

مقاله پژوهشی

اثر متقابل سیستم نیتروزیک و سیکلواکسیژناز-۲ بر سطح سرمی لپتین در درد نوروپاتی دیابتی در موش صحرایی نر

غلامعلی حمیدی، اژدر حیدری، حمیدرضا بنفشه، سمانه سادات علوی، الهه اربابی، مهسا هادی زاده، سیده مریم حسینی*

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان

پذیرش: ۲۲ اردیبهشت ۹۵

دریافت: ۱۱ اسفند ۹۴

چکیده

مقدمه: درد نوروپاتی دیابتی نوعی درد مزمن است که با حساسیت بیش از حد نسبت به محرک‌های غیر آسیب‌رسان (آلودینیا) و محرک‌های آسیب‌رسان (هایپرآلژیا) مشخص می‌شود. مطالعات مختلف نشان می‌دهند، در نوروپاتی دیابتی نیتریک اکساید، پروستاگلاندین E₂، سایتوکاین‌های پیش التهابی و آدیپوسایتوکاین‌ها مانند لپتین افزایش می‌یابند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر آنزیم سیکلواکسیژناز-۲ و سیستم نیتروزیک بر سطح سرمی لپتین در درد نوروپاتی دیابتی بوده است.

روش‌ها: دیابت در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی با استفاده از استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg، داخل صفاقی) القاء شد. موش‌های دیابتی با استفاده از داروهای سلوکسیب (۵۰ mg/kg)، ال-آرژنین (۵۰ mg/kg) و L-NAME (۵۰ mg/kg) به صورت جداگانه و ترکیب سلوکسیب با ال-آرژنین و سلوکسیب با L-NAME تحت درمان قرار گرفتند. سپس سطح سرمی لپتین ۱۴ روز پس از القای دیابت مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: به غیر از گروه دریافت‌کننده ال-آرژنین در سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری در سطح سرمی لپتین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.001$). سطح سرمی لپتین در گروه دریافت‌کننده ال-آرژنین به طور معنی‌داری افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: مهار سیکلواکسیژناز-۲ سبب کاهش سطح لپتین شده که بخشی از این تأثیرات در ارتباط با سیستم نیتروزیک می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: لپتین، سلوکسیب، سیکلواکسیژناز-۲، نوروپاتی دیابتی، نیتریک اکساید

مقدمه

نوروپاتی دیابتی یکی از شایع‌ترین عوارض دیابت است. درد شدید، کاهش و فقدان حس و به دنبال آن خطر ایجاد زخم و قطع پا از عوارض آن است [۱]. مطالعات مختلف نشان می‌دهند، در نوروپاتی دیابتی نیتریک اکساید، پروستاگلاندین E₂، سایتوکاین‌های پیش التهابی و آدیپوسایتوکاین‌ها مانند لپتین افزایش می‌یابند که نقش بسزایی در ایجاد و تشدید درد نوروپاتی بازی می‌کنند [۲].

لپتین از ژن ob (obesity) در بافت چربی، قلب، مغز و نخاع ساخته می‌شود که دارای یک نقش ضدآپوپتوزی در ناحیه معده و روده باریک از طریق افزایش سنتز نیتریک اکساید (NO) و کاهش میل به دریافت غذا از طریق تأثیر بر سیستم عصبی مرکزی می‌باشد [۳]. لپتین هم‌چنین به عنوان یک سایتوکاین نقش مهمی در رفتارهای درد بازی می‌کند [۴]. در شرایط التهاب و لیپولیز غلاف میلین، تولید پروستاگلاندین E₂ (PGE₂) رهایی لپتین و تجمع آن در محل آسیب‌دیده را باعث می‌شود [۵]. تحقیقات متعدد نشان داده اند تزریق داخل صفاقی لپتین باعث افزایش بیان رسپتورهای NMDA و فعال شدن مسیر STAT3 و تشدید درد نوروپاتیک می‌گردد [۶]. افزایش بیان لپتین توسط افزایش فعالیت آنزیم نیتریک اکساید

* نویسنده مسئول مکاتبات: mmbiologist@gmail.com

وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir

ijpp@phypha.ir

پست الکترونیکی:

پروتئین کینازها شده که خود سبب القا COX-2 و به دنبال آن PGE 2 و متعاقباً لپتین و سایر سایتوکاین ها می شود [۳]. روابط متقابل و چرخه ای آنزیم های دخیل در التهاب و درد ما را بر آن داشت که با مهار آنزیم های دخیل و سرکوب این چرخه، راه های مؤثر در کاهش عوامل التهابی را بررسی نماییم. فرض تحقیق بر این بوده که ترکیبات مورد استفاده با تأثیر بسزایی را در کاهش لپتین به عنوان یک عامل دخیل در التهاب و درد ایفا خواهد کرد.

