بررسی اثر محافظتی توپیرامات بر مرگ عصبی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین در مدل سلولی بیماری پارکینسون

فهیمه فلاح [۲،۱](M.Sc)، آزاده امین‌زاده [*۳،۲](Ph.D)

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۲ - گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۳- مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳٤-۳۱۳۲۵۲٤۲ a.aminzadeh@kmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۱۴

چکیده

هدف: بیماری پارکینسون یک اختلال نورودژنراتیو شایع است که با اختلال عملکرد پیش‌رونده عصبی مشخص می‌شود. شواهد زیادی نشان می‌دهند که استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوژنز بیماری پارکینسون دارد. در مطالعه حاضر اثر محافظتی توپیرامات بر استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین در سلول‌های PC12 بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: سلول‌های PC12 به مدت ۲۴ ساعت با توپیرامات درمان شدند. سپس سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در معرض ۶- هیدروکسی دوپامین با غلظت ۷۵ میکرومولار قرار گرفتند. زنده‌مانی سلولی توسط ۳-(۴،۵- دی‌متیـل ۲-تیازولیل) ۵،۲ دی‌فنیل-۲- تترازولیـوم (تست MTT) مورد بررسی قرار گرفت. سطح گروه‌های فعال اکسیژن (ROS) با ۲،۷ دی کلرو دی هیدروفلورسین دی استات (DCF-DA) ارزیابی شد. میزان پراکسیداسیون لیپیدی و قدرت آنتی‌اکسیدانی تام نیز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: توپیرامات در غلظت ۸ میکرومولار زنده‌مانی سلول‌هایی که در معرض ۶- هیدروکسی دوپامین قرار گرفتند افزایش داد. در مقایسه با گروه کنترل، ۶- هیدروکسی دوپامین سبب کاهش حیات سلولی شد و این اثر توسط توپیرامات معکوس شد. توپیرامات هم‌چنین باعث کاهش میزان ROS و پراکسیداسیون لیپیدی شد. علاوه بر این، توپیرامات به طور قابل توجهی قدرت آنتی‌اکسیدانی تام را در سلول‌های درمان شده با ۶- هیدروکسی دوپامین افزایش داد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد که توپیرامات از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سلول‌های PC12 را از سمیت عصبی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین محافظت می‌کند.

واژه‌های کلیدی: ۶- هیدروکسی دوپامین، استرس اکسیداتیو، بیماری پارکینسون، توپیرامات، سلول‌های PC12

مقدمه

بیماری پارکینسون یک اختلال مزمن و پیش‌رونده عصبی است که با از دست دادن غیر قابل برگشت نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه (Substantia Nigra) مشخص می‌شود [۱]. شواهد زیادی نشان می‌دهند که افزایش استرس اکسیداتیو و پاسخ التهابی در مراحل پیشرفت بیماری رخ می‌دهند و این فرایندها موجب تشدید دژنراسیون نیگرواستریاتال می‌شوند. در حال حاضر هیچ درمان استانداردی برای توقف یا کند کردن بیماری پارکینسون وجود ندارد. امروزه درمان‌هایی که وجود دارند بر اساس علائم فردی هر بیمار است. درمان علامتی، از تخریب نورون‌های دوپامینرژیک جلوگیری نمی‌نماید. بنابراین شناخت داروهای جدید و درمان‌هایی به منظور جلوگیری و درمان بیماری پارکینسون بسیار اهمیت دارد [۲].

در مدل‌های سلولی و حیوانی، به منظور شناسایی پاتوژنز بیماری پارکینسون عمدتاً از نوروتوکسین‌ها استفاده می‌شود [۳]. ۶- هیدروکسی دوپامین یکی از نوروتوکسین‌هایی است که معمولاً در تحقیقات استفاده می‌شود. ۶- هیدروکسی دوپامین که با دوپامین و نوراپی‌نفرین شباهت ساختاری دارد به صورت انتخابی توسط نورون‌های کاتکولامینرژیک برداشت می‌شود و باعث آسیب و مرگ آن‌ها می‌شود [۴].

