

Date preliminare privind unele manifestări ale durerii într-un model de șobolan MPTP-indus a bolii Parkinson

Preliminary data regarding some pain manifestations in a MPTP - induced rat model of Parkinson's disease

Daniela Carmen Ababei¹, R. Lefter², Veronica Bild^{1,4}, Iulia Antioch^{3*},
Ioana Balmus³, A. Ciobica^{3,4}, D. Timofte¹

¹Gr.T.Popa" Medicine and Pharmacy University, Str. Universitatii nr. 16, 700115, Iasi, Romania

²Romanian Academy Iasi Branch, SOP HRD/159/1.5/S/133675 Project, B-dul Carol I, nr. 8, Iasi, Romania

³Alexandru Ioan Cuza" University of Iasi, B-dul Carol I, Nr. 20A, 700506, Iasi, Romania

⁴Laboratory for Experimental and Applied Physiology, Romanian Academy, 700505 Iasi, Romania

* Corespondență: iulia.antioch@gmail.com

Cuvinte cheie: durere, boala Parkinson, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridină, șobolan

Key words: pain, Parkinson's disease, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, rat

Rezumat

Boala Parkinson (BP) este mai puțin cunoscută ca o boală care generează durere, deși durerea este prezentă la 40-80% dintre pacienții cu BP, așa după cum este descris de foarte puține rapoarte în această ramură a cercetării. Mai mult decât atât, la unii pacienți cu BP, durerea este atât de severă și de puțin tratabilă încât maschează simptomele motorii ale bolii. În continuare, durerile în BP rămân în mod frecvent neînțelese și netratabile. De asemenea, studiile privind percepția durerii la modele existente de animale cu BP sunt foarte puține. Noi am indus experimental un model BP la șobolani prin injectarea subcutanată a unei doze de 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridină (MFTP), 20 mg/kg, în timp ce grupul de control a fost tratat cu soluție de clorură de sodiu 0,9%. Testările comportamentale privind durerea au inclus testul plăcii încinse (hot-plate) și a au fost realizate la 7 zile după administrarea MFTP. În acest fel, modelul nostru de șobolan rezultat din tratamentul acut cu o doză scăzută de MFTP, a prezentat o creștere a sensibilității la percepția dureroasă, așa după cum a fost demonstrat de o scădere semnificativă a valorilor timpului de latență pe placa încinsă pentru șobolanii tratați cu MFTP, comparativ cu grupul de control. Astfel, par a fi justificate o serie de studii suplimentare în acest domeniu de cercetare.

Abstract

Parkinson's disease (PD) is less known as a disease causing pain syndromes, although pain is found in 40-80 % of PD patients, as described by the very few reports in this area of research. Moreover, in some PD patients, pain is so severe and intractable that it overshadows the motor symptoms of the disorder. Still, pain in PD frequently goes under acknowledged and undertreated. Also, the studies regarding pain perception in the existing animal models of PD are very few. We experimentally induced the PD model in rats by injecting subcutaneously one dose of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), 20 mg/kg, while the control group received saline. The behavioral testing for pain included the hot-plate task and was performed 7 days after MPTP injection. In this way, our rat model resulted from the acute treatment with a low dose of MPTP, exhibited an increased sensitivity to pain perception, as demonstrated by the significant decrease in the values of the latency time in hot-plate for rats treated with MPTP, as compared to the controls. In this way, further studies in this area of research seem warranted.

1. Introducere

Pe lângă deficiențele motorii descrise în literatură, care includ tremur, rigiditate,

instabilitate posturală sau bradikinezie (Błaszczyk, 1998), există de asemenea simptome non-motorii care afectează pacienții cu BP, cum ar fi tulburări de memorie, a

funcției vezicii urinare, a funcției intestinului și durere (Boivie, 2009).

Deși durerea a fost descrisă ca o componentă a bolii chiar de către Parkinson însuși (Parkinson, 1817), manifestarea dureroasă din BP este foarte puțin înțeleasă, iar numărul de lucrări științifice privind acest subiect este în continuare foarte redus.

Astfel, dacă în 1998 Ford a estimat într-un studiu detaliat că durerea apare la aproximativ 40% dintre pacienții cu BP (Ford, 1998), în 2009 a fost publicat de către Beiske et al. un studiu complex care a inclus 179 de pacienți cu BP în care a fost stabilit faptul că durerea a fost raportată la 83% (Beiske et al., 2009).

