اثر حفاظتی عصاره آبی ماریتیغال در مدل بیماری پارکینسون القا شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی نر: ارزیابی رفتاری، بیوشیمیائی و بافت‌شناسی

توراندخت بلوچ‌نژاد مجرد [۱*](Ph.D)، مهرداد روغنی [۲](Ph.D)، مهدی مفاخری [۱](M.Sc)

۱- *دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی*

۲- *دانشگاه شاهد و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی*

چکیده

سابقه و هدف: بیماری پارکینسون یک اختلال نوروپاتولوژیک شایع است که به علت دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه ایجاد می‌شود. با توجه به خاصیت حفاظتی گیاه ماریتیغال، هدف بررسی حاضر بررسی اثر عصاره آبی این گیاه در مدل تجربی بیماری پارکینسون بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تحقیقاتی از نوع تجربی، موش‌های صحرایی (n= ۴۰) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با عصاره، ضایعه دیده و ضایعه دیده تحت درمان با عصاره تقسیم شدند. در این بررسی، مدل اولیه بیماری پارکینسون توسط تزریق ۱۲/۵ میکروگرم ۶ -هیدروکسی دوپامین به داخل استریاتوم طرف چپ ایجاد گردید. دو گروه کنترل و ضایعه دیده تحت درمان، از یک هفته قبل از انجام عمل جراحی استریوتاکسیک، روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی گیاه ماریتیغال (*Silybum marianum*) را به روش داخل صفاقی دریافت کردند. دو هفته پس از جراحی، رفتار چرخشی به‌دنبال تزریق آپومورفین در طی یک ساعت و تعداد نورون‌های بخش متراکم جسم سیاه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: دو هفته بعد از جراحی در گروه ضایعه دیده، آپومورفین موجب بروز رفتار چرخشی به سمت مقابل ناحیه آسیب دیده شد (P<۰/۰۰۰۱) و تعداد نورون‌های بخش متراکم جسم سیاه سمت چپ کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل یافت (P<۰/۰۵). تجویز عصاره آبی گیاه ماریتیغال به گروه ضایعه دیده موجب کاهش تعداد چرخش‌های القا شده به‌وسیله آپومورفین شد (P<۰/۰۵) و کاهش نورون‌های بخش متراکم جسم سیاه را در این گروه تخفیف داد (P<۰/۰۵). از طرف دیگر، تیمار گروه کنترل با عصاره تاثیر معنی‌داری بر تعداد چرخش‌های القا شده به‌وسیله آپومورفین و نورون‌های بخش متراکم جسم سیاه نگذاشت.

نتیجه‌گیری: تجویز داخل صفاقی عصاره آبی گیاه ماریتیغال دارای اثر حفاظتی در برابر توکسیسیتی ۶-هیدروکسی دوپامین در مدل تجربی بیماری پارکینسون است.

واژه‌های کلیدی: ماریتیغال، ماریتیغال، بیماری پارکینسون، ۶-هیدروکسی دوپامین، آپومورفین

مقدمه

بیماری پارکینسون، شایع‌ترین اختلال نوروپاتولوژیک است که در نتیجه دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه و پایانه‌های آن‌ها در استریاتوم به‌وجود می‌آید [۱]. کاهش دوپامین منجر به اختلالات حرکتی و ناتوان کننده متعددی از قبیل برادی کینز، لرزش، سخت شدگی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۸۲۹۴۴۵۷۷-۰۲۱ نمابر: ۸۸۶۲۲۷۰۹-۰۲۱

Email: tmojarad@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۲۰

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

عضلانی و عدم تعادل وضعیتی می‌شود [۲].

عواملی از قبیل استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش سطح گلوتاتیون، تخریب DNA و تجمع آهن از مهم‌ترین علل دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیکی هستند [۳]. استرس اکسیداتیو نه تنها نورون‌های دوپامینرژیکی را تخریب می‌کند بلکه با ایجاد اختلال در فرایند فسفریلاسیون اکسیداتیو و کاهش تولید انرژی منجر به مرگ سلول‌ها می‌شود [۴]. منابع اندوژن استرس اکسیداتیو شامل رادیکال‌های آزاد منتج از متابولیسم دوپامین و ملانین است. رادیکال‌های فعال اکسیژن به طور مداوم در نورون‌های دوپامینرژیک مغز میانی، بر اثر متابولیسم دوپامین توسط آنزیم منو آمین اکسیداز B و یا اتواکسیداسیون دوپامین تولید می‌شوند [۵]. حفاظت در برابر آسیب اکسیداتیو القاء شده بر اثر رادیکال‌های آزاد در سیستم اعصاب مرکزی و از جمله در نورون‌های دوپامینرژیک توسط آنتی‌اکسیدان‌های با وزن ملکولی پائین نظیر ویتامین‌های E و C و ملکول‌های پروتئینی بزرگ از قبیل سوپر اکسید دسموتاز، گلوتاتیون پر اکسیداز و گلوتاتیون احیاء شده انجام می‌شود [۶].