۶- هیدروکسی دوپامین از دو مسیر سبب سمیت عصبی می‌شود که عبارتند از تولید رادیکال‌های آزاد و یا مسدود کردن زنجیره تنفسی میتوکندریایی [۵]. هر دو مسیر منجر به شکل‌گیری

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و افزایش استرس اکسیداتیو می‌شوند و در نهایت منجر به نوروتوکسیسیتی و از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه می‌شوند [۶]. ۶- هیدروکسی دوپامین می‌تواند توسط ترانسپورترهای دوپامین وارد اعصاب شود و کمپلکس‌های I و IV زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی را مهار نماید و باعث آسیب عصبی ناشی از ROS شود. بنابراین ۶- هیدروکسی دوپامین سمیتی شبیه به شرایط پاتولوژیک در بیماری پارکینسون ایجاد می‌کند [۷،۸].

توپیرامات یک داروی ضد صرع است که امروزه به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد و انواع مختلف تشنج را کنترل می‌کند. مطالعات نشان دادند که توپیرامات اثرات نوروپروتکتیو دارد این اثرات شامل بهبود اختلالات عصبی، کاهش ادم مغزی و کاهش حجم انفارکتوس در مدل سکته مغزی می‌باشد [۹-۱۱]. در مطالعه دیگری نشان داده شد که توپیرامات سلول‌های آستروسیت را از سمیت عصبی ناشی از گلوتامات و کینات محافظت می‌نماید [۱۲]. تحقیقات بالینی هم‌چنین نشان دادند که توپیرامات در بیماران مبتلا به صرع مزمن می‌تواند اثرات محافظتی بر عملکرد شناختی داشته باشد. توپیرامات در بیماری هیپوکسی- ایسکمی سیستم عصبی مرکزی، اثرات نوروپروتکتیو دارد و از آپوپتوز هیپوکامپ جلوگیری می‌کند [۱۳].

به علاوه، مطالعات in vitro و in vivo نشان دادند که توپیرامات سلول‌های پریسیت را از استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از هیپرگلیسمی محافظت می‌کند [۱۴-۱۶]. هم‌چنین توپیرامات در مدل آسیب مغزی ناشی از خونریزی ساب آراکنوئید، از طریق کاهش التهاب و مرگ سلول‌های عصبی اثرات نوروپروتکتیو دارد [۱۷]. هم‌چنین مطالعه‌ای نشان داد که در موش سوری، توپیرامات مغز را از آسیب ناشی از دیابت محافظت می‌کند [۱۶].

سلول‌های PC12 سوبستراهای داخل سلولی برای سنتز، متابولیسم و انتقال دوپامین دارند [۱۸]. مرگ سلولی ایجاد شده توسط ۶- هیدروکسی دوپامین در سلول‌های PC12 ، به عنوان یک مدل in vitro برای مطالعه بیماری پارکینسون استفاده شده است [۱۹].

نظر به اثرات ذکر شده فوق و با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی اثر توپیرامات در مدل سلولی بیماری پارکینسون انجام نشده است، لذا در این مطالعه، اثرات نوروپروتکتیو توپیرامات بر مرگ سلولی ایجاد شده توسط ۶- هیدروکسی دوپامین در سلول‌های PC12 مورد بررسی و ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و پس از دریافت کد اخلاق IR.KMU.REC.1396.2142 انجام شد. گروه‌های مورد آزمایش در این مطالعه عبارتند از: ۱- گروه کنترل، ۲- گروه ۶- هیدروکسی دوپامین (Sigma, USA)، ۳- گروه ۶- هیدروکسی دوپامین به علاوه توپیرامات (Sigma, USA) با غلظت ۱μM، ۴- گروه ۶- هیدروکسی دوپامین به علاوه توپیرامات با غلظت ۲μM، ۵- گروه ۶- هیدروکسی دوپامین به علاوه توپیرامات با غلظت ۴μM، ۶- گروه ۶- هیدروکسی دوپامین به علاوه توپیرامات با غلظت ۸μM .

