دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وچهارم-شماره ۱۲۹
تیر ۱۳۹۶

دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۹
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۶/۰۳/۲۲
پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۹

اثر حفاظت عصبی دیوسجنین در مدل تجربی بیماری پارکینسون القاشده با ۶-هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی

نویسندگان: زهرا قاسمی[۱]، زهرا کیاسالاری[۲]، فاطمه ابراهیمی[۳]، فریبا انصاری[٤]، مریم شرایلی[٥]، مهرداد روغنی[٦*]

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
۳. گروه فیزیولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
٤. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
٥. گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
٦. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: مهرداد روغنی **E-mail: mehjour@yahoo.com**

چکیده

مقدمه و هدف: بیماری پارکینسون یکی از شایع‌ترین انواع بیماری‌های نورودژنراتیو می‌باشد که از نظر کلینیکی توسط اختلالات حرکتی مانند کندی حرکات، سختی عضلات، لرزش در حال استراحت و اختلال وضعیت مشخص می‌شود. این مطالعه، طراحی شده است تا اثرات مادهٔ مؤثر دیوسجنین را به‌عنوان یک ماده با خواص آنتی‌اکسیدانی و نوروپروتکتیو بر مدل موشی بیماری پارکینسون القاشده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین بررسی کند.

مواد و روش‌ها: چهل موش صحرایی نر، به چهار گروه تقسیم شدند. ۱. شم؛۲. شم درمان‌شده با دیوسجنین (۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم)؛ ۳. گروه جراحی‌شده با ۶-هیدروکسی دوپامین؛ ۴. گروه جراحی درمان‌شده با دیوسجنین. موش‌ها دیوسجنین را به‌روش گاواژاز قبل از جراحی برای مدت یک هفته دریافت کردند .در انتهای این مدت، مدل تجربی بیماری پارکینسون توسط تجویز مستقیم یک‌طرفه ۶-هیدروکسی دوپامین به داخل استریاتوم القا شد. تست رفتاری چرخش قبل و بعد از جراحی مطالعه شد. مالون دی آلدهید (MDA) ، گلوتاتیون (GSH ، کاتالاز، نیتریت (NO) پروتئین رشته‌ای اسیدی گلیال (GFAP) در بافت هموژنیزه‌شدهٔ استریاتوم اندازه‌گیری شدند. همچنین، نورون‌ها با رنگ‌آمیزی نیسل در بخش متراکم جسم سیاه (SNc) شمارش و مقایسه شدند.

نتایج: در بررسی رفتاری تعداد چرخش‌ها در گروه ضایعه‌دیدهٔ تحت‌تیمار با دیوسجنین، نسبت به گروه ضایعه‌دیده کاهش معنی‌دار داشت ($P<0.05$). به‌علاوه، از کاهش تعداد نورون‌ها در بخش متراکم جسم سیاه در گروه ضایعهٔ تحت‌تیمار، نسبت به گروه ضایعه کاسته شد ($P<0.05$). همچنین، مقادیر GFAPو MDA مغز را به‌ترتیب با ($P<0.05$) و ($P<0.01$) در گروه ضایعهٔ تحت‌تیمار کاهش داد در حالی که مقادیر گلوتاتیون استریاتوم را افزایش داد ($P<0.05$). به‌علاوه، درمورد نیتریت و کاتالاز تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: پیش‌درمانی با دیوسجنین موجب بهبود رفتار حرکتی و کاهش عدم‌تقارن حرکتی در حیوانات ضایعه‌دیده با ۶-هیدروکسی دوپامین شد و موجب حفاظت نورون‌ها در بخش متراکم جسم سیاه می‌گردد که این از طریق کاهش آستروگلیوز و استرس اکسیداتیو به انجام رسیده است.

