مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۹، آذر ۱۳۹۴(شماره پی در پی۱۰۴)

اثر حفاظت نورونی عصاره هیدروالکلی برگ "به" بر استرس اکسیداتیو القا شده با تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین در بافت قشر مغز موش صحرایی

اکبر حاجی زاده مقدم[۱*]، مریم مهاجرانی[۲]، عصمت محمدی [۲]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران، [۲]گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: استرس اکسیداتیو، نتیجه عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد. افزایش استرس اکسیداتیو در مغز موجب اختلال در فعالیت‌های مغزی، مرگ نورون‌ها و بیماری‌هایی چون آلزایمر می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین‌ها، ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها به طور گسترده به عنوان عوامل درمانی بالقوه در شرایط آزمایشگاهی و در داخل بدن برای پیشگیری از بیماری‌های عصبی مورد بررسی قرار می‌گیرند. هدف از این مطالعه، بررسی اثر حفاظت نورونی عصاره هیدروالکلی برگ درخت "به" بر استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین(STZ) در بافت قشر مغز بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۲ سر موش‌های صحرایی نر به طور تصادفی در ۶ گروه ۷ تایی شامل؛ کنترل، شم، بیمار و ۳ گروه تجربی تقسیم شدند. گروه‌های تجربی عصاره هیدروالکلی برگ به را با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت شش هفته در یافت نمودند. در پایان هفته سوم به گروههای بیمار و تجربی از طریق جراحی با دستگاه استریوتاکسی STZ به غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون بطنی تزریق شد. در پایان هفته ششم فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به روش جنت در قشر مغز اندازه‌گیری شدند. مقدار پروتئن به روش بردفرد اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی تجزیه تحلیل شدند.

یافته‌ها: در گروه بیمار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($p<۰/۰۰۱$) در حالی که پیش‌تیمار با دوزهای مختلف عصاره برگ به، به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم را نسبت به گروه بیمار افزایش داد ($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که پیش‌درمان با عصاره برگ "به" به‌واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می‌تواند سبب کاهش استرس اکسیداتیو القا شده با استرپتوزوتوسین در قشر مغز گردد. به نظر می‌رسد تا حدودی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اثرات خود را اعمال می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، استرپتوزوتوسین، عصاره برگ "به"، استرس اکسیداتیو

[*] **نویسنده مسئول: اکبر حاجی زاده مقدم**، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه بابلسر، گروه زیست شناسی
Email: a.hajizadeh@umz.ac.ir

مقدمه

اختلالات حافظه مرتبط با سن با کاهش مکانیسم های دفاع آنتی اکسیدانی مغز و پلاسما مرتبط است. بافت مغز به خاطر سطح اکسیژن بالا، سطح پایین حفاظت از آنتی‌اکسیدان‌ها و سطح بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع، مستعد ابتلا به آسیب اکسیداتیو می‌باشد(۲ و۱). استرس اکسیداتیوبه وسیله عدم تعادل در تولید رادیکال گونه‌های فعال اکسیژن و دفاع آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است(۳) که هر دو نقش مهمی‌در فرایند انحطاط عصبی وابسته به سن و زوال شناختی دارند، شواهد گسترده‌ای پیشنهاد می‌کند که آسیب اکسایشی به واسطه گونه‌های فعال اکسیژن در لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در بیماری آلزایمر رخ می‌دهد، که ممکن است نتیجه‌ای از افزایش گزنوبیوتیک‌های تشکیل شده از گونه‌های فعال اکسیژن باشد(۵ و۴). مدارک و شواهد نشان می‌دهند که استرس اکسیداتیو در بیماری آلزایمر از طریق سطح بالایی از پروتئین‌های اکسید شده، محصولات پایانی گلیکوزیلاسیون پیشرفته، محصولات نهایی پراکسیداسیون چربی، شکل‌گیری گونه‌های سمی مانند پراکسیدها، الکل‌ها، آلدئیدها، کربونیل‌های آزاد، کتون، کلستنون و تغییرات اکسیداتیودر DNA هسته‌ای و میتوکندری آشکار می‌شود(۷ـ۵).

ماده شیمیایی استرپتوزوتوسین(STZ)، یا گلوکز آمین- نیتروزاوره دارای اثرات سمی اختصاصی بر سلول‌های بتای پانکراس می‌باشد و جهت القای دیابت تیپ یک در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود(۸) و به صورت داخل بطنی در موش رسپتورهای انسولینی نورون‌ها را غیر حساس می‌کند، فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک را کاهش می‌دهد که باعث اختلال در مسیرهای انتقال سیگنال انسولین در مغز(۹)، به همراه آسیب اکسیداتیو و اختلال کولینرژیک در مدل‌های مرتبط با زوال عقل می‌شود بنابراین تزریق استرپتوزتوسین درون بطنی مغزی icv-STZ[1] مدل مناسبی برای مطالعه این بیماری می‌باشد(۱۱ و ۱۰).