سلول‌های استفاده شده در این مطالعه رده سلولی PC12 می‌باشند که از انستیتوپاستور خریداری شدند. این سلول‌ها در محیط کشت DMEM (Gibco, USA) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی، ۱۰٪ سرم اسبی، ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با CO_2 ۵٪ و O_2 ۹۵٪ کشت داده شدند. محیط کشت سلول‌ها هر ۴۸ ساعت تعویض می‌شد.

میزان حیات سلولی به روش MTT اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهك پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف توپیرامات (۱، ۲، ۴ و ۸ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شده و به مدت ۲۴ ساعت در معرض ۶ هیدروکسی دوپامین با غلظت ۷۵ میکرومولار قرار گرفتند. سپس ۱۰ میکرولیتر محلول MTT (Sigma, USA) به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شد و به مدت ۴-۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ °C قرار گرفتند. سپس محیط داخل چاهک‌ها خالی گردید و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر کدام اضافه شد و در نهایت جذب نوری آن به‌وسیله الایزا ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

برای تعیین سطح داخل سلولی ROS از ۲،۷ دی کلرو دی هیدروفلورسین دی استات (DCF -DA) استفاده شد. سلول‌ها در پلیت ۲۴ خانه‌ای کشت داده شدند. این سلول‌ها پس از چسبیدن به کف چاهک و زمانی که تراکم سلولی به ۷۰٪ رسید با توپیرامات پرانکوبه شدند و سپس در معرض ۶- هیدروکسی دوپامین قرار گرفتند. سپس محیط داخل چاهک‌ها خالی گردید و سلول‌ها دو مرتبه با PBS شسته شدند و به مدت ۳۰ دقیقه با DCF-DA (Sigma, USA) انکوبه شدند و سپس دو مرتبه با PBS شسته شدند. اندازه‌گیری میزان فلورسنس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با استفاده از excitation485/20 و emission528/20 توسط الیزا ریدر انجام شد.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

سلول‌ها در فلاسك cm^2 ۲۵ کشت داده شدند و بعد از گذراندن زمان ۲۴ ساعت با توپیرامات پرانکوبه شده و سپس در معرض ۶- هیدروکسی دوپامین قرار گرفتند. سپس مایع رویی آن‌ها برداشته شد و پس از سانتریفیوژ با دور g ۱۲۰۰ و به مدت ۶ دقیقه تا انجام آزمایش‌های اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی و قدرت آنتی‌اکسیدانی تام در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

میزان مالون دی آلدئید به عنوان شاخصی از وضعیت استرس اکسیداتیو بر لیپیدها مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. در این روش مالون دی آلدئید با تیوباربیتوریك اسید در شرایط اسیدی و دمای بالا تشکیل پیوند می‌دهد و کمپلکس رنگی تشکیل می‌دهد. کمپلکس تشکیل شده در طول موج ۵۳۲ نانومتر دارای حداکثر جذب است.

قدرت آنتی‌اکسیدانی تام با استفاده از روش FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) اندازه‌گیری شد. اساس این روش، توانایی احیاکنندگی یون‌های فریک و تبدیل آن‌ها به یون‌های فرو در شرایط اسیدی و در حضور ماده‌ای به نام تری‌پیریدیل تری آزین (Sigma, USA) می‌باشد. در این واکنش، کمپلکس آبی رنگ تشکیل می‌شود که در طول موج ۵۹۳ نانومتر دارای حداکثر جذب است.

آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده به صورت mean ± SD گزارش شده‌اند و با آزمون آماری two-way ANOVA و با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

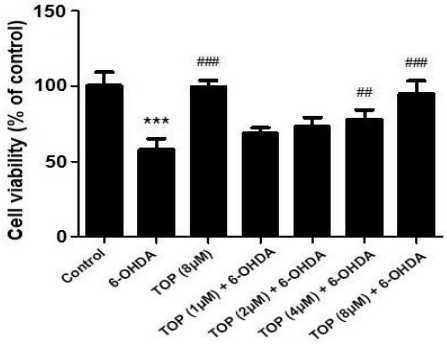
نتایج

همان‌طور که درشکل ۱ نشان داده شد، ۶- هیدروکسی دوپامین به طور معنی‌داری باعث القای مرگ سلولی شده است (P<۰/۰۰۱) پرانکوباسیون با توپیرامات به صورت وابسته به غلظت، توانست از آسیب سلولی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین جلوگیری نماید. غلظت ۸ میکرو مولار توپیرامات برای این مطالعه انتخاب شد (P<۰/۰۰۱).