واژگان کلیدی: بیماری پارکینسون، دیوسجنین، ۶-هیدروکسی دوپامین، استرس اکسیداتیو، GFAP

مقدمه

بیماری پارکینسون یک اختلال عصبی نورودژنراتیو با شیوع ۱ تا ۲درصد در افراد بالای ٦٥ سال می‌باشد که با تخریب نورون‌های دوپامینرژیک مسیر نیگرواستریاتال و کاهش غلظت نوروترانسمیتر دوپامین خود را نشان می‌دهد (۱). بیماری پارکینسون دارای هر دو اختلالات حرکتی و غیرحرکتی می‌باشد. اختلالات حرکتی شامل کندی حرکات (Bradykinesia)، فقدان حرکت (Akinesia)، ناپایداری وضعیتی ناشی از اختلال در رفلکس‌های وضعیتی که منجر به تضعیف تعادل و سقوط فرد می‌شود، لرزش در هنگام استراحت (Resting Tremor) و صورت ماسک‌شده است. اختلالات غیرحرکتی شامل اختلال در بلع، شب‌ادراری، یبوست، اختلالات خواب، احتباس ادرار، افت فشارخون وضعیتی، سنکوپ، تاری دید، اضطراب، سندرم ناتوانی جنسی، توهم، سایکوز و زوال عقل می‌باشد. از نظر پانوژنز نیز این علائم، به افزایش آسیب‌پذیری نورون‌های دوپامینرژیک و مسمومیت آن‌ها به‌دنبال افزایش نقص در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکالی نرمال سلول دخالت دارد (۲). دو عامل محیطی و ژنتیکی به شروع بیماری کمک می‌کند و در این میان استعداد ژنتیکی، به‌عنوان اصلی‌ترین عامل بیماری در نظر گرفته می‌شود. با این وجود یکی دیگر از عواملی که به‌شدت با شروع بیماری مرتبط است سن یا روند پیری می‌باشد. راهبردهای دارودرمانی عبارت‌اند از: افزایش فعالیت دوپامین یا کاهش فعالیت کولینرژیک در مغز یا هر دو با هم؛ ولی این داروهای رایج در درازمدت عمدتاً در روند پاتوژنز بیماری تأثیر کمی دارند و تاکنون دارویی که به‌طور مؤثر این بیماری را درمان کند یافت نشده است. داروها به پنج گروه تقلیدکننده‌های دوپامین، آگونیست‌های دوپامین (بروموکریپتین، پرامیپکسول)، مهارکننده‌های مونوآمین اکسیداز (سلژیلین) و مهارکننده‌های کاته کول –o– متیل ترانسفرازها (انتاکاپون) و آگونیست‌های موسکارینی (بنزوتروپین) تقسیم می‌شوند. همچنین درمان‌های مکمل مانند پیوند سلول‌های بنیادی، جراحی و تحریک هسته‌های عمقی مغز و استفاده از مکمل‌های خوراکی نیز در دستور کار قرار گرفته است (۳). علل و زمینه‌های ایجادکنندهٔ پارکینسون بسیار متنوع می‌باشد و شامل فرآیندهای پاتولوژیک متعدد، فاکتورهای ژنتیکی، التهاب به‌خصوص فرآیند آستروگلیوزیس، عدم‌تعادل بین گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سلول، کاهش سطح گلوتاتیون، افزایش سطح آهن، قرارگرفتن در معرض آلاینده‌های محیطی مانند ارگانو فسفرها شامل روتنون و MPTP و افزایش سطح مالون دی آلدئید در سلول‌های دوپامینرژیک می‌باشد (٤). در طی چند سال اخیر، استفاده از مواد طبیعی در درمان حفاظتی بیماری‌های عصبی به‌طور روزافزون، مورداستفاده قرار گرفته‌اند. در این خصوص، دیوسجنین یک ساپوجنین یافت‌شده در ساقهٔ زیرزمینی گیاه یام می‌باشد و به‌طور وسیع، به‌شکل گلیکوزید در گیاهانی مانند شنبلیله یافت می‌شود که یک مادهٔ واسطهٔ مهم برای ساخت هورمون‌های استروئیدی مختلف در صنعت داروسازی می‌باشد. اثرات مفید آن بر روی اختلالات سیستم عصبی مرکزی، سیستم ایمنی، سیستم اکسیداتیو و سیستم التهابی موردتأیید قرار گرفته است (۵). با توجه به شباهت بالای مدل پارکینسون القاشده توسط تزریق داخل مغزی ٦– هیدروکسی دوپامین با روند پاتوژنیک بیماری پارکینسون در انسان و اهمیت بالینی آن، هدف بررسی حاضر، تعیین اثر سودمند تجویز دیوسجنین در کاهش استرس اکسیداتیو در مدل تجربی پارکینسونی القاشده توسط ٦–هیدروکسی دوپامین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از چهل سر، موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (دانشگاه بقیةالله تهران) در محدودهٔ وزنی

