

# بررسی تأثیر ملاتونین بر افسردگی ناشی از دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین در موش صحرایی

## چکیده

**زمینه و هدف:** اختلال در عملکرد سیستم آمینرژیک مرکزی منجر به بروز عارضه افسردگی در بیماری دیابت می‌گردد. با توجه به تأثیرگذاری محدود داروهای ضدافسردگی حاضر، بررسی گزینه‌های درمانی جدید با ویژگی تعدیل‌کنندگی سیستم آمینرژیک مرکزی ضروری بنظر می‌رسد. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثرات احتمالی ضد افسردگی ملاتونین در موش‌های صحرایی دیابتی بود.

**روش کار:** در این مطالعه که از نوع تجربی بود از ۴۰ رأس موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی  $20 \pm 20$  گرم استفاده شد. حیوانات به چهار گروه ده‌تایی: شاهد، ملاتونین، دیابتی و دیابتی دریافت‌کننده‌ی ملاتونین تقسیم شدند. القاء دیابت با تزریق داخل‌صفاقی (i.p.)  $50 \text{ mg/kg}$  استرپتوزوتوسین انجام گرفت. ملاتونین ( $10 \text{ mg/kg/day}$  i.p.) ۷۲ ساعت پس از القاء دیابت، بمدت ۵ هفته تزریق گردید. در پایان دوره تیمار جهت بررسی میزان افسردگی و مکانیسم احتمالی بروز آن، آزمون‌های شنای اجباری پیراسته و آزمون جعبه باز انجام شد. در آزمون شنای مدت زمان حرکات صعودی، شنا و بی‌حرکی و در آزمون جعبه باز تعداد واحدهای حرکتی حیوان محاسبه گردید. تحلیل داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن آزمون توکی HSD با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ انجام گرفت.

**یافته‌ها:** ابتلا به دیابت منجر به افزایش معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) مدت زمان بی‌حرکی و حرکت صعودی طی آزمون شنا (بترتیب بعنوان شاخص‌های افسردگی و فعالیت سیستم نورآدرنژیک) در مقایسه با حیوانات شاهد گردید. مدت زمان شنا (شاخص فعالیت سیستم سروتونرژیک) و میزان فعالیت حرکتی (شاخص فعالیت سیستم دوپامینرژیک) در حیوانات دیابتی در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کاهش یافت. تزریق روزانه ملاتونین به حیوانات دیابتی، شاخص‌های رفتاری مذکور را بطور معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در مقایسه با حیوانات گروه دیابتی تعدیل نمود. ملاتونین میزان فعالیت حرکتی حیوانات غیردیابتی را بطور معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در مقایسه با حیوانات گروه شاهد کاهش داد، در حالی که تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های زمانی حرکات صعودی و شنا و بی‌حرکی در حیوانات غیردیابتی دریافت‌کننده این هورمون نداشت.

**نتیجه‌گیری:** ملاتونین با تعدیل فعالیت سیستم آمینرژیک مرکزی از تشدید افسردگی در بیماری دیابت جلوگیری می‌کند.

کلیدواژه‌ها: ۱- دیابت ۲- ملاتونین ۳- افسردگی ۴- آزمون شنا

\* فرین بابائی I

دکتر صمد زارع II

دکتر رضا حیدری III

دکتر فرح فرخی IV

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۱۵، تاریخ پذیرش: ۸۹/۱/۲۸

## مقدمه

آنها انجام شده است.<sup>(۲)</sup> نوروپاتی یکی از عوارض شایع و خطرناک دیابت است که بیشترین مرگ و میر را در این بیماران به دنبال دارد.<sup>(۳)</sup> در حدود ۷ درصد بیماران دیابتی در سال اول تشخیص دچار اختلالات نوروپاتیک هستند.<sup>(۴)</sup> با گذشت زمان عوارض متعدد نوروپاتی مانند

دیابت قندی شایع‌ترین بیماری آندوکراین است که عوارض حاد و مزمن متعددی را به دنبال دارد.<sup>(۱)</sup> عوارض بیماری دیابت از مشکلات پزشکی محسوب می‌شود و مدت‌هاست که مطالعات زیادی بر روی سزای و کار پیدایش این عوارض و راههای پیشگیری و درمان

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه خانم فرین بابائی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد به راهنمایی دکتر صمد زارع و دکتر رضا حیدری و مشاوره دکتر فرح فرخی در دانشگاه ارومیه، سال ۱۳۸۸.

- (I) کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (\* مؤلف مسؤول)
- (II) دانشیار و دکترای فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- (III) استاد و دکترای بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- (IV) استادیار و دکترای بافت‌شناسی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

نوروهورمون بر افسردگی ناشی از دیابت مورد ارزیابی قرار نگرفته است. در مطالعه حاضر برای اولین بار تأثیر احتمالی ضد افسردگی ملاتونین در شرایط دیابتی بررسی گردید. هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر ملاتونین بر افسردگی ناشی از دیابت در شرایط تجربی بود. برای این منظور از آزمون شنای اجباری پیراسته (Modified forced swimming test) استفاده شد. در این آزمون، مدت زمان بی‌حرکی و حرکات شنا و صعودی به ترتیب شاخص میزان افسردگی، فعالیت سیستم سروتونرژیک و نورآدرنرژیک می‌باشد. همچنین به منظور تشخیص تفاوت بین اثرات ضد افسردگی دارو و تأثیر آن بر میزان فعالیت حرکتی و نیز برای بررسی فعالیت سیستم دوپامینرژیک از آزمون جعبه باز (Open-field test) استفاده شد.