Mai mult decât atât, în studiul lui Beiske et al. durerea nu a fost asociată cu vârsta, durata bolii sau severitatea afecțiunii (Beiske et al., 2009), acest lucru făcând și mai dificil de interpretat interacțiunea dintre manifestarea dureroasă și patologia BP.

În general, cinci tipuri de senzații dureroase sunt asociate cu pacienții cu BP: durere musculo-scheletală, durere radicular-neuropatică, durere distonică, durere neuropatică centrală și akatizie (Ford, 1998).

De asemenea, există o serie de rapoarte care afirmă că durerea din BP poate deveni uneori suficient de severă pentru a masca chiar și simptomele motorii ale afecțiunii (Ford, 1998).

În acest context, obiectivul prezentului studiu a fost să determine unele manifestări dureroase prin studii comportamentale specifice pe placa încinsă pe un model de șobolan cu BP indusă de MFTP, comparativ cu un grup de control tratat cu soluție de clorură de sodiu 0,9%.

2. Materiale și metode

Animale

Șobolani adulți masculi Wistar (n=10), cu o masă de 200-250 g și cu o vârstă de aproximativ 20 de săptămâni au fost cazați în grupuri de trei sau patru animale per cușcă și au fost ținuti într-o cameră cu temperatură controlată (22°C) și cu un ciclu de lumină / întuneric de 12:12 ore (începând cu ora 08:00), cu mâncare și apă *ad libitum*.

Șobolanilor li s-a permis să se adapteze la condițiile de mediu experimentale timp de o săptămână înainte de a începe testele comportamentale pe placă încinsă.

Animalele au fost tratate în conformitate cu ghidurile privind bioetica animalelor precizate în *Act on Animal Experimentation and Animal Health and Welfare Act* din România, iar toate procedurile utilizate au respectat Directiva Consiliului Comunității Europene din 24 Nov. 1986 (86/609/EEC).

În studiul nostru experimental am indus un model de BP la șobolani prin injectarea subcutanată a unei doze de MFTP, 20 mg/kg, în timp ce grupul de control a fost tratat cu soluție de clorură de sodiu 0,9% (Le Bars et al., 2001).

Studiile comportamentale pentru durere au inclus teste pe placa încinsă și au fost realizate la 7 zile de la injectarea MFTP.

Testul placii-încinse

Investigarea sensibilității dureroase a fost realizată utilizând o placă încinsă. Un cilindru de plastic a fost utilizat pentru a bloca șobolanul pe suprafața încălzită a plăcii, menținută la 55°C cu ajutorul unui termostat.

Timpul de reacție (timpul de latență) a fost monitorizat pentru două tipuri diferite de comportament: linsul labei și săritul (Arcan et al., 2013).

Analiza statistică

Rezultatele au fost exprimate ca medie \pm eroarea standard a mediei.

Rezultatele au fost analizate statistic printr-o analiză ANOVA unifactorială, iar $p < 0,05$ a fost stabilit ca și criteriu pentru importanță (Georgescu și Dascalu, 2003).

3. Rezultate și discuții

În acest fel, modelul nostru de șobolan cu BP rezultat din tratamentul acut cu o doză mică de MFTP a prezentat o creștere a sensibilității la percepția dureroasă, după cum a fost demonstrat prin scăderea semnificativă a valorilor timpilor de latență pe placa încinsă pentru șobolanii tratați cu MFTP ($F(1,8) = 5, p = 0,041$), comparativ cu grupul de control (Figura 1).

După cum am menționat anterior, timpul de latență este exprimat în secunde și se referă la timpul de reacție la două tipuri diferite de comportament: linsul labei și săritul ($11,5 \text{ s} \pm 1,5 \text{ s}$ la grupul de control față de $6,7 \text{ s} \pm 0,6 \text{ s}$ la grupul tratat cu MFTP).

După cum a fost menționat anterior, în ultima vreme există o creștere semnificativă a interesului pentru manifestările dureroase din BP, în special de când se pare că durerea poate chiar preceda primele semne ale BP, de vreme ce dureri regionale pot apărea înainte de tulburările motorii sau înainte de anumite creșteri ale tonusului muscular (Ford, 1998; Boivie, 2009).

În plus, studiul menționat mai sus al lui Beiske *et al.* a indicat că numai 34% dintre pacienți erau sub medicație analgezică.

Prin urmare, durerea pare a fi o problemă clinică semnificativă în BP și, în plus, de obicei nu este tratată. De asemenea există o creștere a atenției cu privire la conexiunea dintre durere și stresul oxidativ.