۲۰۵ تا ۲٤٥ گرم استفاده شد .تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱تا ۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ٤تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش دسترسی داشتند و به‌مدت یک هفته قبل از شروع کار، نگهداری شدند. در این آزمایش از موش‌هایی استفاده شد که رفتار چرخشی یک‌طرفه (چرخش‌های کامل بیشتر از ۳۰ بار در هر ساعت) را به‌دنبال تزریق داخل صفاقی آپومرفین به‌میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان نمی‌دادند. موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به چهار گروه شم (SHAM)، گروه شم و دیوسجنین، گروه ضایعه‌دیده (٦-هیدروکسی دوپامین) و گروه ضایعه‌دیدهٔ تحت‌تیمار با دیوسجنین تقسیم شدند .برای پارکینسونی‌نمودن حیوانات از ٦- هیدروکسی دوپامین (سیگما، آمریکا) به‌میزان ۱۲/٥ میکروگرم حل‌شده در محلول سالین آسکوربات و به‌میزان ٥ میکرولیتر در استریاتوم سمت چپ با مختصات ۳ میلی‌متر جانبی به‌سمت چپ، ٤.٥ میلی‌متر از سطح سخت شامه و ۰.۲ میلی‌متر قدامی خلفی نسبت به برگما با استفاده از سرنگ همیلتون و به‌روش استریوتاکسی و بیهوشی با مخلوط کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) استفاده شد .گروه شم نیز فقط محلول سالین آسکوربات را با همان حجم دریافت نمود. دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور روزانه و خوراکی با استفاده از سوزن گاواژ از یک هفته قبل از جراحی تا زمان جراحی تجویز شد.

ارزیابی رفتاری بعد از آزمایش

بررسی رفتاری با تیمار داروی آپومورفین هیدروکلراید (سیگما، آمریکا) به‌میزان ۲ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی، یک هفته بعد از جراحی موش ها صورت گرفت. موش‌ها از ۱۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش در محفظهٔ استوانه‌ای با قطر ۳٥ سانتی‌متر و ارتفاع ۲٥ سانتی‌متر نگهداری شدند. پس از تزریق دارو، تعداد چرخش کامل ۳٦۰ درجه، در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه‌ای به‌مدت ٦۰ دقیقه، به‌صورت دستی اندازه‌گیری شد. در مدت آزمایش موش‌ها تنها به آب دسترسی داشتند. تعداد چرخش‌ها به‌سمت مخالف محل ضایعه (سمت راست) به‌عنوان عدد مثبت و چرخش به‌سمت محل ضایعه (سمت چپ) به‌عنوان عدد منفی در نظر گرفته شد. تعداد خالص چرخش، پس از تفاضل چرخش‌ها در دو جهت محاسبه گردید.