در دو دهه اخیر تحقیق‌های گسترده‌ای به منظور دستیابی به روش‌های درمانی مناسب و بررسی علل و عوامل ایجاد کننده بیماری آلزایمر صورت گرفته است. در این راستا، روش‌های دارویی که چرخه نادرست استرس اکسیداتیو و انحطاط عصبی را به هم می‌زنند فرصت‌های جدید برای درمان ارایه دادند. یکی از راه‌های مقابله با استرس اکسیداتیو استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها با عمل جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد باعث محافظت سلولی و بافتی از آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردند(۱۳ و ۱۲). آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند فلاونوئیدهای گیاهی در مطالعه‌های آزمایشگاهی و حیوانی اثرات قابل توجهی را در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و مهار تولید گونه‌های فعال اکسیژن همچنین کاهش سمیت عصبی، آپوپتوز و مرگ سلولی از خود نشان می‌دهند(۱۲). ترکیب‌های فنولی موجود در گیاهان اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را در بدن موجودات زنده،

1-Intracerebroventricular Streptozotocin

احتمالاً با تحریک سیستم دفاعی اندوژنز آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌کنند. مانند پلی‌فنول‌ها که می‌توانند با القای آنزیم‌هایی چون گلوتاتیون اس ترانسفراز موجب افزایش دفع گونه‌های اکسیدان و هم‌چنین تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شوند(۱۴ و ۱۳).

بنابراین استفاده از گیاهان دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی یکی از راه‌های محافظت بدن علیه آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد است دراین راستا درخت به[1] با نام علمی *Cydonia oblonga*[2] از میوه‌های دانه‌دار متعلق به تیره رزاسه (Rosaceae) مورد بررسی قرار گرفت(۱۶ و ۱۵، ۱۲). درخت "به"، در شرایط آب و هوایی گرم و به صورت خودرو در ایران و افغانستان رشد می‌کند. برگ درخت "به" دارای ترکیب‌های فنلی شامل؛ ۳ـأ،۴ـأ،۵ـأ- کافئویل کوینیک اسید، ۳،۵ـأ- دی کافئویل کوینیک اسید، کوئرسیتین ۳ـأ- گالاکتوزید، کوئرسیتین ۳ـأ- روتینوزید، کامپفرول ۳-أ- گلوکوزید و کامپفرول ۳ـأ- روتینوزید وترکیب اسید آلی آن شامل کوئینیک اسید(۷۲/۲ درصد) وسیتریک اسید (۱۳/۶ درصد) است(۱۷ و۱۶). با توجه به آثار آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ "به"، به صورت خوراکی می‌توان سلول‌های عصبی را برای مقابله با استرس اکسایشی القا شده با تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین در نیمکره راست مغز موش‌های صحرایی نر آماده کرد و از این دو هدف این مطالعه بررسی اثر حفاظتی برگ به بر بهبود نقص های نورولوژی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در موش‌های بیمار بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از پژوهشکده انستیتوپاستور آمل خریداری و به اتاق حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشگاه مازندران انتقال داده شدند. حیوانات در شرایط آزمایشگاهی با درجه حرارت کنترل شده و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در حالی که به آب و غذا به جز در هنگام آزمایش‌ها به صورت نامحدود دسترسی داشتند، نگه‌داری می‌شدند. آزمایش‌ها یک هفته بعد از انتقال موش‌ها به مکان حیوان خانه به منظور سازگاری با محیط انجام شدند. همه آزمایش‌ها با پیروی از قوانین و مقررات مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت که مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه مازندران بودند.

عصاره‌گیری به شیوه خیساندن انجام شد، برگ درخت به پس از خشک شدن دور از نور مستقیم خورشید به وسیله آسیاب مکانیکی به پودر تبدیل شد. مقدار ۲۰ گرم از پودر خشک گیاه با ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد در ارلن ریخته شده و به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۶۰ قرار داده شد. پس از این مدت محلول به وسیله کاغذ صافی(واتمن شماره ۱) صاف گردید. محلول صاف شده جهت حذف حلال

1-Quince
2-Cydonia Oblonga Miller

در دستگاه روتاری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد . سپس عصاره غلیظ شده درآون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا بـه عصـاره خشـک تبدیل گردد. وزن عصاره خشک به دست آمده در ایـن آزمایش ۶ گرم بود. عصاره خشـک بـا آب مقطـر بـه صورت غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه شد. استرپتوزوتوسین با محلول سالین به غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه گردید(۱۹).