مطالعات نشان می‌دهد که در سطح مولکولی فنل‌های گیاهی از قبیل فلاونوئیدها، فلاونولیگنان‌ها و اسیدهای فنلیک می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های موثر عمل کنند [۷]. گیاه ماریتیغال (*Silybum marianum*) از جمله گیاهانی است که غنی از ترکیبات فنلی فلاونولیگنان (تاکسی فولین، سیلی بین، سیلی دیانین و سیلی کریستین) است [۸]. کمپلکس سیلی مارین موجود در گیاه ماریتیغال با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و تعدیل میزان گلوتاتیون، دارای توانایی حفاظت نورون‌ها در برابر استرس اکسیداتیو است [۹] و با جمع کردن رادیکال‌های آزاد و بافرینگ آهن بر ویژگی‌های غشا سلولی تاثیر می‌گذارد [۱۰]. تحقیقات نشان داده است که عصاره گیاه ماریتیغال رشد القا شده نوریت‌ها تحت تاثیر NGFرا در سلول‌های عصبی PC-12 تشدید می‌کند و عمر این سلول‌ها را در محیط کشت افزایش می‌دهد. عصاره این گیاه هم‌چنین نورون‌های هیپوکامپی کشت داده شده موش صحرایی را در برابر مرگ منتج از استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که گیاه ماریتیغال تمایز و بقا سلول‌های عصبی را بهبود می‌بخشد که این امر اثر مفید این گیاه را بر سیستم عصبی نشان می‌دهد [۱۱]. علاوه بر اثرات حفاظتی فلاونوئیدهای این گیاه در سلول که از اثرات آنتی‌اکسیدانی آن‌ها منتج می‌شود، تعامل آن‌ها با رسپتورها از جمله مهار و تعدیل انتقال‌دهنده‌های دارویی، P-glycoproteins، گیرنده‌های استروژنیک، گیرنده‌های هسته‌ای و غیره نیز گزارش شده است [۱۲]. با توجه به نکات فوق، مطالعه حاضر برا ی اولین بار به منظور بررسی اثر حفاظتی عصاره آبی گیاه ماریتیغال در مدل تجربی بیماری پارکینسون در موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۴۰ راس موش صحرایی نژاد ویستار در محدوده وزنی۲۸۰-۲۲۰ گرم در گروه‌های ۴-۳ تایی تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۳±۲۱ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) دسترسی داشتند و حداقل ۱۰ روز قبل از بررسی جهت سازگاری با محیط به حیوان‌خانه منتقل می‌شدند. اصول این تحقیق بر اساس پروتوکول NIH و اصول اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تهران به انجام رسید. در بررسی حاضر فقط از موش‌هایی استفاده شد که قبل از جراحی هیچ‌گونه رفتار چرخشی بارز (تعداد خالص چرخش کم‌تر از ۳۰ دور در یک ساعت به دنبال تزریق داخل صفاقی ۰/۵ mg/Kg آپومورفین هیدروکلراید) نشان نمی‌دادند.

حیوانات (n=۴۰) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل (Sham-operated,SH)، کنترل تحت تیمار با عصاره (Extract,E) (SH+E)، ضایعه دیده (Lesion,L) و ضایعه دیده تحت درمان با عصاره (L+E) تقسیم شدند. برای بی‌هوشی از مخلوط کتامین (۱۰۰mg/kg) و گزیلازین (۵mg/kg) به فرم داخل صفاقی استفاده شد. حیوانات ضایعه

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

دیده ۵ میکرولیتر از محلول سالین ۰/۹ درصد حاوی µg/µl ۲/۵ از ۶- هیدروکسی دوپامین هیدروکلرید (6-OHDA, Sigma) و اسید اسکوربیک ۰/۲ درصد دریافت می‌کردند و به حیوانات کنترل به همان حجم و غلظت از محلول سالین – اسکوربات تزریق می‌شد. تزریق استریوتاکسیک داخل استریاتوم با مختصات ۹/۲mm = قدامی-خلفی، ۳mm- = جانبی و ۴/۵ mm= شکمی نسبت به سخت شامه [۱۳]، با قرار دادن سر حیوان در دستگاه استریوتاکس (Stoelting, USA) و توسط سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری انجام می‌شد (شکل ۱). حیوانات کنترل و ضایعه دیده از یک هفته قبل از انجام عمل جراحی استریوتاکسیک، روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی گیاه ماریتیغال را به روش داخل صفاقی دریافت می‌کردند.

روش تهیه عصاره آبی گیاه ماریتیغال. پس از شستن برگ‌های تازه گیاه ماریتیغال، آن‌ها را در حرارت آزمایشگاه خشک نمودیم. ۱۰۰ گرم از برگ‌های خشک شده را ساییده به مدت ۱۵ دقیقه پودر حاصل را در یک لیتر آب مقطر در حال جوش جوشاندیم. پس از این مدت، مخلوط حاصل را دو بار با گاز استریل و یک بار با کاغذ صافی صاف کرده، محلول حاصل را بر روی بن ماری روتاری (IKA,Italy) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا یک مایع عسلی با نسبت وزنی ۲۴ درصد به‌دست می‌آمد. عصاره به‌دست آمده را در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری نموده و غلظت‌های مورد نیاز عصاره را با استفاده از محلول سالین سرد ۰/۹درصد تهیه کردیم.