سنجش مالون‌دی‌آلدهید

اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بر اساس روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric Acid, TBA) است. در این روش مالون دی‌آلدهید یا مواد شبه مالون‌دی‌آلدهید با تیوباربیتوریک اسید واکنش‌داده و رنگ صورتی ایجاد می‌کنند که ماکزیمم جذب نوری آن‌ها، در طول‌موج ٥۳۲ نانومتر است. این واکنش در pH=۲-۳ و در دمای۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ دقیقه انجام شد. بعد از سردکردن نمونه، جذب نوری خوانده شد. ابتدا ۱٥۰ میکرولیتر از نمونه‌های سانتریفیوژشده به ۱/٥ میلی‌لیتر تری‌کلرواسید استیک و ۱/٥ میلی‌لیتر از TBA اضافه شد. تمامی نمونه‌ها و لوله‌های استاندارد با رقت‌های مختلف به‌مدت ۹۰ دقیقه در بن‌ماری آب جوش قرار داده شدند تا واکنش صورت گیرد. سپس محلول‌ها در دور ۳۰۰۰ به‌مدت ۱۰دقیقه سانتریفیوژشده و جذب نوری آن‌ها در طول موج ٥۳۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد نیز بر اساس رقت‌های تترا اتوکسی پروپان تهیه‌شده و جذب نوری به‌دست آمده از نمونه‌ها بر روی منحنی استاندارد تطبیق داده شد.

سنجش غلظت نیتریت

سنجش غلظت نیتریت بافت مغزی، بر اساس واکنش گریس صورت گرفت. از آنجایی که سنجش مستقیم نیتریت در نمونه‌های بیولوژیکی مشکل می‌باشد، مقدار NO_2^- و نیترات NO_3^- به‌عنوان شاخصی برای تولید نیتریت محسوب می‌شود. محلول کاری حاوی سولفانیل آمید

۱درصد، نفتیل‌اتیلن‌دی‌آمین‌دی هیدروکلراید ۰/۱درصد و ارتوفسفوریک اسید ۲/۵درصد است. برای سنجش نیتریت، ۱ میلی‌لیتر از هموژنه بافتی و ۱ میلی‌لیتر از محلول گریس موردنیاز است که به‌مدت ۱۰ دقیقه در درجهٔ حرارت اتاق نگهداری شدند و در طول موج ۵٤۰ نانومتر، جذب نوری آن خوانده‌شده و با غلظت شناخته‌شده‌ای از سدیم نیتریت مقایسه گردید. جهت تهیهٔ محلول‌های استاندارد نیز از رقت‌های مختلف سدیم نیتریت استفاده گردید.

سنجش غلظت گلوتاتیون

برای این منظور از روش Ellman و براساس دستورالعمل کیت و با استفاده از پلیت ریدر در طول موج ٤۱۲ نانومتر استفاده شد و مقادیر بر حسب نانوگرم بر میلی‌گرم گزارش شد.

سنجش فعالیت کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز در نمونه‌ها، از روش توصیف‌شده توسط Beers and Sizer در سال ۱۹۵۲ استفاده شد. در این رابطه، به هر لولهٔ آزمایش، ۱/۹ میلی‌لیتر آب‌مقطر گرید تحقیقاتی اضافه شد و به آن ۱ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات پتاسیم (pH 7، دما = ۲۵ درجه سانتی‌گراد) ۰/۰۵ مولار در محیط تاریک اضافه شد و مخلوط حاصله به‌مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. در ادامه ۰/۱ میلی لیتر از هموژنهٔ بافت به لوله اضافه گردید و تغییرات جذب نوری در طول موج ۲٤۰ نانومتر به‌مدت دو دقیقه در فواصل یک دقیقه، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و میزان فعالیت کاتالاز نهایتاً بر حسب واحد میلی‌گرم گزارش گردید.