مواد و روش ها

۷۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر، نژاد ویستار با وزن ۲۲۰-۱۸۰ گرم از حیوان خانه مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه کاشان تهیه شده و در قفس های مختلف و دمای مناسب حیوان خانه و شرایط تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته و دسترسی آسان به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به هفت گروه تقسیم شدند ($n = 10$) که شامل یک گروه کنترل غیر دیابتی، یک گروه کنترل دیابتی و پنج گروه درمانی بود. سه گروه از موش های دیابتی به ترتیب داروهای سلوکسیب (۵ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان)، ال آرژنین (۵۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم) و L-NAME (۵۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم) را به مدت ۱۴ روز دریافت می کردند. در دو گروه آزمایشی دیگر ابتدا سلوکسیب (۵ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم) را ۶۰ دقیقه قبل از داروی ال-آرژنین (۵۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم) و یا L-NAME (۵۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم) دریافت می کردند. در همه گروه ها روز تزریق استرپتوزوسین روز صفر در نظر گرفته شده و تعداد روزهای آزمایش از روز پس از آن محاسبه می گردید. داروی سلوکسیب در حلال کربوکسی متیل سلولز ۰.۵٪ حل شده و گاواژ می شد. ال-آرژنین و L-NAME در نرمال سالین حل شده و به صورت داخل صفاقی تزریق می شد. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد.

روش القاء دیابت

استرپتوزوسین (STZ) در بافر سیترات تازه ۰/۱ مولار با اسیدیته ۴/۵ رقیق شده و با دوز ۶۰ میلی گرم به ازاء هر

سنتاز (NOS) و سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) اتفاق می افتد [۷]. در چنین شرایطی به خاطر تحریک سایتوکاین های پیش التهابی اینترلوکین-۱ بتا ($IL-1\beta$)، اینترلوکین-۶ ($IL-6$) و TNF- α و PGE2 سطح سرمی لپتین افزایش می یابد و درد نوروپاتیک را شدت می بخشد [۷، ۸].

نیتریک اکساید توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (NOS) تولید می شود که تبدیل ال-آرژنین به نیتریک اکساید و ال-سیترویلین را کاتالیز می کند. تاکنون سه ایزو فرم nNOS (نورونی)، eNOS (اندوتلیالی) و iNOS (القاء پذیر) شناخته شده است. تولید نیتریک اکساید به وسیله هر سه نوع آنزیم وابسته به غلظت خارج سلولی اسید آمینه ال-آرژنین است. حضور نیتریک اکساید در شرایط نوروپاتی باعث افزایش شرایط التهابی و پیشرفت آن و افزایش تحریک پذیری فیبرهای عصبی می شود [۹].

سیکلواکسیژناز، آنزیم کاتالیز کننده مسیر تولید پروستاگلاندین ها از اسید آراشیدونیک است و دارای دو ایزو آنزیم سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ می باشد. سیکلواکسیژناز-۱ به طور پایه بیان می شود، در حالی که نوع ۲ القاء پذیر بوده و در بسیاری از شرایط التهابی بیان می شود. افزایش بیان سیکلواکسیژناز-۲ و به دنبال آن افزایش تولید PGE2 باعث تخریب سلول های بتا و القاء دیابت می شود. سیکلواکسیژناز-۲ آنزیم القاء پذیر بوده و در اثر کشش دیواره، فعالیت محرک هایی از جمله میتوژن ها، فاکتورهای رشد، پرو موتورهای توموری، آسیب بافتی، کشش مکانیکی، استرس اکسیداتیو، فعال شدن پروتئین کیناز C (PKC) و در شرایط التهاب مزمن تولید می شود [۱۰].