مطالعه رفتاری. بررسی رفتار چرخشی توسط تزریق داخل صفاقی ۰/۵mg/kg آپومورفین هیدروکلراید (Sigma)یک هفته قبل و دو هفته بعد از جراحی انجام شد. برای اندازه‌گیری تعداد دفعات چرخش از روش بیان شده توسط Fujita [۱۴] با مختصر تغییر استفاده گردید. به طور خلاصه حیوانات از ۱۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش به یک محفظه استوانه‌ای مدرج بر حسب زاویه از جنس پلکسی گلاس به قطر ۳۳ و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر منتقل می‌شدند. یک دقیقه پس از تزریق دارو، تعداد چرخش در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه‌ای به مدت ۶۰ دقیقه تحت شرایط آرام توسط یک شمارش‌گر دستی اندازه‌گیری می‌شد. با توجه به ناحیه آسیب دیده، تعدا چرخش ایپسیلترال (چرخش به سمت چپ) به عنوان عدد منفی و تعداد چرخش کنترالترال (چرخش به سمت راست) به عنوان عدد مثبت در نظر گرفته شده و تعداد خالص چرخش به صورت تفاضل چرخش‌ها در دو جهت محاسبه می‌شد.

مطالعه بافتی. پس از اتمام مطالعه رفتاری، جهت فیکس کردن مغز حیوان از روش پرفیوژن ترانس کاردیال استفاده شد. چنان‌که موش‌ها را با دوز بالای کتامین (۱۵۰mg/kg) عمیقا بی‌هوش کرده سپس از طریق آئورت صعودی، ابتدا با ۱۰۰-۵۰ میلی‌لیتر محلول سالین ۰/۹ درصد، پس از آن با ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول فیکساتیو ۴ درصد پارافرمالدئید در بافر فسفات ۰/۱ مول و در پایان با ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مول دارای ساکروز ۱۰ درصد پرفیوز کرده سپس مغزها را از جمجمه خارج نموده و بلوک‌هایی از مغز میانی و استریاتوم تهیه کردیم. به‌دنبال آماده‌سازی نهایی بافتی (قرار دادن بلوک‌ها در محلول ساکروز ۳۰ درصد به مدت ۲ تا ۳ روز)، برش‌هایی به ضخامت ۵۰ میکرومتر با استفاده از Freezing microtome (Leica) تهیه شده و در بافر فسفات ۰/۱ مول جمع‌آوری شد. برش‌ها با استفاده از روش رنگ‌آمیزی نیسل با کرزیل ویوله (Sigma) ۰/۱ درصد رنگ‌آمیزی شدند.

برای هر حیوان حداقل دو برش از هریک از چهار سطح پاکسینوز- واتسون (۴/۲، ۳/۸، ۳/۲ و ۲/۹۷؛ اینتراورال) مورد بررسی قرار گرفت. در ضمن شمارش در مورد کل نورون‌های واقع در ناحیه متراکم جسم سیاه از سمت میانی تا بخش جانبی با هسته واضح و محدوده سیتوپلاسمی مشخص و به صورت یک سو کور یک‌طرفه با استفاده از گرید انجام شد. به‌علاوه شمارش در مورد هر برش حداقل دو بار انجام شد تا خطا به حداقل برسد.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

آنالیز آماری. تمامی داده‌ها بـه صـورت Mean±S.E.M بیان شده است. برای مقایسه نتـایج رفتـار چرخـشی و تعـداد سلول‌ها بین گروه‌های مختلف از آزمون آنـووا یـک طرفـه و پس آزمونTukey استفاده شد. در هـر گـروه مقایـسه تعـداد سلول‌ها در نیمه تزریق شده با نیمه تزریق نشده با اسـتفاده از Student,s t-test مزدوج انجام گردید. در مورد کلیه یافته‌هـا، سطح معنی‌دار، P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