## روش کار

در مطالعه‌ی حاضر که از نوع تجربی بود از ۴۰ رأس موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با محدوده وزنی  $20 \pm 20$  گرم، خریداری شده از مؤسسه پاستور استفاده شد. حیوانات به تعداد ۵ رأس در هر قفس در محیطی با شرایط کنترل شده با دمای  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، رطوبت محیطی  $2 \pm 28\%$ ، شدت نور در مرکز اتاق ۳۰۰ لوکس و دوره‌های متوالی ۱۲ ساعته نور و تاریکی نگهداری می‌شدند. آب و غذای مناسب (کنسانتره) به اندازه کافی در دسترس حیوانات قرار داشت.

موش‌های صحرایی نر به چهار گروه شاهد، ملاتونین، دیابتی و دیابتی دریافت کننده‌ی ملاتونین تقسیم شدند. هر گروه شامل ۱۰ رأس حیوان بود.

القاء دیابت با تزریق داخل صفاقی (i.p)  $50 \text{ mg/kg}$  STZ، حل شده در بافر سیترات  $0.05 \text{ M}$  با  $\text{pH} 4.5$  انجام شد. سنجش قند خون برای تشخیص القاء دیابت، ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین و با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به

اختلالات حافظه و یادگیری، انواعی از درد، اضطراب، ترس، اختلال رفتار تولیدمثلی و افسردگی در بیماران دیابتی بروز می‌کند. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که ۱۰ الی ۳۰ درصد افراد مبتلا به دیابت با عارضه‌ی افسردگی مواجه هستند و احتمال ابتلا به این عارضه در بیماران دیابتی ۲ الی ۳ برابر افراد غیردیابتی است.<sup>(۹)</sup> عوامل متعددی در بروز افسردگی ناشی از دیابت دخالت دارد. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که اختلال در عملکرد سیستم‌های آمینرژیک مغز و کاهش انتقال کارکردی وابسته به ناقل‌های آمینی مانند سروتونین، نوراپی نفرین و دوپامین در سیناپس‌ها یکی از عوامل بروز افسردگی در بیماری دیابت محسوب می‌شود. داروهایی که سطح نوروترنسمیترهای آمینی را در سیستم عصبی مرکزی تعدیل می‌کنند، اثرات ضد افسردگی اعمال می‌نمایند.<sup>(۱)</sup> امروزه انواع مختلفی از داروهای ضد افسردگی شامل مهارکننده‌های منوآمین اکسیداز، ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای و مهارکننده‌های اختصاصی بازجذب منوآمین‌ها وجود دارد. بسیاری از این داروها تأثیرگذاری محدود و عوارض جانبی فراوان دارند و از این رو بررسی ترکیبات جدید با ویژگی ضد افسردگی ضروری می‌نماید.

نوروهورمون ملاتونین، محصول عمده ترشحی غده پینه‌آل، عملکردهای فیزیولوژیکی و رفتاری متعدد از جمله تنظیم ریتم سیرکادین و تولید مثل فصلی و اثرات آنتی اکسیدانی را در بدن پستانداران اعمال می‌نماید.<sup>(۷)</sup> مطالعه‌های بالینی نشان داده‌اند که کاهش تولید و ترشح ملاتونین در بروز اختلالات رفتاری مانند افسردگی نقش دارد.<sup>(۹،۸)</sup> همچنین شواهدی مبنی بر اثرات ضد افسردگی ملاتونین در مدل‌های مختلف حیوانی وجود دارد.<sup>(۱۰،۱۱)</sup> احتمال می‌رود که این هورمون با تأثیر بر قسمت‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی از جمله فعالیت سیستم آمینرژیک مغز اثرات ضد افسردگی خود را اعمال می‌کند.<sup>(۱۱)</sup> گزارش‌های متعدد، حاکی از اثرات حفاظتی ملاتونین علیه عوارض مختلف بیماری دیابت می‌باشد.<sup>(۱۲،۱۳)</sup> با این وجود تاکنون تأثیر این

واحدهای حرکتی حیوان (بعنوان شاخص فعالیت سیستم مذکور) مورد ارزیابی قرار گرفت.<sup>(۱۵)</sup>

۶ ساعت پس از انجام آزمون فعالیت حرکتی، آزمایش شنای اجباری پیراسته انجام گرفت. طی این آزمون هر یک از موش‌های صحرایی به تنهائی در درون محفظه استوانه‌ای (ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر، قطر ۴۰ سانتی‌متر) حاوی آب تمیز (دمای  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر) قرار داده می‌شد. مدت آزمون برای هر حیوان ۱۰ دقیقه بود. ۴ دقیقه ابتدائی آزمون برای تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته شد؛ در ۶ دقیقه پایانی، مدت زمان حرکات صعودی و شنا و بی‌حرکی محاسبه گردید.