روش الایزای ساندویچی جهت اندازه‌گیری میزان GFAP

مراحل این کار به‌ترتیب زیر و بر اساس دستورالعمل کیت بود:

پنج میکرولیتر از آنتی‌بادی اولیه، علیه GFAP ایجادشده در خرگوش با رقت مناسب حل شده در بافر PBS (pH=7.4) به ۵۰ میکرولیتر از بافر پوشش‌دهندهٔ (Coating buffer) به چاهک‌های میکروپلیت به‌مدت یک شب، در درجهٔ حرارت ٤ درجهٔ سلسیوس اضافه شد. سپس سه‌بار شست‌وشوی چاهک‌ها با بافر PBS انجام گرفت. افزودن ۲۰۰ میکرولیتر بافر بلوکه‌کنندهٔ حاوی ۵درصد شیر خشک غیرچرب در بافر PBS به هر چاهک به‌مدت ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه انجام گرفت و دوبار شست‌وشوی چاهک‌ها با بافر PBSصورت گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر نمونهٔ بافتی (سوپرناتانت) یا محلول استاندارد رقیق‌شده و نگهداری به‌مدت یک شب در درجه حرارت ٤ درجهٔ سلسیوس به چاهک‌ها اضافه شد. در این مرحله سه‌بار شست‌وشوی چاهک‌ها با بافر PBS انجام گرفت.

در مرحلهٔ بعد اضافه‌نمودن ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی ثانویهٔ کونژویهٔ متصل به آنزیم HRP با غلظت مناسب ایجادشده در بز و نگهداری به‌مدت ۲ ساعت در درجهٔ حرارت اتاق انجام گرفت و سپس سه‌بار شست‌وشوی چاهک‌ها با بافر PBS صورت گرفت. پس از آن ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترای HRP حاوی تترامتیل بنزیدین و آب اکسیژنه و نگهداری به‌مدت ۱۵ دقیقه در درجهٔ حرارت اتاق اضافه شد و در اطاق تاریک قرار گرفت تا رنگ آبی ظاهر شود. در ادامه ۵۰ میکرولیتر محلول Stop (اسید سولفوریک ۲ نرمال) اضافه می‌شود تا رنگ زرد ظاهر شود و در مرحلهٔ آخر جذب نوری در طول موج ٤۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه پلیت ریدر خوانده شد .در ادامه، غلظت GFAP با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب پیکوگرم در میلی لیتر به‌دست آمد.

بررسی‌های بافتی

بررسی‌های بافتی شامل انجام مراحل پرفیوژن ترانس‌کاردیال، برش‌گیری، رنگ‌آمیزی کرزیل ویوله می باشد.

در مرحلهٔ برش‌گیری برخی موش‌ها (به تعداد ٤ از هر گروه) توسط کتامین به‌طور عمیق بیهوش‌شده و پس از برداشتن پوست و جدارهٔ قدامی قفسهٔ سینه، مسیر شریان آئورت مسدود گردید تا محلول فیکساتیو فقط در

قسمت‌های بالایی بدن موش جریان یابد. پس از عبور فیکساتیو، اکثر بخش‌های بدن از جمله دست‌ها همراه با مقداری لرزش، سفت و سخت گردید. سپس مغز از جمجمه خارج‌گردیده و به‌مدت ۲تا۳ روز در محلول فیکساتیو قرار داده شد.

برش‌گیری به‌وسیلهٔ دستگاه میکروتوم فریزینگ یا کرایو استات (لایکا، آلمان) انجام شد. برای برش‌گیری، ابتدا نمونه‌ها باید کاملاً از محلول فیکساتیو عاری شوند. ناحیهٔ مغز میانی از سایر قسمت‌های مغز جداگردیده و روی پایهٔ مخصوص نمونهٔ دستگاه قرار داده شد. برای این کار با ریختن چند قطره از بافر سوکروز ۳۰درصد، روی پایهٔ مخصوص دستگاه میکروتوم فریزینگ و پس از منجمدشدن آن چند قطرهٔ دیگر بافر سوکروز ۳۰درصد اطراف نمونه ریخته شد تا تمام نمونه در برگرفته شود. سپس، برش‌ها با ضخامت ۳۰ میکرومتر تهیه گردید که این برش‌ها کودال به روسترال بودند. قبل از قراردادن نمونه روی پایه، زدن برش تعیین‌کننده به‌وسیلهٔ تیغ بر روی نمونه، برای تشخیص راست و چپ ناحیه مغز میانی الزامی است. بعد از برش‌گیری، برش‌ها در ظرف حاوی بافر فسفات ۰/۱ مولار و pH = ۷/٤ قرار می‌گیرند. سپس به‌کمک قلم‌موی نازک و ظریف بر روی لام‌های ژلاتینه قرارگرفته و پس از خشک‌شدن، مراحل رنگ‌آمیزی درمورد آن‌ها انجام گردید.