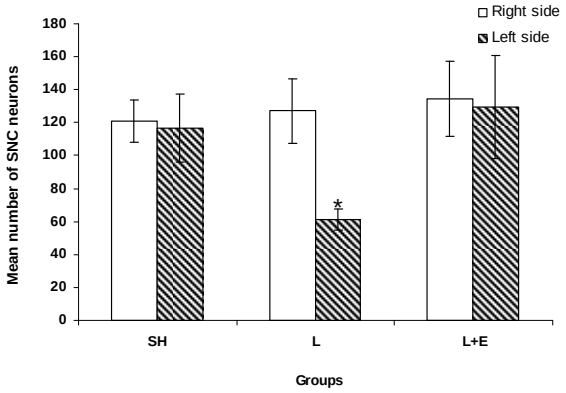
تمام حیوانات اعمال جراحی استریوتاکسیک را بـه‌خـوبی تحمل کرده و هیچ‌گونه مرگ و میری در طـول مـدت مطالعـه مشاهده نشد. از آن‌جایی که بین دو گروه کنترل و کنترل تحت تیمار با عصاره آبی گیاه ماریتیغال تفاوت معنی‌داری در رفتار چرخشی و تعداد نورون‌ها مشاهده نشد، نتـایج گـروه کنتـرل تحت تیمار با عصاره به عنوان نتایج گروه کنترل در نظر گرفته شد. نتایج مطالعه رفتار چرخشی القا شده به‌وسیله آپومـورفین به مدت یک سـاعت نـشان داد کـه قبـل از جراحـی تفـاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد (جدول ۱). دو هفته پس از جراحـی، آپومـورفین موجـب چـرخش کنترالتـرال قابـل ملاحظه‌ای در مـوش‌هـای ضـایعه دیـده شـد (P<۰/۰۰۰۱). تجویز داخل صـفاقی عـصاره آبـی گیـاه ماریتیغـال بـه ایـن حیوانات موجب کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در تعـداد ایـن چرخش‌ها در مقایسه با گروه ضایعه دیده شد (جدول ۱).

جدول . تعداد خالص چرخش القا شده توسط آپومورفین

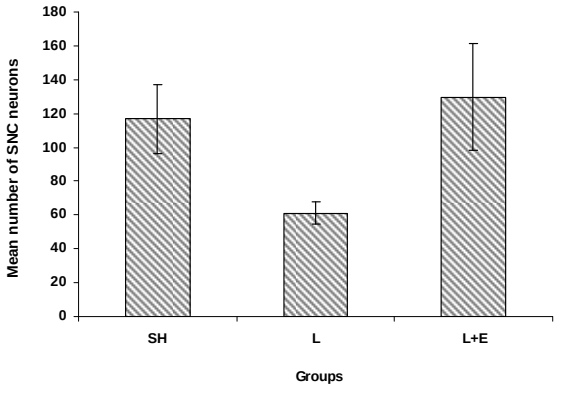
زمان / گروه ها	۱ هفته قبل از جراحی	۲ هفته بعد از جراحی
کنترل	۱/۸۵±۰/۹۳	۳/۱۴ ± ۰/۷۹
ضایعه دیده	۱/۶±۰/۷۴	۱۴۹ ±۲۱/۰۵*
ضایعه دیده تحت تیمار	۲/۴ ±۰/ ۷۴	۷۸/۴ ±۱۴/ ۷۸+

P<0.0001 * در مقایسه با گروه کنترل و P<0.05 + در مقایسه با گروه ضایعه دیده

نتایج شمارش نورون‌های رنگ‌آمیزی شده با روش نیسل نشان داد که در گروه کنترل میـان تعـداد نـورون‌هـای سـمت راست و چپ بخش متـراکم جـسم سـیاه تفـاوت معنـی‌داری وجود ندارد ولی در گروه ضایعه دیده مقایسه تعداد نورون‌هـا در دو سمت بخش متراکم جسم سیاه هر حیوان بیانگر کـاهش معنی‌دار تعداد نورون‌ها در سمت چـپ در مقایـسه بـا سـمت راست بود (P<۰/۰۵). تجویز عصاره بـه گـروه ضـایعه دیـده تفاوت معنی‌دار تعداد نـورون‌هـا در دو سـمت بخـش متـراکم جسم سیاه را از بین برد (شکل ۱). هم‌چنین عصاره آبی گیـاه ماریتیغال در گروه ضایعه دیده کاهش تعداد نورون‌های سـمت چپ بخش متراکم جسم سیاه را تخفیف داد (شکل ۲و۳).