رفتار صعودی شامل حرکت مستقیم رو به بالای حیوان در امتداد ارتفاع محفظه شنا می‌باشد؛ رفتار شنا بصورت حرکت (معمولاً افقی) در درون محفظه شنا تعریف می‌شود و رفتار بی‌حرکی عبارتست از وضعیتی که حیوان به حالت سکون در سطح آب شناور می‌ماند و صرفاً حرکات مختصر و ضروری برای بالاتر نگه داشتن سر از آب انجام می‌دهد. در حالت اخیر دست‌کم سه پای حیوان بی‌حرک و حداکثر یکی از پاها بطور مختصر حرکت می‌کند.<sup>(۱۶)</sup>

داده‌های حاصل بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شد. آزمون کولموگروف-اسمیرنوف نشان دهنده توزیع نرمال پارامترهای مورد بررسی بود؛ لذا تحلیل داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن آزمون توکی HSD با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ انجام گرفت. اختلاف با احتمال کمتر از ۰/۰۵ بین گروه‌های آزمایشی از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

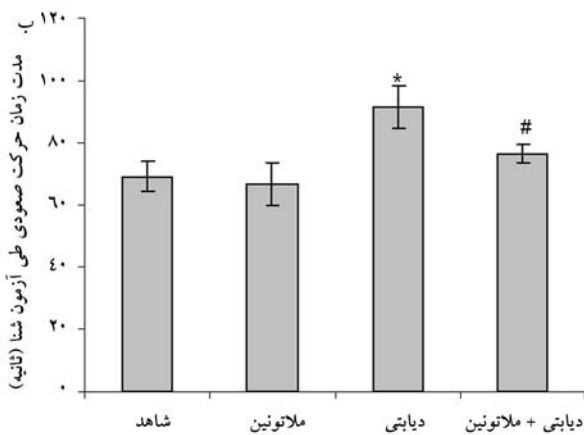
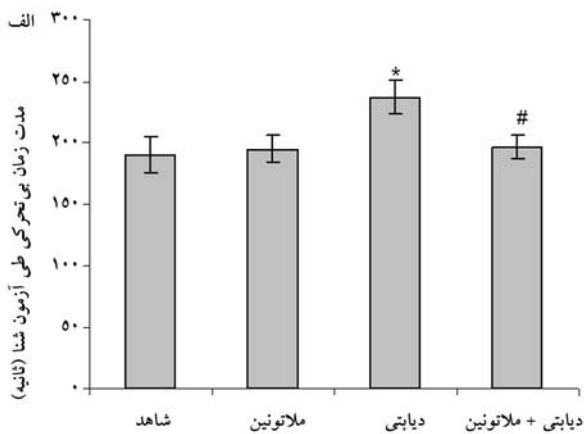
در این مطالعه به منظور حصول اطمینان از کیفیت نتایج آزمونهای بررسی افسردگی، ۴۰ نمونه مدل تجربی (۲ گروه کنترل، ۱ گروه تجربی و یک گروه نرمال و هر گروه مشتمل بر ۱۰ نمونه) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

کمک کیت گلوکومتر (ACON Laboratories, Inc. USA) انجام شد. حیوانات با قند خون بیش از ۲۲۰ mg/dl بعنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. همزمان با تزریق محلول STZ، موش‌های گروه شاهد و ملاتونین، بافر سیترات ۰/۰۵M با pH ۴/۵ بصورت i.p دریافت کردند. تیمار با ملاتونین (۱۰ mg/kg i.p.) بصورت حل شده در سالین حاوی اتانول، از زمان تشخیص القاء دیابت آغاز شد و بمدت ۳۵ روز به ۱۰ رأس از حیوانات غیردیابتی (گروه ملاتونین) و ۱۰ رأس از حیوانات مبتلا به دیابت (گروه دیابتی+ملاتونین) تزریق گردید. حیوانات گروه شاهد و دیابتی در طی این مدت، حامل (سالین حاوی اتانول) دریافت کردند. داروها با حجم ۰/۱ میلی‌لیتر به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن به موش‌های صحرایی تزریق گردید.

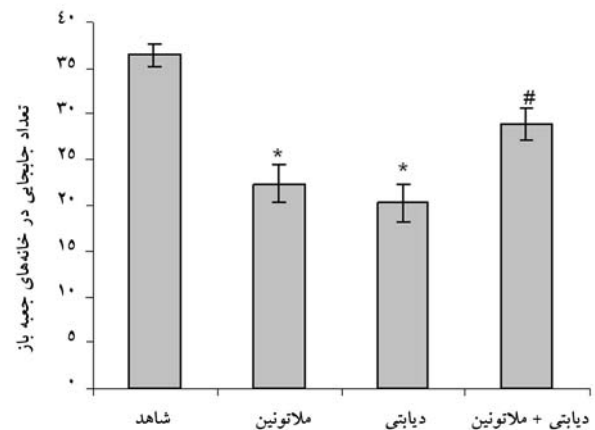
در پایان دوره تیمار جهت بررسی میزان افسردگی و مکانیسم احتمالی بروز آن در موش‌های آزمایشگاهی از آزمون شنای اجباری پیراسته، مطابق با روش Cryan و همکاران استفاده شد.<sup>(۱۴)</sup> تغییرات سیستم دوپامینرژیک نیز با ارزیابی میزان فعالیت حرکتی در آزمون جعبه باز مورد بررسی قرار گرفت.<sup>(۱۵)</sup>