În acest fel, în timp ce în ultima vreme stresul oxidativ a fost demonstrat ca fiind implicat în multe afecțiuni degenerative neurologice și psihiatrice, inclusiv în BP (Hrițcu *et al.*, 2008), boala Alzheimer (Pădurariu *et al.*, 2010), schizofrenie (Ciobică *et al.*, 2011) sau depresie (Ștefănescu și Ciobică, 2012), se consideră acum că stresul oxidativ poate contribui, de asemenea, la durerea persistentă (Khalil *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2004; Schwartz *et al.*, 2008).

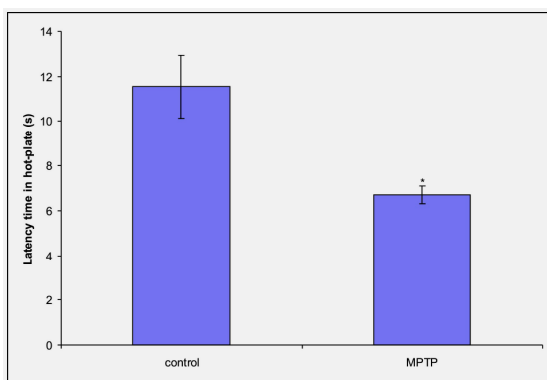


Figura 1. Timpul de latență, exprimat în secunde, în testele de comportament pe placă încinsă.

Rezultatele sunt exprimate ca și medie \pm eroarea standard a mediei (n=7 pentru grupul de control, n=3 pentru grupul MFTP); *p = 0,041 față de grupul de control.

În acest fel, îndepărtarea excesului de specii oxigen reactive de către captatorii de radicali liberi, cum ar fi fenil-N-terț-butilnitronă (PBN) și 4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-oxil (TEMPOL), produce efecte analgezice semnificative atât în durerea neuropatică (Tal, 1996; Kim *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2007), cât și în durerea inflamatorie (Hacimuftuoglu *et al.*, 2006).

În plus, numărul de neuroni prezentând o producție mitocondrială de specii oxigen reactive a fost semnificativ crescut în cornul dorsal spinal lombar al nervului spinal legat la șobolanii neuropatici (Park *et al.*, 2006).

Mai mult, creșterea nivelului extracelular de peroxid de hidrogen a fost de asemenea observat la nucleii spinali trigeminali după injectarea de formol în buza șobolanului, iar această creștere coincide cu comportamentele dureroase (Viggiano *et al.*, 2005).

Suplimentar, a fost demonstrat faptul că superoxid dismutaza care convertește radicalii liberi de superoxid la apă oxigenată, a fost foarte eficient în reducerea indicatorilor inflamației și a hiperalgeziei după injectarea cu caragenan în laba piciorului de șobolan (Wang *et al.*, 2004).

Totuși, în timp ce a devenit clar faptul că speciile oxigen reactive sunt implicate în durerea persistentă, mecanismul prin care acestea contribuie la durere nu este încă elucidat. În acest fel, în timp ce există câteva rapoarte care indică toxicitatea MFTP administrat la șobolani (Lee *et al.*, 1992) și chiar articole care citează unele efecte induse de stresul oxidativ la administrarea de MFTP (Ali *et al.*, 1994), am putea presupune o posibilă relevanță a stresului oxidativ în acest model indus de MFTP și manifestările durerii, după cum a fost studiat în testele comportamentale pe placă încinsă.

Totuși, sunt necesare studii suplimentare pentru a putea confirma aceste aspecte, în special prin utilizarea unui număr mai mare de animale.

4. Concluzii

După cea mai actualizată cunoaștere personală, pentru prima dată în literatură,

datele noastre indică o creștere a sensibilității la durere pentru un model de șobolan cu BP indusă de MFTP.

Astfel, par a fi justificate studii suplimentare în acest domeniu de cercetare.