روابط متقابلی بین آنزیم های COX-2، NOS، سایتوکاین های پیش التهابی و لپتین در تشدید درد نوروپاتی دیابتی وجود دارد و هم زمانی بیان آن ها در پاسخ به تحریکات التهابی در آزمایش های مختلف به اثبات رسیده است. در شرایط التهابی ایزوفرم های القایی COX و NOS باعث تولید سایتوکاین ها، پروستاگلاندین ها و NO می شود [۱۱]. ارتباط بین مسیرهای COX و NOS نشان داده است که NO سبب افزایش فعالیت آنزیم COX شده و به نظر می رسد که آنزیم COX روی سطح خود دارای جایگاه رسپتوری برای NO می باشد. به دنبال افزایش غلظت NO فعالیت آنزیم iNOS و هم چنین تولید آنیون سوپر اکسید افزایش می یابد. NO از طریق واکنش با سوپر اکسید سبب محدود کردن مقادیر داخلی

(پای خود را بلند کرد) آستانه پاسخ به حساب می آید و در صورتی که حیوان به تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نداد عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته شد.

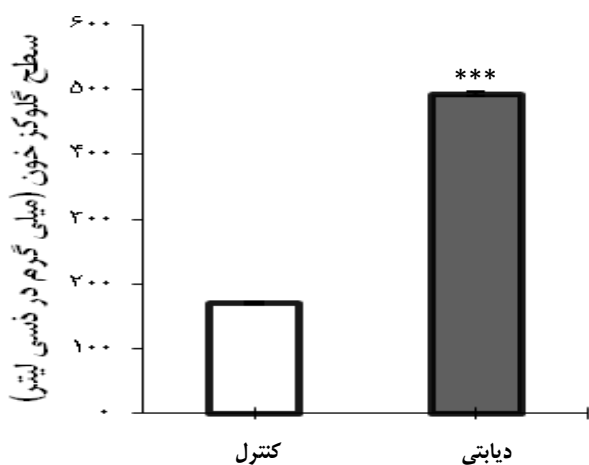
آزمون استون

در این روش حیوانات را بر روی شبکه سیمی قرار داده و مقدار معینی استون به وسیله سرنگ به کف پای حیوان پاشیده شد. این کار ۵ مرتبه تکرار شد که فواصل مراحل ۵ دقیقه یکبار بود تکرار عقب کشیدن های و لیسیدن پا به صورت درصد گزارش شد. در این تست باید دقت شود که حرکت پا ناشی از فشار وارده بر پا بر اثر پاشیدن استون نباشد. پاسخ نتایج ما به صورت تعداد پاسخ مثبت (عقب کشیدن و لیسیدن پا) تقسیم به تعداد تحریکات ضرب در ۱۰۰ بیان شد.

نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده و برای مقایسه گروه ها از آزمون تی-غیر زوج، آنالیز واریانس یک طرفه و Repeated measure متعاقب آن تست توکی (نرم افزار spss نسخه ۲۱) استفاده گردید. سطح $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

آزمون تی-غیر زوج نشان داد که تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین (با دوز ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم) باعث افزایش معنی دار میزان قند خون ($p < 0.001$) نسبت به گروه کنترل شده و موجب دیابتی شدن حیوانات گردید (نمودار ۱).



نمودار ۱ - مقایسه سطح گلوکز خون در گروه های کنترل و دیابتی سه روز بعد از تزریق استرپتوزوسین (۱۰-۸ موش در هر گروه)، مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان شده است. ***: $p < 0.001$.

کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق می شد. سنجش سطح گلوکز جهت تشخیص نمونه های دیابتی با دستگاه گلوکومتر و با نمونه گیری از خون ورید دم حیوان ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ صورت می گرفت. موش های صحرانی که غلظت پلاسمایی گلوکز آن ها بالاتر از ۲۲۰ میلی گرم در دسی لیتر بود، بعد از اطمینان از دیابتی شدن گروه ها تست های رفتاری درد جهت بررسی نوروپاتی روی موش هلی دیابتی انجام می شد. خون گیری نهایی از حیوانات در روز بعد از آخرین دریافت دارو پس از قطع کردن سر حیوان انجام می گرفت. نمونه های خونی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 4°C گذاشته می شدند تا لخته شکل بگیرد؛ و بعد از آن سرم نمونه های خونی با استفاده از سانتریفیوژ (با دور ۳۵۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه) جداسازی شده و تا زمان انتقال به آزمایشگاه برای اندازه گیری سطح سرمی لپتین در دمای 80°C نگهداری می شد. سطح سرمی لپتین با استفاده از کیت آزمایشگاهی ساخت شرکت USCNC (کشور چین) به روش الایزا اندازه گیری شد.