۲۴ ساعت پس از آخرین وهله تیمار، فعالیت حرکتی موش‌های صحرایی تیمار شده در محفظه open-field ارزیابی گردید. این محفظه از جنس ماده‌ای غیرشفاف به ابعاد ۴۵×۴۵×۳۵ سانتی‌متر می‌باشد و سطح داخلی کف محفظه به وسیله خطوط مشخص به ۹ خانه مربعی ۱۵×۱۵ سانتی‌متری تقسیم شده است. عبور حیوان با هر چهار عضو حرکتی خود از یک خانه به خانه دیگر بعنوان یک واحد حرکت تلقی می‌شود. حرکات موش به وسیله دوربین متصل به رایانه از سطح فوقانی دستگاه، تصویربرداری و مورد بازبینی قرار گرفت. مجموع تعداد حرکات هر موش در محفظه طی مدت زمان ۵ دقیقه محاسبه گردید. هدف از انجام این آزمایش بررسی فعالیت سیستم دوپامینرژیک بود، لذا صرفاً تعداد

میزان افسردگی در حیوانات دیابتی بود. همچنین مدت زمان حرکت صعودی طی آزمون شنای اجباری در حیوانات گروه دیابتی ( $91/4 \pm 7$  ثانیه) افزایش معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) را در مقایسه با گروه شاهد ( $69/1 \pm 5$  ثانیه) نشان داد. در حالی که مدت زمان سپری شده برای شنا در حیوانات دیابتی ( $32/1 \pm 5$  ثانیه) بطور معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) در مقایسه با گروه شاهد ( $101/2 \pm 9$  ثانیه) کاهش یافته بود. تزریق روزانه ملاتونین به حیوانات دیابتی، شاخص‌های رفتاری مذکور را به طور معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) در مقایسه با حیوانات گروه دیابتی تعدیل نمود. با این وجود ملاتونین تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های زمانی حرکات صعودی و شنا و بی‌حرکی در حیوانات غیردیابتی دریافت کننده این هورمون نداشت ( $P > 0/05$ ). نتایج این آزمون در نمودارهای شماره ۲- الف، ب و ۲- ج نشان داده شده است.



**تأثیر دیابت و ملاتونین بر فعالیت حرکتی:** فعالیت حرکتی حیوانات به وسیله‌ی دستگاه Open-field مورد بررسی قرار گرفت. تعداد واحدهای حرکتی طی آزمون جعبه باز در حیوانات غیردیابتی دریافت کننده ملاتونین  $22/3 \pm 2$  بود که در مقایسه با گروه شاهد ( $36/4 \pm 1/25$ ) به طور معنی‌دار کاهش یافته بود. ابتلا به دیابت نیز شاخص مذکور را در مقایسه با حیوانات شاهد به طور معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) کاهش داد و به میزان  $20/2 \pm 2$  واحد رساند. علی‌رغم اثر کاهشی ملاتونین بر فعالیت حرکتی موش‌های سالم، تزریق ملاتونین به حیوانات دیابتی به طور معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) از کاهش فعالیت حرکتی در این گروه جلوگیری نمود. تعداد واحدهای حرکتی حیوانات دیابتی دریافت کننده ملاتونین در این آزمون  $28/8 \pm 1/75$  بود. نتایج حاصل در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

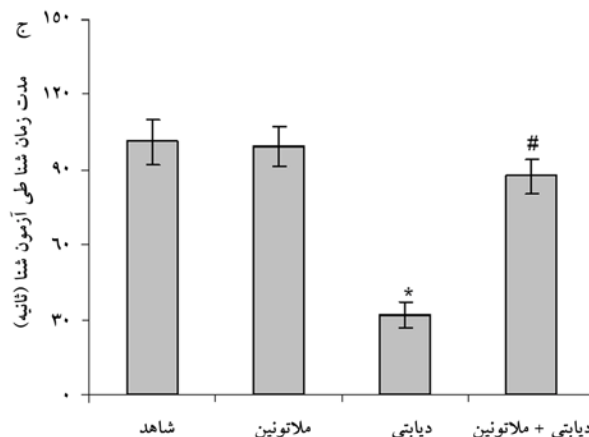


**نمودار شماره ۱-** تعداد جابجایی در خانه‌های جعبه باز طی ۵ دقیقه آزمون. داده‌ها بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای ۱۰ رأس موش می‌باشد (\* تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد و # تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح ۵ درصد).

**تأثیر دیابت و ملاتونین بر میزان بروز افسردگی:** بررسی میزان افسردگی در حیوانات تحت تیمار به کمک آزمون شنای اجباری پیراسته انجام شد. در این آزمون سه پارامتر زمانی حرکات صعودی و شنا و بی‌حرکی ارزیابی گردید. طی این مطالعه ابتلا به دیابت منجر به افزایش معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) مدت زمان بی‌حرکی ( $236/5 \pm 14$  ثانیه) در مقایسه با حیوانات گروه شاهد ( $189/7 \pm 15$  ثانیه) گردید که این امر نشان از افزایش

ملاتونین در حیوانات مبتلا به دیابت است. این در حالی است که ملاتونین علی‌رغم عدم ایجاد تغییر در شاخص‌های آزمون شنا در حیوانات سالم، میزان فعالیت حرکتی را در این گروه به طور معنی‌دار کاهش داد. تفاوت در نتایج حاصل از تزریق ملاتونین به دو گروه حیوانات سالم و دیابتی بیانگر دخالت مکانیسم‌های عملکردی متفاوت طی شرایط طبیعی و پاتوفیزیولوژیک می‌باشد که نیازمند طراحی مطالعات تجربی در راستای بررسی دقیق این مکانیسم‌ها می‌باشد.