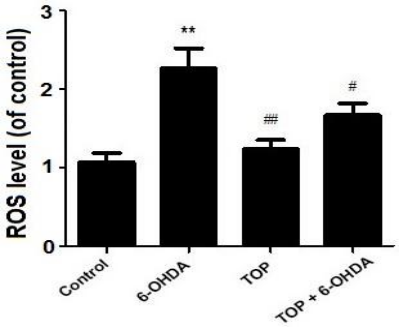
همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، ۶- هیدروکسی دوپامین سبب افزایش ROS شده است و توپیرامات به طور معنی‌داری از افزایش ROS جلوگیری می‌کند (P<۰/۰۵).

۶- هیدروکسی دوپامین سبب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی شده است همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است توپیرامات در مقایسه با گروه ۶- هیدروکسی دوپامین به میزان معنی‌داری از افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌نماید (P<۰/۰۵).

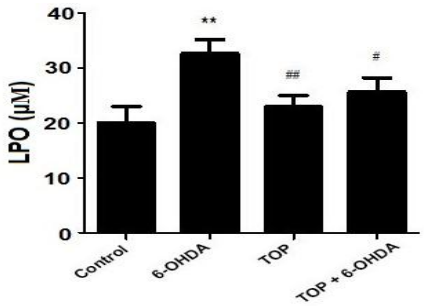
نتایج حاصل از اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی تام نشان داد که در گروه ۶- هیدروکسی دوپامین در مقایسه با گروه کنترل، قدرت آنتی‌اکسیدانی تام به میزان معنی‌داری کاهش یافت. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است توپیرامات در مقایسه با گروه ۶- هیدروکسی دوپامین به میزان معنی‌داری باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی تام شده است (P<۰/۰۵).



شکل ۱. مقایسه اثرات غلظت های مختلف توپیرامات (۸-۱ میکرو مولار) بر سمیت عصبی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین در سلولهای PC12. زنده مانی سلولی بوسیله روش MTT اندازه گیری شد. نتایج بصورت mean ± SD نشان داده شده اند. $P < 0.001$ *** با گروه کنترل مقایسه شد. $P<0.01$ ##، $P < 0.001$ ### با گروه ۶- هیدروکسی دوپامین مقایسه شدند.

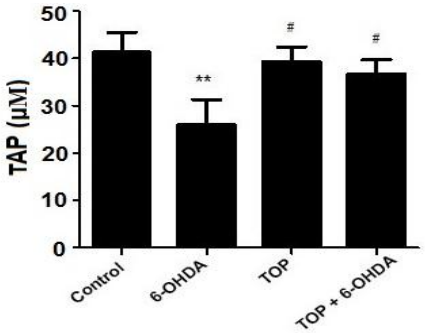


شکل ۲. اثرات توپیرامات بر تولید ROS ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین. نتایج بصورت mean ± SD نشان داده شده اند. $P < 0.01$ ** با گروه کنترل مقایسه شد. $P < 0.05$ #، $P < 0.01$ ## با گروه ۶- هیدروکسی دوپامین مقایسه شدند.



شکل ۳. اثرات توپیرامات بر افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین. نتایج بصورت mean ± SD نشان داده شده اند. $P < 0.01$ ** با گروه کنترل مقایسه شد. $P<0.05$ #، $P<0.01$ ## با گروه ۶- هیدروکسی دوپامین مقایسه شدند.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]



شکل ۴. اثرات توپیرامات بر کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین. نتایج بصورت mean ± SD نشان داده شده اند. P $< 0.01^{**}$ با گروه کنترل مقایسه شد. $P < 0.05^{\#}$ با گروه ۶- هیدروکسی دوپامین مقایسه شد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مواجهه سلول‌های PC12 با ۶- هیدروکسی دوپامین به طور معنی‌داری سبب کاهش زنده‌مانی سلولی، افزایش سطح داخل سلولی ROS و القا آپوپتوز شده است و درمان سلول‌ها با توپیرامات توانسته به طور معنی‌داری از این تغییرات جلوگیری نماید که پیشنهاد می‌کند توپیرامات، سلول‌های PC12 را از آپوپتوز ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین محافظت می‌کند.