حیوانات به طور تصادفی به شش گـروه هفـت تـایی شـامل گـروه هـای کنتـرل، شـم، بیمارشـده بـا استرپتوزوتوسین و سه گروه تیمار شـده بـا عصـاره هیدرو الکلی برگ درخت "به" تقسیم شدند. گروه‌هـای شم و بیمار، حلال عصـاره را و سـه گـروه تیمـار بـه روش گاواژ به مدت شش هفته روزانـه عصـاره بـرگ "به" را به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند(۲۰). سه هفته بعد از تیمار با عصاره، تمامی گروه‌ها به غیر از گروه کنترل، بـا اسـتفاده از کتـامین ۷۰ میلـی‌گـرم بـر کیلـوگرم و زایلوزین ۴ میلی‌گـرم برکیلـوگرم بیهـوش شـدند و بـا کمـک دسـتگاه اسـترئوتاکس و اطلـس پاکسـینوس و واتستون جراحی شدند. کانول گذاری در بطن نیمکـره راست مغز بـا مختصـات(۰/۸میلـی‌متـر از برگمـا، ۱/۴ میلی‌متر از شیار میانی به طـرف بطـن جـانبی راسـت و۳/۶ میلی‌متر از سطح جمجمـه بـه عمـق) انجـام شـد. تزریـق درون بطـن بـه کمـک سـرنگ همیلتـون ۱۰ میکرولیتـری از طریـق کـانول تزریقـی شـماره ۲۷ انجام می‌شد. محلول استرپتوزوتوسـین بـا غلظـت سـه میلـی‌گـرم برکیلـوگرم در سـالین در بطن طرف راست به آهستگی به مدت پنج دقیقه تزریق شد(۲۱).

آنزیم کاتاز قادر به تبدیل پراکسـید هیـدروژن بـه آب وآکسـیژن مـی‌باشـد. طبـق روش جنـت و همکاران(۲۰۰۲) با اضافه کردن ۰/۷۶ میلی‌لیتر محلول مخصـوص سـنجش فعالیـت کاتـالاز(۵۰ میلـی‌لیتـر بافرفسفات در ۰/۰۵ میلی‌لیتر پراکسـید هیـدروژن) بـه ۰/۰۶ میلی‌لیتر سوپرناتانت بافت مغـز، تغییـرات جـذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در طی ۲ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بـر حسـب میلـی‌گـرم بـر پـروتئین مشخص شد.

بررسی فعالیت آنزیم سوپر اکسـید دیسـموتاز بر اساس روش جنـت و همکـاران(۲۰۰۲) تعیـین شـد. ۰/۷۶میلـی‌لیتـر محلـول مخصـوص سـنجش فعالیـت سوپراکسید دیسموتاز که شامل بافرسدیم فسفات(۵۰ میلی‌لیتر، ۵۰ میلی‌مولار) واتـیلن دی‌آمـین‌تترا اسـتیک اسید(۰/۱میلی‌مولار) و پیروگالول (۰/۴۸میلـی مـولار) می‌باشد بـه ۰/۰۶ میلـی‌لیتـر سـوپرناتانت بافـت مغـز اضافه شد وتغییرات جذب به وسـیله اسـپکتروفتومتر در طول مـوج ۴۲۰ نـانومتر تعیـین شـد و بـر حسـب میلی‌گرم بر پروتئین گزارش گردید.

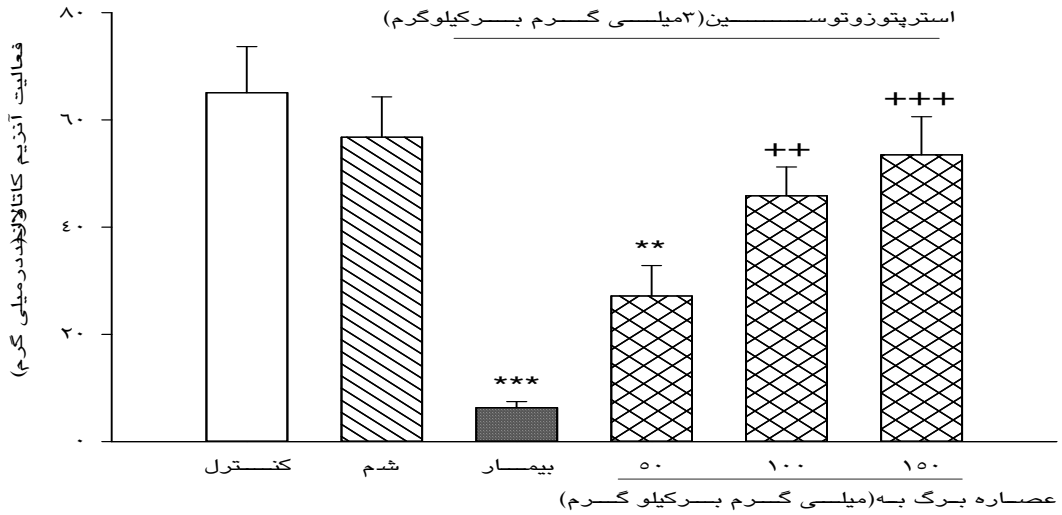
داده‌هـای جمـع‌آوری شـده بـا اسـتفاده از نرم‌افزارSPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