پیش از این طی مطالعات بالینی و تجربی، افزایش احتمال ابتلا به افسردگی در شرایط دیابتی نشان داده شده است.<sup>(۲۱-۱۷)</sup> در مطالعه حاضر نیز مدت زمان بی‌حرکی طی آزمون شنا در حیوانات دیابتی بیش از سایر گروه‌ها بود. مکانیسم‌های متعددی جهت توجیه بروز افسردگی در بیماری دیابت مطرح شده است. براساس تئوری منوآمینی، یکی از عوامل ایجاد افسردگی تغییر در میزان نوروترنسمیترهای منوآمین مغزی است. در مطالعه‌ای افزایش مدت زمان بی‌حرکی طی آزمون TST (Tail suspension test)، بعنوان شاخص افسردگی، در موش‌های سوری مبتلا به دیابت مشاهده شد. این وضعیت به تغییرات سیستم سروتونرژیک مغز نسبت داده شده است.<sup>(۱۹)</sup> کاهش چشمگیر غلظت سروتونین و دوپامین مغز از جمله عوامل ایجاد کننده‌ی علائم افسردگی در بیماری دیابت به شمار می‌رود.<sup>(۲۲)</sup> بیماری دیابت منجر به تغییرات متعدد در نورون‌های نورآدرنرژیک و دوپامینرژیک مرکزی می‌گردد<sup>(۲۳)</sup> و میزان سنتز و بازجذب نوراپی‌نفرین و دوپامین را در سیستم عصبی مرکزی متأثر می‌سازد.<sup>(۱۹)</sup> همچنانکه در این مطالعه مشاهده شد مدت زمان شنا در حیوانات دیابتی کمتر از سایر گروه‌ها بود که بر اساس تفسیر مدل حیوانی بررسی افسردگی، این شاخص رابطه مستقیم با میزان فعالیت سیستم سروتونرژیک مرکزی دارد و بیانگر ایجاد اختلال در فعالیت سیستم مزبور به



نمودارهای شماره ۲- شاخص‌های مورد بررسی در آزمون شنای اجباری پیراسته: مدت زمان بی‌حرکی (الف)، مدت زمان حرکت صعودی (ب) و مدت زمان شنا (ج) بر حسب ثانیه. داده‌ها بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای ۱۰ رأس موش می‌باشد (\* تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد و # تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح ۵ درصد).

## بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه تأثیر ملاتونین بر میزان بروز افسردگی ناشی از دیابت در حیوانات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که تجویز ملاتونین به موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت مدت زمان بی‌حرکی و حرکت صعودی را به ترتیب به عنوان شاخص‌های افسردگی و فعالیت سیستم نورآدرنرژیک کاهش داد و مدت زمان شنا را به عنوان شاخص فعالیت سیستم سروتونرژیک افزایش داد. لذا احتمال می‌رود که ملاتونین با تعدیل فعالیت سیستم منوآمینرژیک مرکزی تحت شرایط دیابتی، از میزان ابتلا به افسردگی می‌کاهد. تزریق ملاتونین به حیوانات غیردیابتی تغییر معنی‌داری در شاخص‌های مذکور در مقایسه با حیوانات شاهد ایجاد نکرد. همچنین طی این مطالعه نشان داده شد که ملاتونین میزان فعالیت حرکتی را در حیوانات دیابتی افزایش داد. بنابراین می‌توان استنباط نمود که تأثیر کاهش ملاتونین بر مدت زمان بی‌حرکی طی آزمون شنا در حیوانات دیابتی، ناشی از کاهش میزان فعالیت حرکتی نمی‌باشد و این امر مؤید تأثیر ضد افسردگی

دنبال ابتلا به دیابت می‌باشد.

در خصوص تأثیر فعالیت سیستم نورآدرنژیک و دوپامینرژیک بر بروز علائم افسردگی گزارش‌های متناقضی ارائه شده است.<sup>(۲۴)</sup> در برخی مطالعات کاهش فعالیت سیستم‌های مذکور و در برخی دیگر افزایش فعالیت آن‌ها از عوامل بروز افسردگی به شمار رفته است. در مطالعه Zangen و همکاران نشان داده شد که سطوح نوراپی‌نفرین و دوپامین در نواحی خاصی از مغز در موش‌های مبتلا به افسردگی ژنتیکی (Flinder - FSLR sensitive line rats) تا چندین برابر غلظت طبیعی افزایش می‌یابد.<sup>(۲۵)</sup> همچنین افزایش مدت زمان حرکت صعودی بعنوان شاخص فعالیت سیستم نورآدرنژیک طی آزمون شنای اجباری در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نشان داده شده است.<sup>(۲۶)</sup> با این وجود مطالعه دقیقی در خصوص نقش سیستم نورآدرنژیک در بروز افسردگی ناشی از دیابت انجام نشده است. در این مطالعه نیز افزایش مدت زمان حرکت صعودی در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت مشهود بود.