آزمون های رفتاری در قالب دو آزمون

۱- تارهای ون فری (von-Frey) و ۲- آزمون استون انجام شد. قبل از هر کدام از تست ها موش ها به مدت ۳۰ دقیقه در محیط آزمایش قرار گرفتند تا به محیط آزمایش عادت کرده و سپس آزمون ها به ترتیب زیر روی موش ها انجام شد.

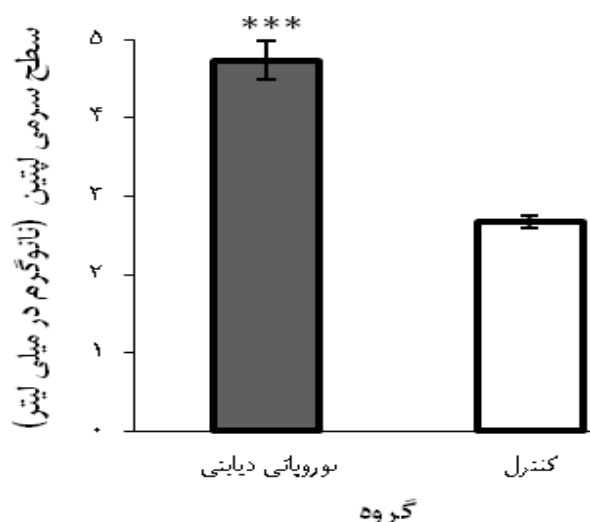
آزمون آلودینیای مکانیکی

برای ارزیابی درد نوروپاتیک از آزمون آلودینیای مکانیکی و تارهای von-Frey استفاده شد. در این روش حیوانات را بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلاستیکی گلاس به ابعاد 20×20 سانتیمتر و ارتفاع ۳۰ سانتیمتر قرار داده و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید از تارهای مختلف von-Frey جهت سنجش آلودینیای مکانیکی استفاده می شد [۱۲]. در این آزمایش از تارهای ۲ تا ۶۰ گرم ساخت شرکت Stolting استفاده شد. این تارها در محدوده ۲-۴-۶-۸-۱۵-۲۶-۶۰ گرم می باشد که نشان گر مقدار نیرویی است که در واحد سطح وارد می کند. از کمترین شماره تار شروع کرده و به ترتیب در صورت عدم پاسخ شماره های بالاتر انتخاب شد. هر تار را سه بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت ۱ ثانیه به کف پای چپ حیوان فشار داده اگر ۲ بار متوالی پاسخ داده

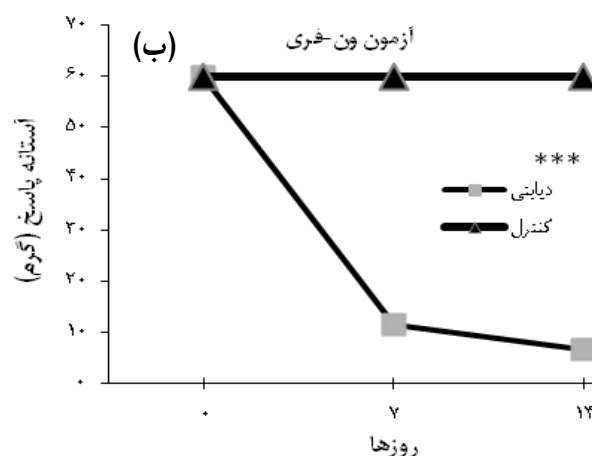
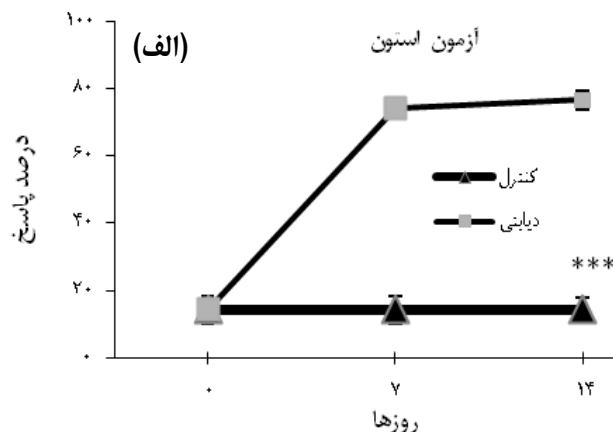
به تنهایی و یا سلکوکسیب همراه با ال-آرژنین یا NAME L- موجب کاهش معنی دار ($p < 0.001$) میزان سرمی لپتین در مقایسه با گروه دیابتی شد (نمودار ۵).