۶- هیدروکسی دوپامین یک نوروتوکسین انتخابی است که به طور گسترده برای ایجاد مدل پارکینسون در مطالعات in vitro و in vivo استفاده شده است [۲۰-۲۲]. ۶- هیدروکسی دوپامین از طریق اتواکسیداسیون سبب تولید داخل سلولی ROS می‌شود [۲۳-۲۵]. شواهد نشان می‌دهند که اتواکسیداسیون از طریق موادی مانند پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های ناشی از اکسیژن و کینون‌ها اتفاق می‌افتد و نقش مهمی در سمیت سلولی ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین ایفا می‌کند [۲۰]. ۶- هیدروکسی دوپامین از طریق مهار مستقیم کمپلکس‌های I و IV زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی و یا دآمیناسیون آنزیمی از طریق منوآمین اکسیداز سبب تولید داخل سلولی ROS می‌شود [۲۶]. تولید داخل سلولی ROS، فسفوریلاسیون Akt را مهار می‌کند و فسفوریلاسیون p38 را افزایش می‌دهد که باعث فعال شدن کاسپاز ۹ و کاسپاز ۳ می‌شود و سرانجام منجر به آپوپتوز سلول می‌شود [۲۳،۲۷،۲۸]. بنابراین ROS نقش مهمی در آپوپتوز ایجاد شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین دارد [۲۹].

نتایج ما نشان داد پرانکوباسیون با توپیرامات از مرگ سلولی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین جلوگیری می‌نماید. در توافق با یافته ما در مطالعه‌ای نشان داده شد که در سلول‌های هیپوکامپ موش صحرایی، توپیرامات اثرات نوروپروتکتیو دارد و از طریق افزایش فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) و کیناز تنظیم شده با پیام‌های خارج سلولی (ERK)، نورون‌های هیپوکامپ را از مرگ سلولی القا شده توسط گلوتامات محافظت می‌کند [۳۰].

مطالعات نشان می‌دهد هنگامی که تعادل بین ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد بر هم خورد، به نحوی که سبب تخلیه و کمبود ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی و یا تراکم زیاد گونه‌های فعال اکسیژن شود، استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد. استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث جهش DNA، پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئین‌ها شود [۳۱،۳۲]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پس از مواجهه سلول‌های PC12 با ۶- هیدروکسی دوپامین، سطح داخل سلولی ROS به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد. با این حال داروی توپیرامات توانست سطح داخل سلولی ROS را کاهش دهد. در توافق با یافته ما مطالعه‌ای نشان داد که در موش صحرایی، توپیرامات و سلنیم از طریق مهار تولید رادیکال‌های آزاد، تنظیم فرایندهای وابسته به کلسیم و تقویت سیستم ردوکس آنتی‌اکسیدانی اثرات محافظتی بر آسیب مغزی ناشی از پنتیلن تترازول دارند [۳۳]. هم‌چنین مطالعه‌ی دیگری نشان داد که در مدل آسیب ریوی ناشی از ایسکمی-رپرفیوژن در موش صحرایی، توپیرامات از طریق کاهش سطح ROS و کاهش آزادسازی سیتوکین‌های التهابی از پیشرفت آسیب ریوی جلوگیری می‌کند [۳۴].

مالون دی آلدئید یکی از فراورده‌های نهایی پراکسیداسیون لیپیدی محسوب می‌شود و در مطالعات به عنوان مشخصه پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته می‌شود. نتایج این مطالعه نشان داد که ۶- هیدروکسی دوپامین، میزان پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش داده است و توپیرامات به طور معنی‌داری توانست از افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کند. این نتایج با مطالعات گذشته که نشان دادند توپیرامات اثرات نوروپروتکتیو بر نوروتوکسیسیتی ناشی از متیل فنیدات در موش صحرایی دارد و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می‌دهد هم‌خوانی دارد [۳۵].

سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی شامل گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکساید دیسموتاز و کاتالاز به عنوان اولین سد دفاعی سلول در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد در شرایط استرس اکسیداتیو می‌باشند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و اثرات آن‌ها را خنثی کنند [۳۱]. نتایج این مطالعه نشان داد که توپیرامات توانسته به طور معنی‌داری ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی تام را در گروه ۶- هیدروکسی دوپامین افزایش دهد. در توافق با یافته ما در مطالعه‌ای نشان داده شد که در هیپوکامپ موش صحرایی، توپیرامات از طریق افزایش BDNF و پروتئین متصل شونده به جزء پاسخ‌دهنده به آدنوزین منوفسفات حلقوی (CREB) اثر محافظتی بر آپوپتوز و استرس اکسیداتیو ناشی از متیل فنیدات

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

دارد و هم‌چنین فعالیت سوپراکساید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش می‌دهد [۳۶].

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که ۶- هیدروکسی دوپامین سبب استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در سلول‌های PC12 شده است و توپیرامات از طریق کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و مهار استرس اکسیداتیو اثر محافظتی بر نوروتوکسیسیتی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین در این سلول‌ها دارد. البته پیشنهاد می‌شود اثرات درمانی توپیرامات در مدل‌های حیوانی بررسی شود و هم‌چنین مکانیسم‌های سلولی و مولکولی دخیل در عملکرد فارماکولوژیکی آن در مطالعات بعدی مشخص گردند.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان بابت حمایت‌های مالی از این طرح، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

[1] Dexter DT, Jenner P. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. Free Radic Biol Med 2013; 62: 132-144.

[2] Taylor JM, Main BS, Crack PJ. Neuroinflammation and oxidative stress: co-conspirators in the pathology of Parkinson's disease. Neurochem Int 2013; 62: 803-819.

[3] Bové J, Prou D, Perier C, Przedborski S. Toxin-induced models of Parkinson's disease. Neuro Rx 2005; 2: 484-494.

[4] Ryu EJ, Angelastro JM, Greene LA. Analysis of gene expression changes in a cellular model of Parkinson disease. Neurobiol Dis 2005; 18: 54-74.

[5] Rodriguez-Pallares J, Parga J, Munoz A, Rey P, Guerra M, Labandeira-Garcia J. Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity: the role of NADPH oxidase and microglial activation in 6-hydroxydopamine-induced degeneration of dopaminergic neurons. J Neurochem 2007; 103: 145-156.

[6] Tang SY, Whiteman M, Peng ZF, Jenner A, Yong EL, Halliwell B. Characterization of antioxidant and antiglycation properties and isolation of active ingredients from traditional Chinese medicines. Free Radic Biol Med 2004; 36: 1575-1587.

[7] Paradies G, Petrosillo G, Paradies V, Ruggiero FM. Mitochondrial dysfunction in brain aging: role of oxidative stress and cardiolipin. Neurochem Int 2011; 58: 447-457.

[8] Simola N, Morelli M, Carta AR. The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. Neurotox Res 2007; 11: 151-167.

[9] Liu Y, Barks JD, Xu G, Silverstein FS. Topiramate extends the therapeutic window for hypothermia-mediated neuroprotection after stroke in neonatal rats. Stroke 2004; 35: 1460-1465.

[10] Edmonds HL Jr, Jiang YD, Zhang PY, Shank R. Topiramate as a neuroprotectant in a rat model of global ischemia-induced neurodegeneration. Life Sci 2001; 69: 2265-2277.

[11] Lee SR, Kim SP, Kim JE. Protective effect of topiramate against hippocampal neuronal damage after global ischemia the gerbils. Neurosci Lett 2000; 281: 183-186.

[12] Angehagen M, Ben-Menachem E, Rönnbäck L, Hansson E. Topiramate protects against glutamate- and kainate-induced neurotoxicity in primary neuronal–astroglial cultures. Epilepsy Res 2003; 54: 63-71.