همچنین در مطالعه حاضر حیوانات دیابتی کمترین میزان فعالیت حرکتی را در مقایسه با سایر حیوانات نشان دادند. طی مطالعه‌ای ارتباط بین کاهش فعالیت حرکتی حیوانات دیابتی در آزمون جعبه باز و کاهش غلظت دوپامین مغز به اثبات رسیده است.<sup>(۲۲)</sup> لذا می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که در این مطالعه احتمالاً اختلال در عملکرد سیستم دوپامینرژیک مرکزی در حیوانات مبتلا به دیابت بوجود آمده است.

پیش از این تأثیر ملاتونین بر مدل‌های حیوانی مبتلا به افسردگی به صورت وابسته به غلظت مورد بررسی قرار گرفته است. معمولاً این نوروهورمون در غلظت‌های پائین دارای اثرات ضد افسردگی است و در غلظت‌های بالاتر باعث القاء یا تشدید افسردگی می‌گردد.<sup>(۲۷، ۲۸ و ۲۹)</sup> با توجه به اینکه در بسیاری از مطالعات انجام یافته، مؤثرترین غلظت داخل صفاقی ملاتونین در کاهش علائم

افسردگی، ۱۰ mg/kg بوده است<sup>(۱۱، ۱۰)</sup> لذا در مطالعه حاضر از این غلظت استفاده شد. غلظت ملاتونین پلاسما در بیماران مبتلا به افسردگی به میزان قابل توجهی کمتر از افراد سالم است.<sup>(۲۹)</sup> این هورمون با مکانیسم‌های متعدد و عموماً از طریق تأثیر بر سیستم آمینرژیک مغز اثرات ضد افسردگی خود را اعمال می‌کند.<sup>(۱۱ و ۱۰)</sup> بر اساس مطالعات پیشین احتمالاً تأثیر ملاتونین بر واکنش رفتاری موش‌های صحرایی حین آزمون شنای اجباری به علت رابطه متقابل این هورمون با نوروترنسمیتر سروتونین مرکزی است.<sup>(۲۸ و ۲۰)</sup> علیرغم این یافته‌ها هنوز تأثیر ملاتونین بر افسردگی ناشی از دیابت مورد مطالعه قرار نگرفته است. در این مطالعه برای اولین بار اثرات بهبود بخش ملاتونین در این خصوص نشان داده شد. افزایش مدت زمان شنا به دنبال تزریق ملاتونین به موش‌های مبتلا به دیابت نشانگر افزایش فعالیت سیستم سروتونرژیک در این گروه از حیوانات بود. بعلاوه ملاتونین مدت زمان حرکت صعودی را در حیوانات دیابتی کاهش داد که بیانگر اثرات کاهش‌دهنده ملاتونین بر میزان فعالیت سیستم نورآدرنژیک بود. پیش از این در خصوص تأثیر ملاتونین بر عملکرد سیستم نورآدرنژیک طی شرایط افسردگی مطالعه‌ای انجام نگرفته است.

بر اساس مطالعات انجام یافته تحریک سیستم دوپامینرژیک منجر به افزایش فعالیت حرکتی می‌گردد.<sup>(۱۵)</sup> قرار گرفتن مداوم در معرض نور از طریق کاهش غلظت ملاتونین مترشح‌ه از پینه‌آل، باعث افزایش عملکرد سیستم دوپامینرژیک می‌گردد.<sup>(۳۱)</sup> ملاتونین دارای اثرات آنتی‌دوپامینرژیک است و تجویز مزمن این هورمون، انعطاف‌پذیری رفتاری ناشی از سیستم دوپامینرژیک را تعدیل می‌کند. ملاتونین با مهار فعالیت سیستم دوپامینرژیک، اثرات کاهش‌دهنده بر فعالیت حرکتی موش‌های صحرایی سالم دارد.<sup>(۳۲ و ۳۱)</sup> این نتایج طی بررسی فعالیت حرکتی حیوانات غیردیابتی دریافت‌کننده‌ی ملاتونین در

فعالیت سیستم موناومینرژیک مرکزی از تشدید افسردگی در بیماری دیابت جلوگیری می‌کند. در مطالعه حاضر برای اولین بار اثرات احتمالی ضدافسردگی ملاتونین در شرایط دیابتی مورد آزمایش قرار گرفت. لذا با توجه به نتیجه مثبت حاصل از این مطالعه، پیشنهاد می‌شود که مکانیسم‌های مختلف دخیل در این امر به کمک داروهای کنترلی با ویژگی ضد افسردگی مانند فلوکستین و ایمپرامین، و آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های مداخله کننده در بروز این عارضه اعم از گیرنده‌های سروتونرژیک، کاتکول‌آمینرژیک، گابائوژیک و NMDA، که همگی گیرنده‌هایی متأثر از هر دو عامل هیپرگلیسمی و ملاتونین هستند، مورد بررسی دقیق‌تر قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از جناب آقای ابراهیم بابائی بالدرلو به خاطر حمایت‌ها و همکاری‌های صمیمانه ایشان در انجام کلیه مراحل این تحقیق ابراز می‌دارند.