به‌منظور تهیهٔ رنگ کرزیل ویوله، ۰/٤ گرم از پودر کرزیل ویوله استات (سیگما،آمریکا) را به ٤۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر اضافه‌نموده و به‌مدت حداقل ۱۰ دقیقه با استفاده از همزن مخلوط گردید. پس از اطمینان از حل‌شدن کامل پودر، آن را با استفاده از کاغذ صافی واتمن فیلترنموده و برای رنگ‌آمیزی مورداستفاده قرار گرفت. به‌منظور انجام رنگ‌آمیزی نیسل با کرزیل ویوله، مراحل زیر درمورد لام‌های حاوی برش‌های بافتی به‌ترتیب انجام شد: مرحلهٔ هیدراسیون، مرحلهٔ رنگ‌آمیزی، مرحلهٔ دهیدراسیون، مرحلهٔ شفاف‌سازی.

با پایان‌یافتن مراحل زیر هر یک از لام‌ها از گزیلول خارج‌شده و با استفاده از چسب انتلان (مرک، آلمان) لامل بر روی آن‌ها قرار گرفت. با واردنمودن فشار ملایم بر روی لامل، حباب‌های ایجادشده درون چسب خارج شدند.

شمارش نورونی بخش متراکم جسم سیاه

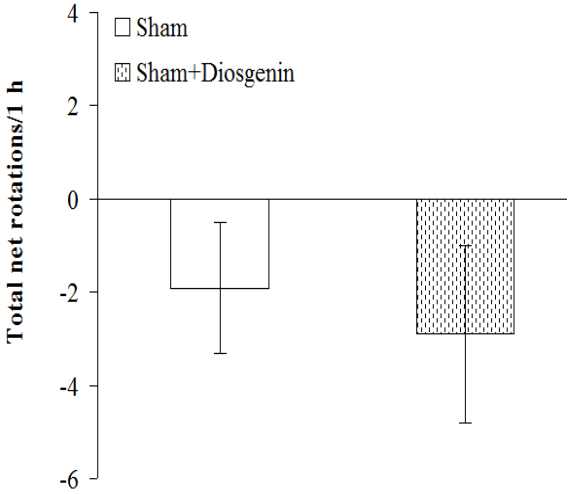
برای شمارش نورونی درمورد هر موش، برش‌های مغز میانی در محدودهٔ ٤/۲ میلی‌متر اینتراورال الی ۲/۹ میلی‌متر اینتراورال اطلس پاکسینوس و واتسون موردبررسی قرار گرفتند. نورون‌های واقع در بخش متراکم جسم سیاه در برش‌های منطبق با چهار سطح ۲/۹٦، ۳/۲، ۳/۷ و ٤/۲ اطلس پاکسینوس، نسبت به مرکز خط اینتراورال با بزرگ‌نمایی ۲۰۰X شمارش شدند. در هر سطح از چهار سطح ذکرشده، شمارش برای حداقل دو برش انجام شد و نورون‌های دوپامینرژیک با محدودهٔ سیتوپلاسمی و هسته (هستک)، واضح شمارش گردیدند. این مطالعات میکروسکوپی به‌وسیلهٔ عکس‌برداری از لام‌ها با بزرگ‌نمایی ۲۰۰ X انجام گردید. سپس در انتها، با شمارش نقاط مشخص شده، اعداد حاصله به‌عنوان تعداد نورون‌های دوپامینرژیک ناحیهٔ SNC گزارش گردید.