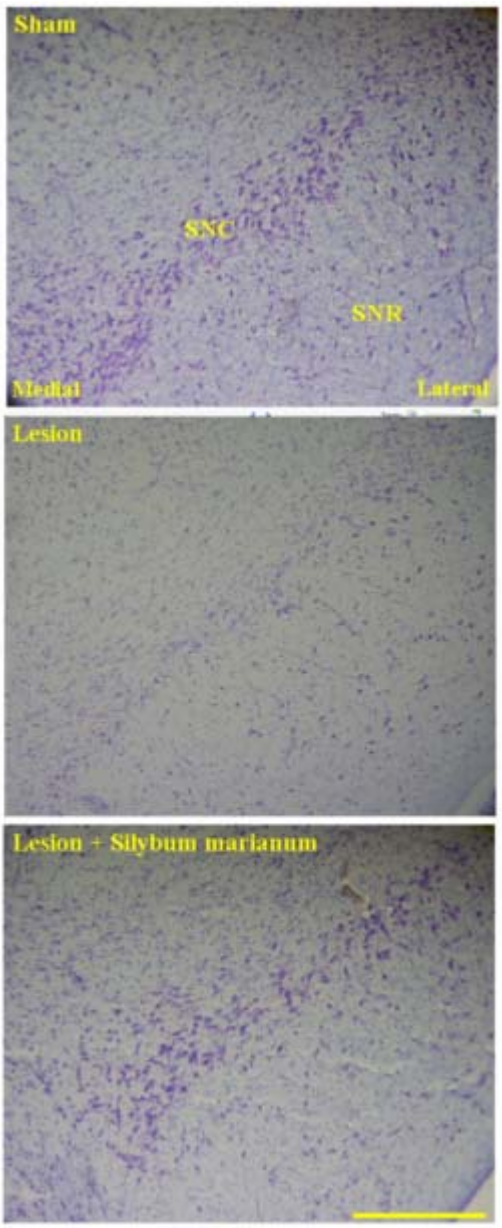


شکل ۱. بررسی تعداد نورون های ناحیه متراکم جسم سیاه در گروه هـای کنترل(SH) ، ضایعه دیده (L) و ضایعه دیده تحت درمان با عـصاره آبـی گیاه ماریتیغال (L+E) و P<0.05 * در مقایسه با سمت راست در گـروه ضایعه دیده SNC = Substantia nigra pars compacta



شکل ۲. بررسی تعداد نورون های در سمت چپ ناحیه متراکم جسم سیاه در گروه های کنترل(SH) ، ضایعه دیده (L) و ضایعه دیده تحت درمان با عصاره آبی گیـاه ماریتیغـال(L+E). ۰۵ /P<۰ * در مقایـسه بـا گـروه کنترل و ۰۵ /P<۰+ در مقایسه با گروه ضایعه دیده
SNC = Substantia nigra pars compacta

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]



شکل ۳. فتومیکروگراف مقاطع کرونال مغز میانی که نشان دهنده نورون‌های رنگ آمیزی شده به روش نیسل(کرزیل ویولـه) در گروه‌های کنترل(Sham) ، ضایعه دیده(Lesion) و ضایعه دیده تحت درمان با عصاره آبی ماریتیغال(Lesion+Silybum marianum) است. همانگونه که مشاهده می شود تعداد نورون‌ها در ناحیه متراکم جسم سیاه در گروه ضایعه دیده در مقایسه با گروه کنترل کاهش قابل ملاحظه‌ای یافته‌اند که این کاهش در گروه ضایعه دیده تحت درمان با عصاره آبی ماریتیغال تخفیف یافته است (SNC ناحیه متراکم جسم سیاه و SNR ناحیه مشبک جسم سیاه است). خط مقیاس برابر با ۲۵۰ میکرومتر است (x۱۰۰).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز داخل صفاقی عصاره آبی گیاه ماریتیغال به حیوانات ضایعه دیده موجب کاهش قابل ملاحظه‌ای در رفتار چرخشی القا شده به‌وسیله آپومورفین می‌شود. به‌علاوه عصاره گیاه ماریتیغال موجب بقای نورون‌های نیگرواستریاتال در بخش متراکم جسم سیاه حتی پس از نورودژنراسیون القا شده به وسیله نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین می‌شود. مطالعات نشان داده است که آسیب یک‌طرفه سیستم دوپامینرژیکی نیگرواستریاتوم با تزریق داخل استریاتال ۶- هیدروکسی دوپامین موجب کاهش سطح دوپامین و تنظیم افزایشی (Up-regulation) گیرنده‌های پس سیناپسی دوپامینرژیک واقع بر روی نورون‌های استریاتوم سمت آسیب دیده می‌گردد [۱۵]. نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین از طریق رادیکال‌های آزاد موجب تخریب ناحیه نیگرواستریاتوم می‌شود. این نوروتوکسین از طریق حامل‌های انتخابی دوپامین وارد پایانه‌های دوپامینرژیکی واقع در نئواستریاتوم شده و با تولید هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن باعث پراکسیداسیون لیپید، فراگمانتاسیون DNA و اکسیداسیون پروتئین و در نتیجه مرگ سلولی می‌شوند [۱۶]. در این تحقیق از حداقل مقدار ۶- هیدروکسی دوپامین جهت ایجاد بیماری پارکینسون استفاده شد که مزیت آن، شباهت بسیار بالای این مدل با مراحل اولیه بیماری پارکینسون در انسان و به حداقل رساندن و یا حذف اثرات غیر اختصاصی نوروتوکسین بر روی سایر سیستم‌های میانجی می‌باشد. تزریق یک‌طرفه نوروتوکسین موجب ایجاد عدم تقارن عمل‌کردی (Functional asymmetry) می‌شود که با استفاده از آگونیست‌های مستقیم دوپامینرژیکی نظیر آپومورفین که مستقیماً بر روی گیرنده‌ها اثر می‌کنند و آگونیست‌های غیرمستقیم نظیر آمفتامین که آزاد شدن دوپامین را افزایش داده و تجزیه دوپامین و بازجذب آن را به داخل پایانه‌های دوپامینرژیکی کاهش می‌دهند به طور کمی قابل ارزیابی است [۳]. در این رابطه آپومورفین موجب القا چرخش به سمت راست در حیوانات با تخریب طرف چپ استریاتوم می‌شود. افزایش معنی‌دار تعداد چرخش به‌دنبال تجویز داروهای دوپامینرژیکی به‌ویژه آپومورفین به عنوان یکی از معیارهای معتبر ارزیابی میزان کاهش دوپامین در