بحث

مطالعات مختلف نشان داده اند نوروپاتی ناشی از دیابت باعث افزایش حساسیت نورون ها و تحریک پذیری آنها در انسان و حیوان شده که با علائم عصبی هایپرآلژیا و آلودینیا خود را نشان می دهد [۱۳]. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که دیابت مزمن در موش صحرایی موجب القا درد نوروپاتیک و ایجاد آلودینیای مکانیکی شده است. تحقیقات گوناگون نشان دادند در شرایط هایپرگلیسمی و متعاقب آن نوروپاتی دیابتی و سایر دردهای نوروپاتیکی مزمن، افزایش تولید سایتوکاین های پیش التهابی و التهابی اثر افزایشی بر تولید لپتین و تجمع آن در محل التهاب و سلول های عصبی آسیب دیده دارد [۳]. همچنین مطالعات زیادی در مدل های حیوانی دیابتی انجام شده که نشان گر افزایش میزان لپتین به دلیل پر اکسیداسیون بافت چربی می باشد [۶]؛ که نتایج تحقیق ما مبنی برافزایش لپتین در موش های نوروپاتی دیابتی با این مطالعات همخوانی داشته اند. مطالعه حاضر نشان داد که تجویز داروها به صورت مزمن باعث تغییر در میزان سرمی لپتین شده است.



نمودار ۳ - مقایسه سطح سرمی لپتین در گروه های کنترل و نوروپاتی دیابتی بعد از ۱۴ روز، (۸-۱۰ موش در هر گروه)، مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان شده است. ***: $p < 0.001$

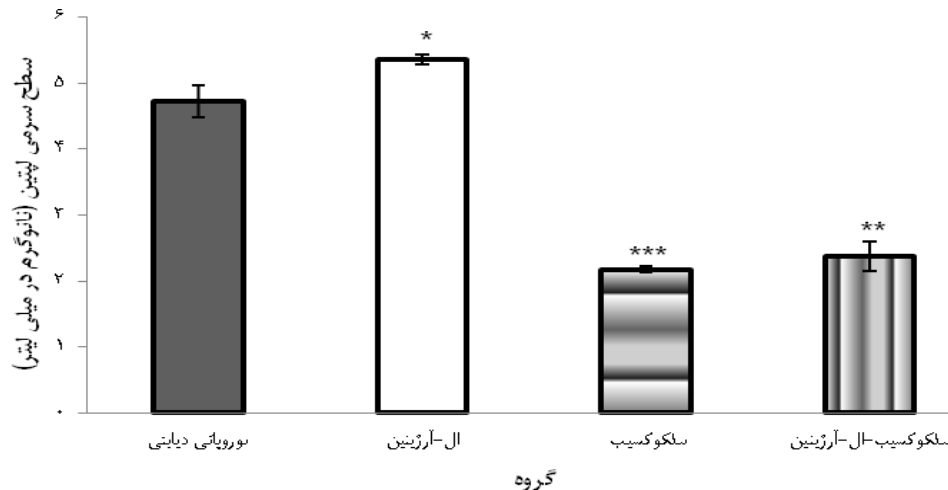


نمودار ۲ - الف - مقایسه پاسخ گروه های دیابتی و کنترل به تحریک ناشی از پاشیدن استون. ب - مقایسه پاسخ گروه های دیابتی و کنترل به تحریک ناشی از تارهای von-Frey (۸-۱۰ موش در هر گروه)، مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان شده است. ***: $p < 0.001$

آزمون های درد آلودینیای مکانیکی و استون نشان داد که در موش های دیابتی شده در اثر افزایش قند خون نوروپاتی معنی داری ($p < 0.001$) ایجاد می شود (نمودار ۲). آزمون - تی غیر زوج نشان داد که سطح سرمی لپتین در موش های نوروپاتی دیابتی به صورت معنی داری ($p < 0.001$) نسبت به گروه کنترل افزایش می یابد (نمودار ۳).

آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد، تزریق داخل صفاقی ال-آرژنین به موش های دیابتی شده سبب افزایش معنی دار ($p < 0.05$) میزان لپتین نسبت به گروه نوروپاتی دیابتی شد (نمودار ۴).

آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون متعاقب توکی نشان داد که تیمار موش های دیابتی شده با سلکوکسیب و NAME L-

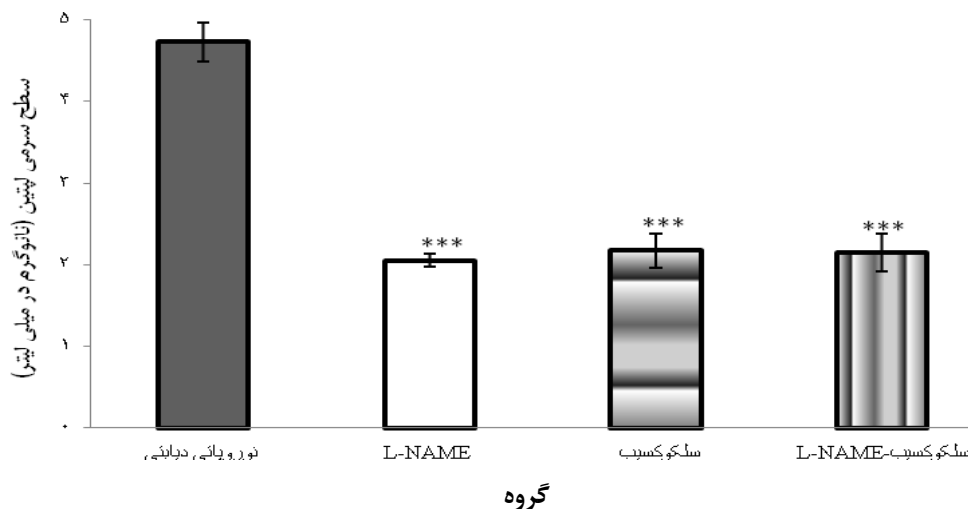


نمودار ۴- مقایسه سطح سرمی لپتین در گروه های نوروپاتی دیابتی و گروه های درمانی دریافت کننده داروهای سلکوسیب و ال-آرژنین به تنهایی و سلکوسیب همراه با ال-آرژنین بعد از ۱۴ روز. (۸-۱۰ موش در هر گروه)، مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان شده است. *: $p < 0.05$ و ***: $p < 0.001$.

Ca^{2+} درون سلولی روی می دهد. در حضور کوفاکتورها و مقادیر لازم از اکسیژن و آنزیم NOS از L-arginine نیتریک اکساید ساخته می شود که به پایانه های عصبی انتشار می یابد و گوانیل سیکلاز را فعال می کند که سبب ساخته شدن گوانوزین مونوفسفات حلقوی (cGMP) از گوانوزین تری فسفات (GTP) می شود [۱۶]. نیتریک اکساید همچنین سیکلوآکسیژناز و لیپوآکسیژناز را فعال می کند که در نتیجه آن آزادسازی پروستاگلاندین ها، لکوترین ها و ماده P و سایتوکاین های پیش التهابی و افزایش لپتین شده که متعاقب آن موجب حساسیت رسپتورها و تولید درد می شوند [۴]. لذا این مکانیسم احتمالی مطالعه ما را مبنی بر افزایش سطح سرمی لپتین در گروه های دریافت کننده ال-آرژنین تأیید کرده است.