آنالیز آماری

تمامی داده‌ها به‌صورت± SEM Mean بیان شدند. درمورد نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخش القاشده توسط آپومورفین از آنالیز آماری پارامتریک آنووای یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد. درمورد نتایج بیوشیمیایی و بافت‌شناسی نیز از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها در برنامهٔ سیگما استات نسخهٔ ۳/۵ (۲۰۰٦) انجام شد. برای بررسی‌ها و سنجش‌های بافت‌شناسی نیز از نرم‌افزار Imagetool نسخهٔ ۳ استفاده گردید. جهت رسم نمودارها از برنامهٔ میکروسافت اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد. درمورد کلیهٔ یافته‌ها، اختلاف در سطح $p<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

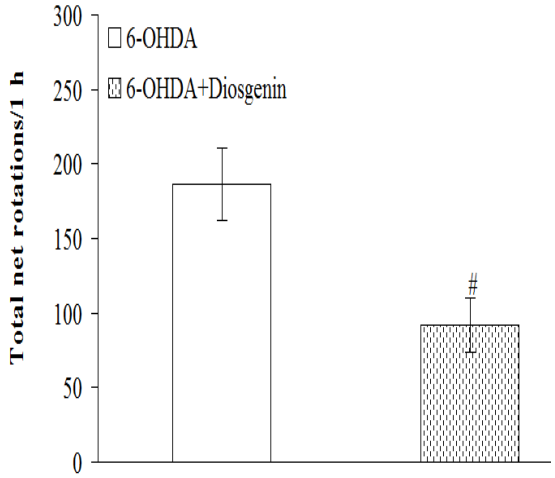
نتایج

نمودار (۱)، نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القاشده توسط آپومورفین (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت درون صفاقی در گروه‌های شم و شم تیمارشده با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در هفتهٔ دوم پس از جراحی نشان داده شده است. در این ارتباط تعداد چرخش در گروه شم منفی بوده و در گروه شم تیمارشده با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نیز چرخش‌ها به‌سمت محل تزریق بودند. با این وجود، اختلاف معنی‌دار بین این دو گروه از نظر کمیت رفتار چرخشی دیده نشد.



نمودار ۱. نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القا شده توسط آپومورفین در گروه‌های شم و شم تیمارشده با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن در مدت یک ساعت.

نمودار (۲)، نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القاشده توسط آپومورفین (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت درون صفاقی در گروه ضایعه‌دیده با نوروتوکسین ٦-هیدروکسی دوپامین و گروه‌های ضایعه‌دیده و تیمارشده با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در هفتهٔ دوم پس از جراحی نشان داده شده است. در این ارتباط موش‌های گروه ضایعه‌دیده یک چرخش بارز و زیاد به‌سمت مقابل (کونترالترال) نشان دادند که این خود نشان دهندهٔ ایجاد مدل تجربی پارکینسون در این گروه از موش‌ها بود. به‌علاوه، تیمار موش‌های ضایعه‌دیده با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی‌دار در تعداد چرخش‌ها نسبت به گروه ضایعه‌دیده گردید ($p<0.05$).

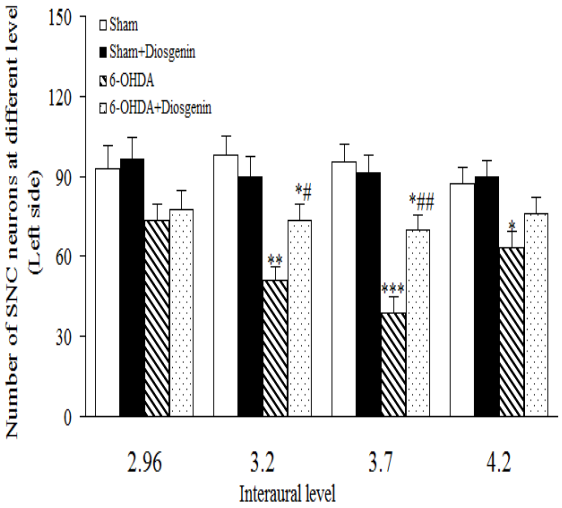


نمودار۲. نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القاشده توسط آپومورفین در گروه ضایعه‌دیده و ضایعه‌دیده تحت‌تیمار با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم.