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

نواحی هدف سیستم نیگرو استریاتال در نظر گرفته می‌شود [۱۹]. کاهش تعداد چرخش القا شده به‌وسیله تزریق آپومورفین پس از تخریب سیستم نیگرواستریاتال در گروهی که با عصاره گیاه ماریتیغال پیش درمان شده‌اند نشان‌دهنده توان حفاظتی عصاره گیاه ماریتیغال بر نورودژنراسیون جسم سیاه و حفظ سطح دوپامین استریاتوم به میزانی که موجب بروز رفتار چرخشی نگردد است. به‌نظر می‌رسد عصاره گیاه ماریتیغال از طریق مکانیسم‌های مرتبط با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی خود موجب بازگشت عمل‌کردی سیستم نیگرواستریاتال شده باشد. در این رابطه افزایش آزاد شدن دوپامین، افزایش تعداد گیرنده‌های دوپامینرژیکی بر روی نواحی پس‌سیناپسی [۲۰] و ریشه زدن (Sprouting) فیبرهای دوپامینرژیکی باقیمانده در داخل استریاتوم (در دراز مدت) [۲۱] نیز مطرح می‌باشد. فلاونوئیدهای موجود در عصاره آبی گیاه ماریتیغال از جمله کمپلکس سیلی‌مارین به دلیل دارا بودن خاصیت جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، با آنیون هیدروکسیل، رادیکال فنوکسیل و اسید هیپوکلر واکنش داده و از پراکسیداسیون لیپیدی که به‌وسیله رادیکال‌های آزاد در میتوکندری و میکروزوم گلبول‌های قرمز القا می‌شود، جلوگیری به عمل می‌آورند [۲۲]. سیلی‌مارین با پیش‌گیری از تخلیه گلوتاتیون و افزایش میزان آن، افزایش سطح اسید اسکوربیک و فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز، مهار آنزیم ۵- لیپو اکسیژناز و مهار بیان آنزیم‌های پرواکسیداتیو مرتبط با التهاب (iNOS، COX2)، علاوه بر جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی، موجب پیش‌گیری از نیتروزیلاسیون پروتئین‌ها نیز می‌شوند [۲۳-۲۸]. این فلاونوئیدها با کاهش استرس اکسیداتیو از آسیب DNA پیش‌گیری می‌کنند. از طرف دیگر سیلی‌مارین موجود در عصاره گیاه ماریتیغال که خود مخلوطی از چهار فلاونولیگنان (سیلی بینین، ایزوسیلیبینین، سیلی دیانین و سیلی کریستین) و ایزوفلاونوئید تاکسی فولین است با مهار فعالیت میکروگلیاها، تولید عوامل پیش التهابی از قبیل سیتوکین‌ها، رادیکال‌های آزاد و ایکوزانوئیدها را کاهش می‌دهد و از این طریق از نورودژنراسیون القا شده توسط میکروگلیاها جلوگیری می‌نماید [۲۹]. چنان‌که سیلی‌مارین با مهار فعالیت میکروگلیاها موجب محافظت نورون‌های دوپامینرژیک در برابر نوروتوکسیسیتی القا شده به‌وسیله لیپوپلی ساکاریدها می‌شود [۳۰]. هم‌چنین مطالعات نشان داده است که سیلی‌مارین تولید سیتوکین و نیتریت را در نورون‌های مزانسفالیک-گلیا و میکروگلیا BV-2 کشت داده شده کاهش می‌دهد [۳۱]. از طرف دیگر، از آن‌جایی که ROS علاوه بر آسیب رساندن به بیومولکول‌ها می‌تواند به عنوان یک پیامبر ثانویه موجب فعال شدن مولکول‌های سیگنالینگ از قبیل پروتئین کیناز C، MAPK و فاکتورهای هسته‌ای نسخه‌برداری مانند c-Jun و NF-κ شود، سیلی‌مارین با مهار تولید ROS موجب کاهش فعالیت مولکول‌های سیگنالینگ می‌شود [۳۲]. به‌علاوه، عصاره گیاه ماریتیغال موجب تمایز و افزایش رشد القا شده به‌وسیله NGF نوریت‌ها در سلول‌های PC12 شده [۳۳] و با تغیر هیستولوژی نورون‌های هیپوکامپ موجب بهبود حافظه در موش‌های صحرایی می‌شود [۳۴].