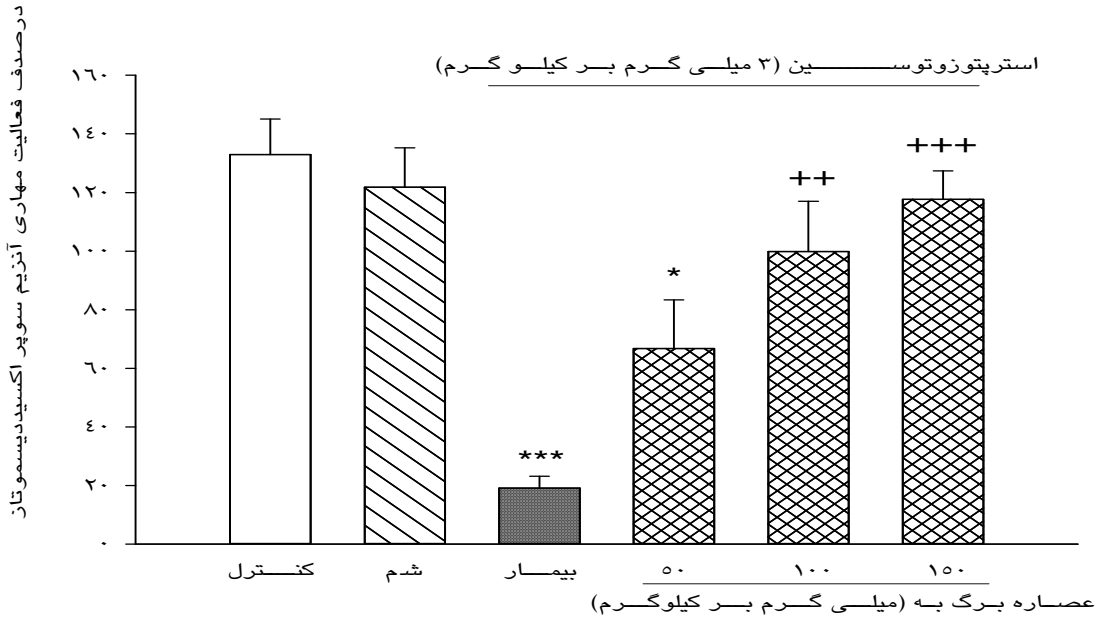
نتایج حاصل از دریافت عصاره برگ "بـه" بـر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بـه شرح زیر بود.

اثـر عصـاره هیـدروالکلی بـرگ "بـه" در غلظت‌های مختلف بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که فعالیت آنزیم کاتـالاز در گـروه شـم نسـبت بـه گـروه کنترل تغییر معنی‌داری را نشان نداد و در موش‌هـایی که عـلاوه بـر تزریـق استرپتوزوتوسین تحت تیمـار عصاره برگ "به" قرار گرفته‌اند در مقایسـه بـا گـروه بیمار افزایش یافته است. از طرف دیگر سـطح فعالیـت آنزیم کاتالاز در گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه کنترل به طـور معنـی‌داری کـاهش یافتـه اسـت($p<۰/۰۰۱$). فعالیـت آنـزیم در گـروه‌هـای دریافت کننـده عصـاره بـرگ "بـه" در دوزهـای ۱۰۰ میلـی‌گـرم برکیلـوگرم ($p<۰/۰۱$) و ۱۵۰ میلـی‌گـرم برکیلوگرم ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه بیمار افزایش را نشان داد ولی دوز ۵۰ میلی‌گرم بـر کیلـوگرم اخـتلاف معنی‌داری با گروه بیمار نداشت، ولی ایـن اخـتلاف در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد($p<۰/۰۱$)(شکل ۱).