[13] Kurul S, Yiş U, Kumral A, Tuğyan K, Cilaker S, Kolatan E, et al. Protective effects of topiramate against hyperoxic brain injury in the developing brain. Neuropediatrics 2009; 40: 22-27.

[14] Price TO, Eranki V, Banks WA, Ercal N, Shah GN. Topiramate treatment protects blood-brain barrier pericytes from hyperglycemia-induced oxidative damage in diabetic mice. Endocrinology 2012; 153: 362-372.

[15] Shah GN, Price TO, Banks WA, Morofuji Y, Kovac A, Ercal N, et al. Pharmacological inhibition of mitochondrial carbonic anhydrases protects mouse cerebral pericytes from high glucose-induced oxidative stress and apoptosis. J Pharmacol Exp Ther 2013; 344: 637-645.

[16] Price TO, Farr SA, Niehoff ML, Ercal N, Morley JE, Shah GN. Protective effect of topiramate on hyperglycemia-induced cerebral oxidative stress, pericyte loss and learning behavior in diabetic mice. Int Libr Diabetes Metab 2015; 1: 6-12.

[17] Tian Y, Guo SX, Li JR, Du HG, Wang CH, Zhang JM, et al. Topiramate attenuates early brain injury following subarachnoid haemorrhage in rats via duplex protection against inflammation and neuronal cell death. Brain Res 2015; 1622: 174-185.

[18] Feng L, Meng H, Wu F, Cheng B, He X, Wang X, et al. Olfactory ensheathing cells conditioned medium prevented apoptosis induced by 6-OHDA in PC12 cells through modulation of intrinsic apoptotic pathways. Int J Dev Neurosci 2008; 26: 323-329.

[19] Walkinshaw G, Waters C. Neurotoxin-induced cell death in neuronal PC12 cells is mediated by induction of apoptosis. Neuroscience 1994; 63: 975-987.

[20] Saito Y, Nishio K, Ogawa Y, Kinumi T, Yoshida Y, Masuo Y, et al. Molecular mechanisms of 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity in PC12 cells: involvement of hydrogen peroxide-dependent and-independent action. Free Radic Biol Med 2007; 42: 675-685.

[21] Tamadoni M, Haji ghasem kashani M, Ghorbanian M, Abrari K, Arashpour R. Neuroprotective effects of carnosic acid on the hippocampus of 6-hydroxydopamine injured rats. Koomesh 2014; 15: 232-241. (Persian).

[22] Safari M, Badban L, Sameni H, Bandegi A, Rashidypour A, Vafaei A. Comparison the protective effects of aqueous extract of Iranian propolis in 6-hydroxydopamine-induced model of parkinsonism in male rat with L-DOPA: A behavioral and histological evaluation. Koomesh 2014; 15: 584-591. (Persian).

[23] Fujita H, Ogino T, Kobuchi H, Fujiwara T, Yano H, Akiyama J, et al. Cell-permeable cAMP analog suppresses 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in PC12 cells through the activation of the Akt pathway. Brain Res 2006; 1113: 10-23.

[24] Padiglia A, Medda R, Lorrai A, Biggio G, Sanna E, Floris G. Modulation of 6-hydroxydopamine oxidation by various proteins. Biochem Pharmacol 1997; 53: 1065-1068.

[25] Yamada K, Umegaki H, Maezawa I, Iguchi A, Kameyama T, Nabeshima T. Possible involvement of catalase in the protective effect of interleukin-6 against 6-hydroxydopamine toxicity in PC12 cells. Brain Res Bull 1997; 43: 573-577.

[26] Nie G, Jin C, Cao Y, Shen S, Zhao B. Distinct effects of tea catechins on 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in PC12 cells. Arch Biochem Biophys 2002; 397: 84-90.

[27] Aminzadeh A, Mehrzadi S. Melatonin attenuates homocysteine-induced injury in human umbilical vein endothelial cells. Fundam Clin Pharmacol 2018; 32: 261-269.

[28] Aminzadeh A, Mehrzadi S. Cardioprotective effect of levosimendan against homocysteine-induced mitochondrial stress and apoptotic cell death in H9C2. Biochem Biophys Res Commun 2018; 507: 395-399.