به‌طور خلاصه، پیش درمان موش‌های نیمه پارکینسونی با عصاره آبی گیاه ماریتیغال می‌تواند از وقوع عدم تقارن عمل‌کردی و نورودژنراسیون نورون‌های بخش متراکم جسم سیاه جلوگیری نماید. به‌نظر می‌رسد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدهای موجود در این عصاره نقش مهمی در اثرات حفاظتی آن داشته باشند که این می‌تواند به‌عنوان یک درمان کمکی و حفاظتی در افراد مبتلا به بیماری پارکینسون به‌ویژه در مراحل اولیه کاربرد داشته باشد. در مطالعات آتی، اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو در ناحیه جسم سیاه نظیر میزان مالون دی‌آلدئید و سطح آنزیم‌های دفاعی مانند سوپر اکسید دیسموتاز توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران اعلام می‌دارد.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

منابع

[1] Sauer H, Oertel WH. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. Neuroscience 1994;59: 401-415.

[2] Cadet JL, Last R, Kostic V, Prezedborski S, Jackson-Lewis V. Long term behavioral and biochemical effects of 6-OHDA injections in rat caudate-putamen. Brain Res Bull 1991;26:707-713.

[3] Schwarting RK, Huston JP. Behavioral and neurochemical dynamics of neurotoxic meso-striatal dopamine lesions. Neurotoxicology 1997; 18: 689-708.

[4] Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. Neuron 2003; 39: 889-909.

[5] Valenzuela A, Garrido A. Biochemical bases of the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin. Biol Res 1994; 27: 105-112.

[6] Ebadi M, Srinivasan SK, Baxi MD. Oxidative stress and antioxidants therapy in Parkinson's disease. Prong Neurobiol 1996; 48: 1-19.

[7] Craig WJ. Health-promoting properties of common herbs. Am J Clin Nutr 1999; 70: 491S-499S.

[8] Skottová N, Vecera R, Urbánek K, Vána P, Walterová D, Cvak L. Effects of polyphenolic fraction of silymarin on lipoprotein profile in rats fed cholesterol-rich diets. Pharmacol Res 2003; 47: 17-26.

[9] Zhang DL, Zhang YT, Yin JJ, Zhao BL. Oral administration of crataegus flavonoids protects against ischemia/reperfusion brain damage in gerbils. J Neurochem 2004; 90: 211-219.

[10] Chlopcikova S, Psotova J, Miketova P, Simanek V. Chemoprotective effect of plant phenolices against anthracycline-induced toxicity on rat cardiomyocytes. Phytother Res 2004; 18: 107-110.

[11] Dobretsov M, Romanovsky D, Stimers JR. Early diabetic neuropathy: Triggers and mechanisms. World J Gastroenterol 2007; 13: 175-191.

[12] Kittur S, Wilasrusmee S, Pedersen WA, Mattson MP, Straube-West K, Wilasrusmee C. and et al. Neurotrophic and neuroprotective effects of milk thistle (Silybum marianum) on neurons in culture. J Mol Neurosci 2002; 18: 265-269.

[13] Paxinos G and Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 2nd edn. 1986; Academic Press: San Diego.

[14] Fujita M, Nishino H, Kumazaki M, Shimada S, Tohyama M, Nishimura T. Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. Brain Res Mol Brain Res 1996; 39: 127-136.

[15] Schwarting RK, Huston JP. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research: analysis of functional deficits, recovery and treatments. Prog Neurobiol 1996; 50: 275-331.

[16] Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM. Free radicals as mediators of neuronal injury. Cell Mol Neurobiol 1998; 18: 667-682.

[17] Perese DA, Ulman J, Viola J, Ewing SE, Bankiewicz KS. A 6-OHDA -induced slective parkinsonian rat model. Brain Res 1989; 494: 285-293.

[18] Robinson TE, Whishaw IQ. Normalization of extracellular dopamin in stiatum following recovery from a partial unilateral 6-OHDA lesion of the substantianigra: a microdialysis study in freely. Brain Res 1988; 450: 209-224.

[19] Shapiro RM, Glick SD, Camarota NA. A two-population model of rat rotational behavior: effects of unilateral nigrostriatal 6-hydroxydopamine on striatal neurochemistry and amphetamine-induced rotation. Brain Res 1987; 426: 323-331.

[20] Emmi A, Rajabi H, Stewart J. Behavioral and neurochemical recovery from partial 6-hydroxydopamine lesions of the substantia nigra is blocked by daily treatment with D1/D5, but not D2, dopamine receptor antagonists. J Neurosci 1997; 17: 3840-3846.

[21] Cheng HW, Tong J, McNeil TH. Lesion-induced axon sprouting in the deaferented stiatum of adult rat. Neurosci Lett 1998; 242: 69-72.

[22] Firenzuoli F, Gori L, Crupi A, Neri D. Flavonoids: risks or opportunities? Recenti Prog Med 2004; 95: 345-351.

[23] Nencini C, Giorgi G, Micheli L. Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. Phytomedicine 2007; 14: 129-135.

[24] Nencini C, Giorgi G, Micheli L. Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. Phytomedicine 2007; 14: 129-135.