با توجه به شواهد موجود، نیتریک اکساید، L-arginine و آزادکننده های نیتریک اکساید مثل سدیم نیتروپروساید چه به صورت اندوژن و چه به صورت اگزوژن باعث التهاب عصبی و رفتارهای ناشی از درد در موش های صحرایی می شود [۱۴]. در همین راستا دیده شد که مهارکننده های آنزیم نیتریک اکساید می تواند عوامل التهابی سایتوکاین ها و آدیپوسایتوکاین ها را تخفیف دهد [۱۵] که مطالعه ما نیز در همین راستا بوده و کاهش سطح سرمی لپتین را نشان می دهد.

فعال شدن آنزیم سنتزکننده نیتریک اکساید یکی از عوامل مهم، در التهابات عصبی و ایجاد درد می باشد. این عمل در نتیجه فعالیت نورون های گلوتاماترژیک و افزایش میزان



نمودار ۵- مقایسه سطح سرمی لپتین در گروه های نوروپاتی دیابتی و گروه های درمانی دریافت کننده داروهای سلکوسیب و L-NAME به تنهایی و سلکوسیب ترکیب با L-NAME بعد از ۱۴ روز (۸-۱۰ موش در هر گروه)، مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان شده است. ***: $p < 0.001$.

این ترکیبات در تغییر سطح سرمی لپتین و کاهش درد نوروپاتیک انجام تحقیقات بیش تری ضرورت دارد.

سپاسگزاری

این مقاله طرح تحقیقاتی شماره ۹۲۱۴۲ تصویب شده در معاونت پژوهشی و پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی کاشان می باشد. بدین وسیله از همکاری و حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان و همکاری جناب آقای دکتر محمد سلیمیان در انجام این طرح کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

غ.ج: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ ا.ح و ح.ب: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله؛ س.س.ع و ا.ا: مشاوره؛ م.ه و س.م.ح: اجرای بخشی از مطالعه.

فهرست منابع

- [1] Calder PC, Albers R, Antoine JM, Blum S, Bourdet-Sicard R, Ferns G, et al. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. *British J Nutr* 101 (2009) 1-45.
- [2] O'Brien PD, Sakowski SA, Feldman EL. Mouse models of diabetic neuropathy. *ILAR J* 54 (2014) 259-272.
- [3] Lim G, Wang S, Zhang Y, Tian Y, Mao J. Spinal leptin contributes to the pathogenesis of neuropathic pain in rodents. *J Clin Invest* 119 (2009) 295-304.
- [4] Wang B, Charukeshi Chandrasekera P, J Pippin J. Leptin-and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes. *Curr Diabetes Rev* 10 (2014) 131-145.
- [5] Drel VR, Mashtalir N, Ilytska O, Shin J, Li F, Lyzogubov VV, et al. The leptin-deficient (ob/ob) mouse a new animal model of peripheral neuropathy of type 2 diabetes and obesity. *Diabetes* 55 (2006) 3335-3343.
- [6] Tian Y, Wang S, Ma Y, Lim G, Kim H, Mao J. Leptin enhances NMDA-induced spinal excitation in rats: A functional link between adipocytokine and neuropathic pain. *Pain* 152 (2011) 1263-1271.

مطالعات گوناگون نقش آنزیم COX-2 را در نوروپاتی دیابتی نشان می دهد که از طریق تولید PG_S و افزایش استرس اکسیداتیو و تشکیل یک حلقه فیدبکی مثبت باعث فعال شدن NF- κ B و التهاب شده که متعاقب آن سطح سرمی لپتین را افزایش می دهد [۹]. لذا چنین به نظر می رسد با مهار بیان COX-2 و یا استفاده از مهار کننده های دارویی می توان از این روند جلوگیری کرده و سطح سرمی لپتین را کاهش داد. با توجه به شواهد موجود، ارتباط بین iNOS و COX-2 بافت ها و در شرایط مختلف پاتوفیزیولوژیکی بسیار متفاوت گزارش شده است [۱۷] به نظر می رسد که مهار غیر مستقیم تولید NO به وسیله سلکوکسیب می تواند سبب بروز اثرات ضدالتهابی آن شود. سیستم نیتروژیک باعث تنظیم بیان COX و PGE2 می شود.