[29] Tian LL, Wang XJ, Sun YN, Li CR, Xing YL, Zhao HB, et al. Salvianolic acid B, an antioxidant from Salvia miltiorrhiza, prevents 6-hydroxydopamine induced apoptosis in SH-SY5Y cells. Int J Biochem Cell Biol 2008; 40: 409-422.

[30] Mao XY, Cao YG, Ji Z, Zhou HH, Liu ZQ, Sun HL. Topiramate protects against glutamate excitotoxicity via activating BDNF/TrkB-dependent ERK pathway in rodent hippocampal neurons. Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry 2015; 60: 11-17.

[31] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39: 44-84.

[32] Aminzadeh A, Salarinejad A. Citicoline protects against lead-induced oxidative injury in neuronal PC12 cells. Biochem Cell Biol. 2019.

[33] Nazirolu M, Kutluhan S, Yilmaz M. Selenium and topiramate modulates brain microsomal oxidative stress values, Ca2+-ATPase activity, and EEG records in pentylentetrazol-induced seizures in rats. J Membr Biol 2008; 225: 39-49.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[34] Kurt A, Kalkan Y, Turut H, Cure MC, Tumkaya L, Cure E. Topiramate reduces aortic cross clamping-induced lung injury in male rats. Acta Medica (Hradec Kralove) 2018; 61: 144-149.

[35] Motaghinejad M, Motevalian M, Fatima S, Beiranvand T, Mozaffari S. Topiramate via NMDA, AMPA/kainate, GABAA and Alpha2 receptors and by modulation of CREB/BDNF and Akt/GSK3 signaling pathway exerts neuroprotective effects against methylphenidate-induced neurotoxicity in rats. J Neural Transm 2017; 9: 1-19.

[36] Motaghinejad M, Motevalian M, Babalouei F, Abdollahi M, Heidari M, Madjd Z. Possible involvement of CREB/BDNF signaling pathway in neuroprotective effects of topiramate against methylphenidate induced apoptosis, oxidative stress and inflammation in isolated hippocampus of rats: molecular, biochemical and histological evidences. Brain Res Bull 2017; 132: 82-98.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

Volume 21, Issue 4 (Autumn 2019), 702-707

Neuroprotective effect of topiramate against 6-hydroxydopamine-induced cell death in Parkinson's disease cell model

Fahimeh Fallah (M.Sc)[1,2], Azadeh Aminzadeh (Ph.D)[* 2,3]
1- Student Research Committee, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2-Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3-Pharmaceutics Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

* Corresponding author. +98 34 31325242 a.aminzadeh@kmu.ac.ir
Received: 13 Oct 2018; Accepted: 4 May 2019

Introduction: Parkinson's disease (PD) is a common neurodegenerative disorder characterized by progressive neuronal dysfunction. Growing evidence has shown that oxidative stress plays a crucial role in the pathogenesis of Parkinson's disease. Correspondingly, the current study evaluated the protective effect of topiramate in 6-hydroxydopamine induced oxidative stress and apoptosis in PC12 cells as an *in vitro* model for PD.

Materials and Methods: PC12 cells, a cellular model of PD, were treated with topiramate for 24 h. Then they were treated with 75 µM 6-hydroxydopamine for 24 h. Cell viability was examined by 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-tetrazolium bromide (MTT) assay. Intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were measured using 2, 7 dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCF-DA) assay. The levels of lipid peroxidation and total antioxidant power (TAP) were also measured.

Results: Remarkably, topiramate at concentration of 8 µM increased survival of PC12 cells exposed to 6-hydroxydopamine. Cell viability of PC12 cells on 6-hydroxydopamine was decreased compared to controls, which was reversed by topiramate. Topiramate also reduced intracellular reactive oxygen species (ROS) level and cellular lipid peroxidation. In addition, topiramate significantly increased total antioxidant power in 6-OHDA-treated cells.

Conclusion: Findings of this study showed that the topiramate protects PC12 cells against 6-OHDA-induced neurotoxicity through its potent antioxidant activity.

Keywords: 6-Hydroxydopamine, Oxidative Stress, Parkinson Disease, Topiramate, PC12 cells.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]