اثر عصاره هیدروالکلی برگ "به" را در غلظت های مختلف بر فعالیـت آنـزیم سوپراکسیددیسـموتاز نشان داد که فعالیـت آنـزیم سوپراکسیددیسـموتاز در گروه شم نسبت به گروه کنتـرل تغییـر معنـی‌داری را نشـان نـداد و در مـوش‌هـایی کـه عـلاوه بـر تزریـق استرپتوزوتوسین تحت تیمار عصاره برگ "به" قـرار گرفته‌اند در مقایسه با گروهی که استرپتوزوتوسین به تنهایی دریافت کردنـد، افـزایش یافتـه اسـت. از طـرف دیگر سطح فعالیـت آنـزیم کاتـالاز در گـروه دریافـت کننده استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه کنترل بـه طور معنی‌داری کاهش یافته اسـت($p<۰/۰۰۱$). فعالیـت آنزیم در گروه‌های دریافت کننده عصـاره بـرگ "بـه" در دوزهـای ۱۰۰ میلـی‌گـرم برکیلـوگرم ($p<۰/۰۱$) و۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه بیمار افزایش را نشان داد، ولی دوز ۵۰ میلـی‌گـرم بـر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری با گروه بیمار نداشت، ولی این اختلاف در مقایسه با گـروه کنتـرل مشـاهده شـد ($p<۰/۰۵$)(شکل ۲).



شکل۱: بررسی اثر عصاره برگ "به" در غلظت های مختلف برفعالیت آنزیم کاتالاز در نیمکره مغز، نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار از میانگین بیان شده است. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ($^{*}p<۰/۰۵$ ، $^{**}p<۰/۰۱$ ، $^{***}p<۰/۰۰۱$) اختلاف معنی‌دار با گروه دریافت کننده STZ ($+p<۰/۰۵$ ،$++p<۰/۰۱$ ،$+++p<۰/۰۰۱$)



شکل۲: بررسی اثر عصاره برگ به در غلظت های مختلف برفعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در نیمکره مغز، نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار از میانگین بیان شده است. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل($^{*}p<۰/۰۵$ ، $^{**}p<۰/۰۱$ ، $^{***}p<۰/۰۰۱$) اختلاف معنی‌دار با گروه دریافت کننده STZ ($+p<۰/۰۵$ ،$++p<۰/۰۱$ ،$+++p<۰/۰۰۱$)

بحث

بررسی نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق STZ به ناحیه بطن مغز موجب القاء استرس اکسیداتیو شده و دریافت غلظت‌های مختلف عصاره برگ به، به واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، استرس اکسیداتیو ناشی از سم استرپتوزوتوسین را به صورت معنی‌داری کاهش داد. این نتایج در راستای مطالعه‌های پیشین است. مطالعه‌های قبلی نشان داد که تزریق icv-STZ منجر به القاء استرس اکسیداتیو و اختلال در متابولیسم گلوکز و رفتار می‌شود(۲۶ـ۲۴). در مطالعه‌های دیگر شارما وهمکاران گزارش دادند که تزریق استرپتوزوتوسین در مغز رت‌ها باعث کاهش سطح گلوتاتیون و افزایش سطح مالون دی آلدئید می‌گردد به طوری که می‌تواند به عنوان مدل حیوانی مناسبی برای بررسی آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماری تحلیل نورونی از جمله آلزایمر نیز در نظر گرفته شود(۲۷). ساکوویچ وهمکاران نشان دادند که تیمار با استرپتوزوتوسین موجب تولید گونه اکسیژن فعال می‌شود و منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و رها شدن نیترات اکساید(NO) در مغز موش می‌گردد(۲۸). کومار و همکاران سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مالون‌دی‌آلدئید را در رت‌های دریافت کننده