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می دهد که با تجویز ترکیبات ضدالتهابی در موش صحرایی دیابتی مبتلا به درد نوروپاتیک، سطح سرمی لپتین به صورت معنی داری کاهش می دهد. به منظور تایید اثر این ترکیبات و یافتن مکانیسم اثر

- [7] Cooke JP, Losordo DW. Nitric oxide and angiogenesis. *Circulation* 105 (2002) 2133-2135.
- [8] Stadler K. Oxidative stress in diabetes. *Adv Exp Med Biol* 771 (2012) 272-287.
- [9] Van Hecke O, Austin SK, Khan RA, Smith B, Torrance N. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. *Pain* 155 (2014) 654-662.
- [10] Yao D, Taguchi T, Matsumura T, Pestell R, Edelstein D, Giardino I, et al. High glucose increases angiopoietin-2 transcription in microvascular endothelial cells through methylglyoxal modification of mSin3A. *J Biol Chem* 282 (2007) 31038-31045.
- [11] Bolego C, Buccellati C, Radaelli T, Cetin I, Puglisi L, Folco G, et al. eNOS, COX-2, and prostacyclin production are impaired in endothelial cells from diabetics. *Biochem Biophys Res Commun* 339 (2006) 188-190.
- [12] Sullivan KA, Hayes JM, Wiggin TD, Backus C, Oh SS, Lentz SI, et al. Mouse models of diabetic neuropathy. *Neurobiol Dis* 28 (2007) 276-285.
- [13] Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron* 52 (2006) 77-92.
- [14] González-Clemente J, Mauricio D, Richart C, Broch M, Caixas A, Megia A, et al. Diabetic neuropathy is associated with activation of the TNF- α system in

- subjects with type 1 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol* 63 (2005) 525-529.
- [15] Nasirinezhad F, Safarpour S. Antinociceptive effect of ascorbic acid and involvement of nitric oxide in a chronic pain model. *Pharm Sci* 16 (2010) 157-168.
- [16] Vareniuk I, Pavlov IA, Drel VR, Lyzogubov VV, Ilnytska O, Bell SR, et al. Nitrosative stress and peripheral diabetic neuropathy in leptin-deficient (ob/ob) mice. *Exp Neurol* 205 (2007) 425-436.
- [17] Obrosova IG. Diabetic painful and insensate neuropathy: pathogenesis and potential treatments. *Neurotherapeutics* 6 (2009) 638-647.

Research paper

Interaction of nitrenergic system and Cyclooxygenase-2 on serum level of leptin in diabetic neuropathy in male rats

Gholam Ali Hamidi, Azhdar Heydari, Hamidreza Banafshe, Samaneh Sadat Alavi,
Elahe Arbabi, Mahsa Hadizade, Maryam Hosseini*

Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Received: 1 February 2016

Accepted: 11 May 2016

Abstract

Introduction: Diabetic neuropathy is a chronic disease characterized by allodynia and hyperalgesia. Many different studies show that nitric oxide, prostaglandin E2, preinflammatory cytokines and adipocytokines such as leptin increase in diabetic neuropathy. The purpose of this study was to investigate the effect of Cyclooxygenase-2 enzyme and nitrenergic system on serum level of leptin in diabetic neuropathy.

Methods: Diabetes was induced in rats by streptozotocin (60 mg/kg, i.p). Separate groups of rats were treated with celecoxib (5 mg/kg), L-arginine (50 mg/kg), L-NAME (50 mg/kg), combination of celecoxib and L-arginine, and combination of celecoxib and L-NAME. Serum level of leptin was measured 14 days after streptozotocin injection.

Results: The leptin level significant decreased in all experimental groups ($p < 0.01$) except for L-arginine group which showed an increase in the leptin level.

Conclusion: Inhibition of cyclooxygenase 2 can reduce the serum level of leptin in diabetic neuropathy. Nitrenergic system is partly responsible for this effect.

Keywords: Celecoxib, Cyclooxygenase-2, Diabetic neuropathy, Leptin, Nitric oxide

Please cite this article as follows:

Hamidi GA, Heydari A, Banafshe H, Sadat Alavi S, Arbabi E, Hadizade M, Hosseini M, Interaction of nitrenergic system and Cyclooxygenase-2 on serum level of leptin in diabetic neuropathy in male rats. *Iran J Physiol Pharmacol* 1 (2017) 263-270.

*Corresponding author e-mail: mrmbiologist@gmail.com
Available online at: <http://ijpp.phypha.ir>
E-mail: ijpp@phypha.ir