman. *Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2019;9:38-44.
31. Adani G, Filippini T, Michalke B, Vinceti M. Selenium and other trace elements in the etiology of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Neuroepidemiology* 2020;54:1-23. doi: 10.1159/000502357
32. Hegde MI, Shanmugavelu P, Vengamma B, Rao TS, Menon RB, Rao RV, et al. Serum trace element levels and the complexity of inter-element relations in patients with Parkinson's disease. *J Trace Elem Med Biol* 2004;18:163-71. doi:10.1016/j.jtemb.2004.09.003
33. Takahashi S, Takahashi J, Osawa N, Abe T, Yonezawa H, Sera K, et al. Trace elements analysis of serum and cerebrospinal fluid with PIXE-effect of age and changes in Parkinsonian patients. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi* 1994;31:865-71. doi: 10.3143/geriatrics.31.865
34. Long H, Zhu W, Wei L, Zhao J. Iron homeostasis imbalance and ferroptosis in brain diseases. *Med Comm* 2023;4:e298. doi: 10.1002/mco2.298
35. Ullah I, Zhao L, Hai Y, Fahim M, Alwayli D, Wang X, Li H. "Metal elements and pesticides as risk factors for Parkinson's disease - A review". *Toxicol Rep* 2021;8:607-616. doi:10.1016/j.toxrep.2021.03.009
36. Skarzyńska E, Wróbel M, Zborowska H, Kolek MF, Mańka G, Kiecka M, et al. The Influence of Lactoferrin in Plasma and Peritoneal Fluid on Iron Metabolism in Women with Endometriosis. *International Journal of Molecular Sciences* 2023;24:1619. doi: 10.3390/ijms24021619
37. Zeng W, Cai J, Zhang L, Peng Q. Iron Deposition in Parkinson's Disease: A Mini-Review. *Cell Mol Neurobiol* 2024;44:26. doi: 10.1007/s10571-024-01459-4
38. Wise RM, Wagener A, Fietzek UM, Klopstock T, Mosharov EV, Zucca FA, et al. Interactions of dopamine, iron, and alpha-synuclein linked to dopaminergic neuron vulnerability in Parkinson's disease and Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation disorders. *Neurobiol Dis* 2022;175:105920. doi: 10.1016/j.nbd.2022.105920
39. Du K, Liu MY, Zhong X, Wei MJ. Decreased circulating Zinc levels in Parkinson's disease: a meta-analysis study. *Sci Rep* 2017; 7:3902. doi: 10.1038/s41598-017-04252-0
40. Wojtunik-Kulesza K, Oniszcuk A, Waksmundzka-Hajnos M. An attempt to elucidate the role of iron and zinc ions in development of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Biomed Pharmacother* 2019;111:1277-1289. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.140



Evaluation of the Association between Serum Iron Level and 6-Hydroxydopamine-Induced Parkinsonism in Rats

Hashem Haghdoost Yazdi (Ph.D.)¹, Mohammad Sofiabadi (Ph.D.)^{1*}, Mohammad Hossain Esmaeili (Ph.D.)², Monirdokht Mirzadeh (Ph.D.)³, Ashkan Hemmatzadeh (G.P. Student)⁴

1- Associate Professor of Physiology, Non-communicable Diseases Research Center, Research Institute for Prevention of Non-communicable Diseases, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

2- Professor of Physiology, Non-communicable Diseases Research Center, Research Institute for Prevention of Non-communicable Diseases, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

3- Associate Professor of Social Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

4- Student, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

Received: 03 July 2024, Accepted: 31 December 2024

Abstract:

Introduction: Parkinson's is a degenerative brain disease, and changes in the balance of rare elements, particularly iron, are believed to play a key role in its development. Iron is crucial for dopamine production, which is affected by the disease. This study aimed to investigate the relationship between serum iron levels and the development of Parkinson's disease in rat models.

Methods: Twenty-four male rats were divided into three groups: control, sham, and Parkinson's. To induce Parkinson's disease, 4 µg/µL of the 6-hydroxydopamine toxin was injected into the middle frontal brain bundle (MFB) region of the right hemisphere of the rats' brains using stereotaxic surgery. The severity of Parkinsonism was assessed in the third, fifth, eighth, and tenth weeks after surgery using the apomorphine-induced rotation test and the cylinder test. Blood samples were collected once before surgery and three times afterward, and serum iron levels were measured using the ion-selective electrode (ISE) method.

Results: Based on the severity of behavioral symptoms, the rats that received the toxin were divided into three subgroups: mild, moderate, and severe. The serum iron level in the first blood draw was 142.5 ± 4.6 . Serum iron levels decreased in all groups following the injection, with a significant reduction observed in the Parkinson's group compared to the control group. Additionally, serum iron levels were significantly lower in the severe Parkinson's subgroup compared to the mild subtype.

Conclusion: Experimental Parkinson's disease causes a significant decrease in serum iron levels, and the extent of this decrease is related to the severity of behavioral symptoms in rats.

Keywords: Parkinson's disease, Iron, 6-hydroxydopamine, Apomorphine, Middle frontal brain bundle.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: M. Sofiabadi, Email: mohasoft@yahoo.com

Citation: Haghdoost Yazdi H, Sofiabadi M, Esmaeili MH, Mirzadeh M, Hemmatzadeh A. Evaluation of the association between serum iron level and 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2025;19(4):41-48.