استرپتوزوتوسین و عصاره آبی گیاه(Centella asiatica) بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که رت‌های با تزریق درون بطنی STZ دچار اختلالات شناختی و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده و درحالی که رت‌های دریافت کننده عصاره گیاه (Centella asiatica) کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز وابسته به دوز نشان دادند(۲۹). جاود و همکاران گزارش دادند که تزریق استرپتوزوتوسین باعث کاهش سطح گلوتاتیون و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و گلوتاتیون رودکتاز و مارکرهای التهابی در مغز رت‌ها می‌گردد و پیش درمان با فلاونوئید روتین باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مارکرهای التهابی می‌شود(۳۰). نقی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر حفاظتی کروستین را برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین در ناحیه استریاتوم مغز رت، بررسی کردند و گزارش نمودند که افزایش معنی‌داری در سطح مالون‌دی آلدئید و کاهش درفعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در رت‌های دریافت کننده STZ در مقایسه با گروه درمان شده با کروستین مشاهده شده است(۳۱). نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر مهار استرس اکسیداتیو و بهبود سطح ATP به وسیله عصاره برگ"به" در موش‌های گروه بیمار دریافت کننده عصاره برگ است. مطالعه‌های متعددی بیانگر خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد استرس اکسیداتیو ترکیب‌های فنلی هستند. به طوری که کاستا وهمکاران گزارش دادند که عصاره برگ درخت "به" دارای ترکیب‌های فنلی شامل؛ مشتقات کافئوایل کوینیک اسید، کوئرسیتین ـ۳ـأُـ گالاکتوزید، کوئرسیتین ـ۳ـأُـ روتینوزید (روتین)، کامپفرول ـ۳ـأُـ گلوکوزید و کامپفرول ـ۳ـ أُـ روتینوزید می‌باشد و ترکیب‌های فنلی عصاره متانولی برگ "به" بیشتر از میوه آن بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن وابسته به غلظت و مشابه عصاره چای سبز می‌باشد هم‌چنین گزارش نمودند که عصاره برگ "به"دارای خاصیت ضد رادیکالی وپروکسیلی و جاروب کننده رادیکال بیشتری درمقایسه با قسمت‌های مختلف گیاه "به" می‌باشد(۱۲). یکی از آسیب‌های مطرح شده در آلزایمر که با از دست دادن حافظه مرتبط است، نقص در سیستم کولینرژیک و کاهش استیل کولین می‌باشد. اسید کلروژنیک موجود در برگ "به" می‌تواند مدت زمان ماندگاری و اثر استیل کولین را در شکاف سیناپسی افزایش دهد(۳۲). کودا و همکاران گزارش دادند که روتین به عنوان یک رنگدانه طبیعی، پایدار کننده و نگهدارنده مواد غذایی در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب، فعالیت‌های بیوزیستی گوناگونی از جمله اثرات آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی دارد(۳۳). سلوا و همکاران گزارش کردند که اثر آنتی‌اکسیدانی اسید کافئوایل کوئینیک می‌تواند به وسیله حضور گروه‌های کتکول که به وسیله جا به جایی الکترون به رادیکال‌های فنوکسیل ثبات می‌دهد توضیح داده شود. به علاوه پیوند دوگانه در زنجیره جانبی گروه کاتکول احتمالاً نقش مهمی در ثبات رادیکال فنوکسیل بالقوه داشته و بنابر این در تشدید فعالیت آنتی رادیکال نقش دارد(۳۴). ساگدیک و

همکاران نشان دادند ترکیب‌های فلاونوئیدی روتین، کوئرستین و کامپفرول خواص دارویی، ضدباکتری و ضداکسیداسیونی دارند. اثرات آنتی‌اکسیدانی کوئرستین ناشی از شلاته کردن فلزات، مهار کردن رادیکال‌ها، بازدارندگی آنزیمی و تحریک بیان آنزیم های محافظتی است(۳۵). براساس مطالعه‌های پیشین، عصاره برگ "به" غنی از ترکیب‌های پلی‌فنلی می‌باشد و استفاده از آنتی اکسیدان‌های خوراکی می‌تواند اثر محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو داشته باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان داد که تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن مغز موجب القا استرس اکسیداتیو می‌شود و مصرف عصاره برگ "به" به واسطه افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در ناحیه قشر مغز باعث تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد دانشگاه مازندران می‌باشد، که با حمایت‌های مالی و معنوی معاونت پژوهشی و آزمایشگاه بیوشیمی و فیزیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران انجام شد.

REFERENCES:

1.Perrig WJ, Perrig P, Stähelin H. The relation between antioxidants and memory performance in the old and very old. Journal of the American Geriatrics Society 1997; 45(6): 718-24.

2.Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan R. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. Current Neuropharmacology 2009; 7(1): 65.

3.Davies KJ. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. IUBMB life 2000; 5(4-5): 279- 89.

4.Imosemi I, IMOSEMI I. The role of antioxidants in cerebellar development. a review of literature. Int J Morphol 2013; 31(1): 203-10.

5.Gella A, Durany N. Oxidative stress in alzheimer disease. Cell Adhesion & Mgration 2009; 3(1): 88-93.

6.Miranda S, Opazo C, Larrondo LF, Muñoz FJ, Ruiz F, Leighton F, et al. The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid β-peptide in Alzheimer's disease. Progress in Neurobiology 2000; 62(6): 633-48.

7.Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A. Oxidative stress in alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail?. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2014; 5: 2014.