مطالعه حاضر مشاهده گردید. با این وجود ملاتونین میزان فعالیت حرکتی را در حیوانات دیابتی افزایش داد. این امر احتمالاً به واسطه اثرات آنتی‌اکسیدانی این هورمون بر نورون‌های دوپامینرژیک مغز رت‌های دیابتی می‌باشد. ملاتونین قادر است با جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از هیپرگلیسمی در سیستم دوپامینرژیک، میزان فعالیت حرکتی حیوانات دیابتی را نزدیک به حد طبیعی حفظ کند.

در این تحقیق، برقراری شرایط هیپرگلیسمی تا پایان آزمایش، تزریق روزانه هورمون ملاتونین رأس ساعت معین و به حداقل رساندن غلظت اتانول مصرفی بعنوان حلال ملاتونین از اهمیت خاصی برخوردار بود. در این رابطه مطالعه حاضر از دقت لازم برخوردار بوده و محدودیتی ایجاد ننموده است. همچنین طی این بررسی مکانیسم‌های افسردگی تحت شرایط دیابتی و متأثر از ملاتونین، با کمک مطالعات رفتاری استاندارد تعیین شد. معهدا بررسی جامع سازوکارهای دخیل در این امر نیازمند طراحی مطالعات تکمیلی دیگر با استفاده از داروهای کنترلی می‌باشد. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که ملاتونین با تعدیل

### فهرست منابع

- 1- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 1998; 15: 539-53
- 2- Tierney LM, McPhee SJ, Papadakis MA. Current medical Diagnosis & Treatment. 48th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2002. p.1203-15
- 3- Veves A, Malik RA. Diabetic Neuropathy: Clinical Management (Clinical Diabetes). 2nd ed. New York: Humana Press; 2007. p.188-98
- 4- Baydas G, Sonkaya E, Tuzcu M, Yaser A, Donder E. Novel role for gabapentin in neuroprotection of central nervous system in streptozotocine-induced diabetic rats. *Acta Pharmacologica Sinica.* 2005; 26: 417-22
- 5- Leonard EE. Effects of depression on work loss and disability bed days in individuals with diabetes. *Diabetes care.* 2004; 27: 1751-753
- 6- Delgado PL. Depression: the case for a monoamine deficiency. *J Clin Psychiatry.* 2000; 61: 7-11
- 7- Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Florez LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: a nerve-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res.* 2007; 42: 28-42
- 8- Pacchierotti C, Iapichino S, Bossini L, Pieraccini F, Castrogiovanni P. Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry. *Front Neuroendocrinol.* 2001; 22: 18-32
- 9- Tuunainen A, Kripke DF, Elliott JA, Assmus JD, Rex KM, Klauber MR, et al. Depression and

- endogenous melatonin in post menopausal women. *J Affect Dissord.* 2002; 69: 149-58
- 10- Mantovani M, Pértile R, Calixto JB, Santos AR, Rodrigues AL. Melatonin exerts an antidepressant-like effect in the tail suspension test in mice: evidence for involvement of N-methyl-D-aspartate receptors and the L-arginine-nitric oxide pathway. *Neurosci Lett.* 2003; 343: 1-4
- 11- Bourin M, Mocaër E, Porsolt R. Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *J Psychiatry Neurosci.* 2004; 29: 126-33
- 12- Peschke E. Melatonin, endocrine pancreas and diabetes. *J Pineal Res.* 2007; 44: 26-40
- 13- Sudnikovich EJ, Maksimchik YZ, Zabrodskaya SV, Kubyshev VL, Lapshina EA, Bryszewska M, et al. Melatonin attenuates metabolic disorders due to streptozotocin-induced diabetes in rats. *Eur J Pharmacol.* 2007; 569: 180-87
- 14- Cryan JF, Page ME, Lucki I. Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test. *Eur J Pharmacol.* 2002; 436: 197-205
- 15- Ablio VC, Vera JAR, Ferreira LSM, Duarte CRM, Martins CR, Torres-Leite D, et al. Effects of melatonin on behavioral dopaminergic supersensitivity. *Life Sci.* 2003; 72: 3003-15
- 16- Sumaya IC, Masana MI, Dubocovich ML. The antidepressant-like effect of the melatonin receptor ligand luzindole in mice during forced swimming requires expression of MT2 but not MT1 melatonin receptors. *J Pineal Res.* 2005; 39: 170-77
- 17- Téllez-Zenteno JF, Cardiel MH. Risk factors associated with depression in patients with type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res.* 2002; 33: 53-60
- 18- Gavard JA, Lustman PJ, Clouse RE. Prevalence of depression in adults with diabetes. An epidemiological evaluation. *Diabetes Care.* 1993; 16: 1167-178
- 19- Miyata S, Hirano S, Kamei J. Diabetes attenuates the antidepressant-like effect mediated by the activation of 5-HT1A receptor in the mouse tail suspension test. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi.* 2004; 24: 159-63
- 20- Hilakivi-Clarke LA, Wozniak KM, Durcan MJ, Linnoila M. Behavior of streptozotocin-diabetic mice in tests of exploration, locomotion, anxiety, depression and aggression. *Physiol Behav.* 1990; 48: 429-33
- 21- Gomez R, Barros HM. Ethopharmacology of the antidepressant effect of clonazepam in diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2000; 66: 329-35
- 22- Bellush LL, Reid SG, North D. The functional significance of biochemical alterations in streptozotocin-induced diabetes. *Physiol Behav.* 1991; 50: 973-81
- 23- Figlewicz DP, Brot MD, McCall AL, Szot P. Diabetes causes differential changes in CNS noradrenergic and dopaminergic neurons in the rat: a molecular study. *Brain Res.* 1996; 736: 54-60
- 24- Dailly E, Chenu F, Renard CE, Bourin M. Dopamine, depression and antidepressants. *Fundam Clin Pharmacol.* 2004; 18: 601-7
- 25- Zangen A, Overstreet DH, Yadid G. Increased catecholamine levels in specific brain regions of a rat model of depression: normalization by chronic antidepressant treatment. *Brain Res.* 1999; 824: 243-50
- 26- Khanam R, Pillai KK. Effect of chromium picolinate on modified forced swimming test in diabetic rats: involvement of serotonergic pathways and potassium channels. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2006; 98: 155-59
- 27- Wong PT, Ong YP. Acute antidepressant-like and antianxiety-like effects of tryptophan in mice. *Pharmacology.* 2001; 62: 151-56
- 28- Micale V, Arezzi A, Rampello L, Drago F. Melatonin affects the immobility time of rats in the forced swim test : The role of serotonin neurotransmission. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2006; 16: 538-45
- 29- McIntyre IM, Judd FK, Norman TR, Burrows GD. Plasma melatonin concentrations in depression. *Aust N Z J Psychiatry.* 1986; 20: 381-83
- 30- Cardinali DP, Pandi-Perumal SR, Srinivasan V. Circadian control by serotonin and melatonin receptors: Clinical relevance. 1st ed. Verlag/Switzerland: Birkhäuser Basel; 2008. p. 477-99
- 31- Abílio VC, Freitas FM, Dolnikoff MS, Castrucci AM, Frussa-Filho R. Effects of continuous exposure to light on behavioral dopaminergic supersensitivity *Biol Psychiatry.* 1999; 45: 1622-9
- 32- Durlach-Misteli C, Van Ree JM. Dopamine and melatonin in the nucleus accumbens may be implicated in the mode of action of antidepressant drugs. *Eur J Pharmacol.* 1992; 217: 15-21