[25] Koksal E, Gulcin I, Beyza S, Sarikaya O, Bursal E. In vitro antioxidant activity of silymarin. J Enzyme Inhib Med Chem 2009; 24: 395-405.

[26] Sangeetha N, Aranganathan S, Nalini N. Silibinin ameliorates oxidative stress induced aberrant crypt foci and lipid peroxidation in 1,2 dimethylhydrazine induced rat colon cancer. Invest New Drugs 2010; 28: 225-233.

[27] Tyagi A, Singh RP, Ramasamy K, Raina K, Redente EF, Dwyer-Nield LD, et al. Growth inhibition and regression of lung tumors by silibinin: modulation of angiogenesis by macrophage-associated cytokines and nuclear factor-kappaB and signal transducers and activators of transcription 3. Cancer Prev Res 2009: 2: 74-83.

[28] Hou YC, Liou KT, Chern CM, Wang YH, Liao JF, Chang S, et al. Preventive effect of silymarin in cerebral ischemia–reperfusion-induced brain injury in rats possibly through impairing NF-κB and STAT-1 activation. Phytomedicine 2010; 17: 963-973.

[29] Le W, Rowe D, Xie W, Ortiz I, He Y, Appel SH. Microglial activation and dopaminergic cell injury: an in vitro model relevant to Parkinson's disease. J Neurosci 2001; 21: 8447-8455.

[30] Wang MJ, Lin WW, Chen HL, Chang YH, Ou HC, Kuo JS, et al. Silymarin protects dopaminergic neurons against lipopolysaccharide-induced neurotoxicity by inhibiting microglia activation. Eur J Neurosci 2002; 16: 2103-2112.

[31] Wu DC, Jackson-Lewis V, Vila M, Tieu K, Teismann P, Vadseth C, et al. Blockade of microglial activation is neuroprotective in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of parkinson disease. J Neurosci 2002; 22: 1763-1771.

[32] Laderoute KR. and Webster KA. Hypoxia/reoxygenation stimulate Jun kinase activity through redox signaling in cardiac myocytes. Circ Res 1997; 80: 336-344.

[33] Kittur S, Wilasrusmee S, Pedersen WA, Mattson MP, Straube-West K, Wilasrusmee C, et al. Neurotrophic and neuroprotective effects of milk thistle (Silybum marianum) on neurons in culture. J Mol Neurosci 2002; 18: 265-269.

[34] Yaghmaei P, Parivar K, Masoudi A, Darab M, Amini E. The effect of silybin on passive avoidance learning and pathological changes in hippocampal CA1 and DG regions in male Wistar rats offspring. J Asian Nat Prod Res 2009; 11: 514-522.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

Protective effects of aqueous extract of silybum marianum in 6-hydroxydopamine-induced model of parkinsonism in male rat: a behavioral, biochemical and histological study

Tourandokht Baluchnejadmojarad (Ph.D)[*1], Mehrdad Roghani (Ph.D)[2], Mehdi Mafakheri (M.S)[1]
1 – Dept. of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 – Dept. of Physiology, School of Medicine, Shahed University and Medicinal Plant Research Center, Tehran, Iran

(Received: 25 Apr 2010 Accepted: 10 Jan 2011)

Introduction: Parkinson,s disease (PD) is a common neurological disorder due to degeneration of substantia nigra pars compacta degeneration. With regard to protective effect of silybum marianum, this study was conducted to evaluate the protective effect of aqueous extract of this plant in an experimental model of PD.

Materials and Methods: Forty male rats were randomly divided into 4 groups; sham-operated(SH), extract-treated sham-operated (E+SH), lesion (L) and extract-treated lesion(E+L) groups. The hemi-PD model was induced by unilateral intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA, 12.5 g/ l of saline-ascorbate).The E+SH and E+L groups received intra-peritoneal pretreatment of aqueous extract of silybummarianum (200mg/kg/daily) for one week before surgery. Two weeks after surgery, the animals were tested for rotational behavior by apomorphine hydrochloride and the number of nissle-stained neurons in the substantia nigra pars compacta (SNC).

Results: Two weeks after surgery, apomorphine caused a significant contralateral turning ($P<0.0001$) and reduction in the number of neurons on the left side of the SNC in the L group in comparison with SH group ($P<0.05$). Administration of aqueous extract of silybum marianum decreased the rotational behavior in lesioned rats and attenuated the reduction of number of SNC neurons ($P<0.05$). On the other hand, treatment of SH group with extract of silybum marianum had no significant effect on the number of apomophine-induced rotation and neurons of SNC .

Conclusion: Our finding shows in experimental model of PD, intra-peritoneal administration of aqueous extract of silybum marianum has protective effects against 6-OHDA toxicity .

Keywords: Milk thistle, Parkinson disease, 6-Hydroxydopamine, Apomorphine

* Corresponding author: Fax: +98 21 88622709; Tel: +98 21 82944577
tmojarad@yahoo.com

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]