8.Correia SC, Santos RX, Perry G, Zhu X, Moreira PI, Smith MA. Insulin-resistant brain state: the culprit in sporadic Alzheimer's disease?. Ageing Research Reviews 2011; 10(2): 264-73.

9.Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, de la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. Journal of Alzheimer's Disease 2006; 9(1): 13-33.

10.Deshmukh R, Sharma V, Mehan S, Sharma N, Bedi K. Amelioration of intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive dysfunction and oxidative stress by vinpocetine—a PDE1 inhibitor. European Journal of Pharmacology 2009; 620(1): 49-56.

11. Grünblatt E, Salkovic-Petrisic M, Osmanovic J, Riederer P , Hoyer S. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. Journal of Neurochemistry 2007; 101(3): 757-70.

112.Costa RM, Magalhães AS, Pereira JA, Andrade PB, Valentão P, Carvalho M, et al. Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (Cydonia oblonga) leaf: A comparative study with green tea (Camellia sinensis). Food and Chemical Toxicology 2009; 47(4): 860-5.

13.Williams RJ, Spencer JP. Flavonoids, cognition, and dementia: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. Free Radical Biology and Medicine 2012; 52(1): 35–45.

14.Ramassamy C. Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. European Journal of Pharmacology 2006; 545(1): 51-64.

15.Khoubnasabjafari M, Jouyban A. A review of phytochemistry and bioactivity of quince (Cydonia oblonga Mill.). Journal of Medicinal Plants Research [online] 2011; 6: 110.

16.Oliveira AP, Costa RM, Magalhães AS, Pereira JA, Carvalho M, Valentão P, et al. Targeted metabolites and biological activities of cydonia oblonga Miller leaves. Food Research International 2012; 46(2): 496-504.

17.Oliveira AP, Pereira JA, Andrade PB, Valentão P, Seabra RM, Silva BM. Phenolic profile of Cydonia oblonga Miller leaves. Journal of Agricultural and food Chemistry 2007; 55(19): 7926-30.

18.Carvalho M, Silva BM, Silva R, Valentao P, Andrade PB, Bastos ML. First report on cydonia oblonga Miller anticancer potential: differential antiproliferative effect against human kidney and colon cancer cells. Journal of Agricultural and food Chemistry 2010; 58(6): 3366–70.

19.Khademi F. The efficay of quince leave extract on atherosclerotic plaques induced by atherogenic diet in coronary and aorta, hyperlipidemia and liver in rabbit. Iran: Tabriz University of Medical Sciences; 2009; 66.

20.González-Correa J, Muñoz-Marín J, Arrebola M, Guerrero A, Narbona F, López-Villodres J, et al. Dietary virgin olive oil reduces oxidative stress and cellular damage in rat brain slices subjected to hypoxia–reoxygenation. Lipids 2007; 42(10): 921-9.

21.Shrivastava P, Vaibhav K, Tabassum R, Khan A, Ishrat T, Khan MM, et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effect of piperine on 6-OHDA induced Parkinson's rat model. The Journal of Nutritional Biochemistry 2013; 24(4): 680-7.

22.Harrod S, Flint R, Riccio DC. MK-801 induced retrieval ,but not acquisition, deficits for passive avoidance conditioning. Pharmacology Biochemistry and Behavior 2001; 69(3): 585-93.

23.Bigdeli MR, Rasoulian B, Meratan AA. In vivo normobaric hyperoxia preconditioning induces different degrees of antioxidant enzymes activities in rat brain tissue. European Journal of Pharmacology 2009; 611(1): 22-9.

24.Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. Behavioural Brain Research 2006; 171(1): 9-16.

25.Hoyer S, Lannert H. Long-term effects of corticosterone on behavior, oxidative and energy metabolism of parietotemporal cerebral cortex and hippocampus of rats: comparison to intracerebroventricular streptozotocin. Journal of Neural Transmission 2008; 115(9): 1241-9.

26.Salkovic-Petrisic M, Osmanovic-Barilar J, Brückner MK, Hoyer S, Arendt T, Riederer P. Cerebral amyloid angiopathy in streptozotocin rat model of sporadic Alzheimer's disease: a long-term follow up study. Journal of Neural Transmission 2011; 118(5): 765-72..

27.Sharma M, Gupta Y. Intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats produces both oxidative stress in the brain and cognitive impairment. Life Sciences 2001; 68(9): 1021-9.

28.Salkovic-Petrisic M, Knezovic A, Hoyer S, Riederer P. What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer's disease, about the therapeutic strategies in Alzheimer's research. Journal of Neural Transmission 2013; 120(1): 233-52.