## *Effect of Melatonin on Depression in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats*

\*F. Babaii, MS<sup>I</sup>      S. Zare, PhD<sup>II</sup>      R. Heidari, PhD<sup>III</sup>  
F. Farrokhi, PhD<sup>IV</sup>

### *Abstract*

**Background & Aim:** Any disturbance in the function of central aminergic system is the main cause of depression in diabetes. Since most of the available antidepressants have limitations, it is necessary to research other options of treatment. The purpose of this study was the investigation of the possible antidepressant effect of melatonin on diabetic rats.

**Material and Method:** This experimental study involved 40 male Wistar rats weighing 200±20 gr. The animals were divided into four groups: control, melatonin, diabetic, and melatonin-treated diabetic. Experimental diabetes was induced by intraperitoneal (i.p.) injection of 50 mg/kg streptozotocin. 72 hours after diabetes induction, melatonin (10 mg/kg/day, i.p.) was injected for 5 weeks. At the end of administration period, the modified forced swimming test (MFST) and the open-field test were used for evaluation of depression and its possible mechanism. The MFST evaluated climbing, swimming and immobility periods and the locomotor activity was evaluated by the open-field test. The experimental data were statistically analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test, using the software package SPSS v.15.

**Results:** The swimming test shows that diabetes causes a significant ( $p < 0.05$ ) increase in immobility and climbing periods (as depression and noradrenergic system activity indices respectively) as compared with the control group. The swimming time (as serotonergic system activity index) and the locomotor activity (as dopaminergic system activity index) were significantly ( $p < 0.05$ ) decreased in diabetic rats as compared with the control group. Daily melatonin injection to diabetic rats significantly ( $p < 0.05$ ) modified all mentioned behavioral indices as compared with the diabetic group. Melatonin significantly ( $p < 0.05$ ) decreased the locomotor activity in non-diabetic rats as compared with the control group, whereas it did not have any significant effects on swimming, climbing or immobility periods in these animals.

**Conclusion:** Melatonin has antidepressant effects in diabetes through modifying central aminergic system.

**Key Words:** 1) Diabetes      2) Melatonin      3) Depression      4) Swimming Test

*This article is an abstract of Ms. Babaii's thesis advised by Dr. Zare and Dr. Heidari and read by Dr. Farrokhi in partial fulfillment of an MS degree in physiology.*

*I) MS in Physiology. Biology Department. Faculty of Basic Sciences. Urmia University. Urmia, Iran. (\*Corresponding Author)*

*II) Associate Professor of Physiology. Biology Department. Faculty of Basic Sciences. Urmia University. Urmia, Iran.*

*III) Professor of Biochemistry. Biology Department. Faculty of Basic Sciences. Urmia University. Urmia, Iran.*

*IV) Assistant Professor of Histology. Biology Department. Faculty of Basic Sciences. Urmia University. Urmia, Iran.*