Mulțumiri

Radu Lefter este susținut de Sectoral Operational Programme Human Resources Development (SOP HRD), finanțat de către European Social Fund și de către Guvernul României sub contractul cu numărul POSDRU/15911.5151133675

Bibliografie

1. **Ali, S.F., David, S.N., Newport, G.D., Cadet, J.L., Slikker, W. Jr.**, (1994), MPTP-induced oxidative stress and neurotoxicity are age-dependent: evidence from measures of reactive oxygen species and striatal dopamine levels. *Synapse*, (18), 27-34.
2. **Arcan, O., Ciobica A., Bild W., Hritcu L., Cojocaru D.**, (2013), The effects of central angiotensin II and its specific blockers on nociception. Possible interactions with oxidative stress status, *J Med Biochem*, (32), 52-58.
3. **Beiske, A.G., Loge, J.H., Rønningen, A., Svensson, E.**, (2009), Pain in Parkinson's disease: Prevalence and characteristics, *Pain*, (141), 173-7.
4. **Błaszczak, J.W.**, (1998), Motor deficiency in Parkinson's disease. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, (58), 79-93.
5. **Boivie, J.**, (2009), Pain in Parkinson's disease (PD). *Pain*, (141), 2-3.
6. **Ciobica, A., Padurariu, M., Dobrin, I., Stefanescu, C., Dobrin, R.**, (2011), Oxidative stress in schizophrenia - focusing on the main markers. *Psychiatr Danub.* (23), 237-45.
7. **Ford, B.**, (1998), Pain in Parkinson's disease, *Mov Disord.*, (25), 98-103.
8. **Georgescu, G., Dascalu, C.**, (2003), Informatica aplicata si biostatistica, Editura Stef, Iasi, 379-380.
9. **Hacimuftuoglu, A., Handy, C.R., Goettl, V.M., Lin, C.G., Dane, S., Stephens, R.L.**, (2006), Antioxidants attenuate multiple phases of formalin-induced nociceptive response in mice. *Behav Brain Res*, (173), 211-6.
10. **Hritcu, L., Ciobica, A., Artenie, V.**, (2008), Effects of right-unilateral 6-hydroxydopamine infusion-induced memory impairment and oxidative stress: relevance for Parkinson's disease, *Central European Journal of Biology*, (3), 250-257.
11. **Khalil, Z., Liu, T., Helme, R.D.**, (1999), Free radicals contribute to the reduction in peripheral vascular responses and the maintenance of thermal hyperalgesia in rats with chronic constriction injury, *Pain*, (79), 31-7.
12. **Kim, H.K., Park, S.K., Zhou, J.L., Tagliatela, G., Chung, K., Coggeshall, R.E. et al.**, (2004), Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain, *Pain*, (111), 116-24.
13. **Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S.W.**, (2001), Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.*, (53), 597-652.
14. **Lee, E.H., Liu, S.P., Lu, K.T., Lin, W.R.**, 1992, Comparative studies of the neurotoxicity of MPTP in rats of different ages. *Chin J Physiol.*, (35), 317-36.
15. **Lee, I., Kim, H.K., Kim, J.H., Chung, K., Chung, J.M.**, (2007), The role of reactive oxygen species in capsaicin induced mechanical hyperalgesia and in the activities of dorsal horn neurons, *Pain*, (133), 9-17.
16. **Padurariu, M., Ciobica, A., Hritcu, L., Stoica, B., Bild, W., Stefanescu, C.**, (2010), Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease, *Neurosci Lett.*, (469), 6-10.
17. **Park, E.S., Gao, X., Chung, J.M., Chung, K.**, (2006), Levels of mitochondrial reactive oxygen species increase in rat neuropathic spinal dorsal horn neurons. *Neurosci Lett*, (391), 108-11.
18. **Parkinson, J.**, (1817), An essay on the shaking palsy. London: Sherwood, Neely, Jones.
19. **Schwartz, E.S., Lee, I., Chung, K., Chung, J.M.**, (2008), Oxidative stress in the spinal cord is an important contributor in capsaicin-induced mechanical secondary hyperalgesia in mice, *Pain*, (138), 514-24.
20. **Stefanescu, C., Ciobica, A.**, (2012), The relevance of oxidative stress status in first episode and recurrent depression, *Journal of Affective Disorders*, (143), 34-8.
21. **Tal, M.**, (1996), A novel antioxidant alleviates heat hyperalgesia in rats with an experimental painful peripheral neuropathy. *NeuroReport*, (7), 1382-4.
22. **Viggiano, A., Monda, M., Viggiano, A., Viggiano, D., Viggiano, E., Chiefari, M. et al.**, (2005), Trigeminal pain transmission requires reactive oxygen species production. *Brain Res*, (1050), 72-8.
23. **Wang, Z.Q., Porreca, F., Cuzzocrea, S., Galen, K., Lightfoot, R., Masini E. et al.**, (2004), A newly identified role for superoxide in inflammatory pain. *J Pharmacol Exp Ther*, (309), 869-78.