29.Veerendra Kumar M, Gupta Y. Effect of Centella asiatica on cognition and oxidative stress in an intracerebroventricular streptozotocin model of Alzheimer's disease in rats. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 2003; 30(5-6): 336-42.

30.Javed H, Khan M, Ahmad A, Vaibhav K, Ahmad M, Khan A, et al. Rutin prevents cognitive impairments by ameliorating oxidative stress and neuroinflammation in rat model of sporadic dementia of Alzheimer type. Neuroscience 2012; 210: 340-52.

31.Naghizadeh B, Mansouri MT, Ghorbanzadeh B. Protective effects of crocin against streptozotocin-induced oxidative damage in rat striatum. Acta Medica Iranica 2014; 52(2): 101-5.

32.Kovacsova M, Barta A, Parohova J, Vrankova S, Pechanova O. Neuroprotective mechanisms of natural polyphenolic compounds. Act Nerv Super Rediviva. 2010; 52(3): 181-6.

33.Koda T, Kuroda Y, Imai H. Protective effect of rutin against spatial memory impairment induced by trimethyltin in rats. Nutrition Research 2008; 28(9): 629-34.
34.Silva B, Valentão P, Seabra R, Andrade P, Papadopoulos K. Quince (Cydonia oblonga Miller): an interesting dietary source of bioactive compounds. Food Chemistry Research Developments 2008: 243-66.
35.Sagdiç O, Baydar N, Baydar H. Note: Antioxidant and antibacterial activities of Rosa damascena flower extracts. Food Science and Technology International 2004; 10(4): 277-81.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Neuroprotective Effect of Quince Leaf Hydroalcoholic Extract on Intracerebroventricular Streptozotocin-induced Oxidative Stress in the Cortical Tissue of Rat Brain

Hajizadeh Moghaddam A[1*], Mohadjerani M [2], Mohammadi takasi E [2]

[1] Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran, [2]Department of Cellular and Molecular, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Received: 28 Jan 2015 Accepted: 12 Oct 2015

Abstract

Background & aim: Oxidative stress is a result of the imbalance between free radicals and the antioxidant system of the body. Increased oxidative stress in brain causes dysfunction of brain activities, destruction of neurons, and disease such as Alzheimer. Antioxidants, for example vitamins, phenolic compounds and flavonoids have been extensively investigated as potential therapeutic agents in vitro and in vivo for prevention of neurodegenerative diseases. In the present experimental study, the neuro-protective effect of quince leaf hydroalcoholic extract (QLHE) on intracerebroventricular streptozotocin (icv-STZ)-induced oxidative stress in cortical tissue of rat brain was examined.

Methods: In the present experimental research, forty-two Wistar rats were randomly divided into control, sham, icv-STZ and icv-STZ treated with QLHE groups. The ICV-STZ group rats were injected unilaterally with ICV-STZ (3 mg/kg) using a stereotactic device and QLHE (50, 100 and 150 mg/kg/day) were administered for 6 weeks starting from 3 weeks before of ICV-STZ injection. The rats were killed at the end of the study and their brain cortical tissue superoxide dismutase and catalase activity were measured. The assay of catalase and superoxide dismutase was performed by following the Genet method. The amount of protein was determined according to the Bradford method.The statistical analysis was performed using one way ANOVA. Data were expressed as mean±SD and $P<0.05$ was considered significant.

Results: The present study indicated that in the ICV-STZ group showed significant decrease ($P<0.001$) in enzymatic antioxidants superoxide dismutase and catalase in the cortical tissue of the brain. Treatment of different doses of QLHE significantly increased superoxide dismutase and catalase activity compared to icv-STZ group ($P<0.001$) in cortical tissue of the brain.

Conclusion: The study demonstrated the effectiveness of quince leaf hydroalcoholic extract as a powerful antioxidant in preventing the oxidative damage by increasing the catalase and superoxide dismutase activity caused by ICV-STZ in cortical tissue of rat brain. Although further studies are needed to clarify the mechanisms of neuroprotective effect of quince leaf, the hydroalcoholic extract seems to partly exert their effects via increasing the antioxidant enzymes activities.

Keyword: Antioxidant, Alzheimer, streptozotocin, Cydonia oblonga leaf extract, Oxidative Stress.

[*]**Corresponding author**: Hajizadeh Moghaddam A, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Email: a.hajizadeh@umz.ac.ir

Please cite this article as follows:

Hajizadeh Moghaddam A, Mohadjerani M, Mohammadi takasi E. The Neuroprotective Effect of Quince Leaf Hydroalcoholic Extract on Intracerebroventricular Streptozotocin-induced Oxidative Stress in the Cortical Tissue of Rat Brain. Armaghane-danesh 2015; 20 (9): 756-767.