#p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده

پس از پایان بررسی رفتاری و تهیهٔ نمونه‌های بافتی، شمارش نورون‌های دوپامینرژیک سمت چپ بخش متراکم جسم سیاه تمامی گروه‌ها در چهار مقطع مختلف استریاتوم ۲/۹٦، ۳/۲، ۳/۷ و٤/۲ نسبت به خط اینتراورال اطلس پاکسینوس و واتسون انجام گرفت. در این ارتباط تیمار موش‌های گروه شم با با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عملاً تغییر معنی‌داری از نظر آماری در مقایسه با گروه شم در هیچ‌یک از سطوح ایجاد ننمود. در مقطع ۳/۲ در گروه ضایعه‌دیده کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه شم با نسبت ($p<۰/۰۱$) مشاهده شد که این به‌خوبی، نشان دهندهٔ آثار مخرب نوروتوکسین ٦-

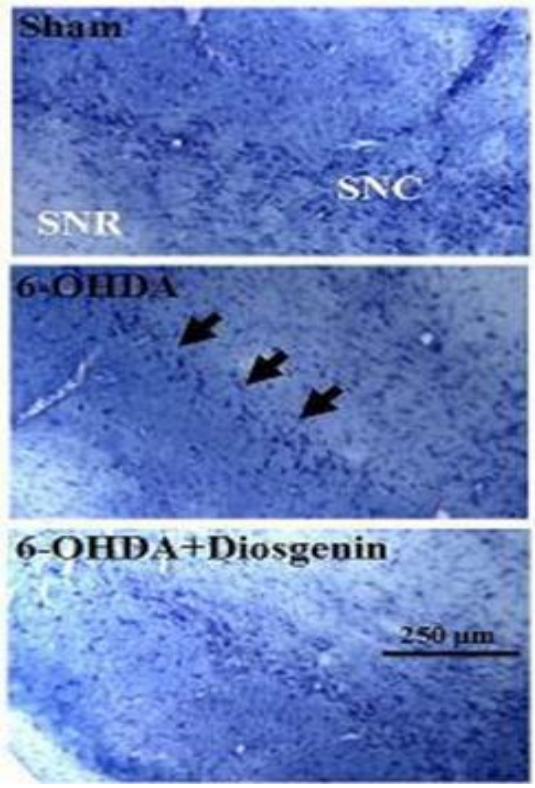
هیدروکسی دوپامین بر بیشتر نورون‌های دوپامینرژیک ناحیهٔ مادهٔ سیاه می‌باشد. به‌علاوه، تیمار موش‌های ضایعه‌دیده و تحت‌تیمار با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عملاً توانست از این کاهش نورونی به‌صورت معنی‌دار در مقایسه با ضایعه‌دیده جلوگیری نماید (p<۰/۰۵). در سطح ۳/۷ در گروه ضایعه‌دیده کاهش بسیار معنی‌دار نورون ها را با نسبت (p<۰/۰۰۱) نسبت به گروه شم شاهد بودیم که نشان‌دهندهٔ تأثیر بیشتر نوروتوکسین در این ناحیه در تخریب سلول‌های عصبی بوده است. همچنین در همین سطح تیمار موش‌های ضایعه‌دیده با دیوسجنین توانست اختلاف معنی‌داری را در تعداد نورون‌ها نسبت به گروه ضایعه‌دیده ایجاد نماید (p<۰/۰۱) و بیانگر این واقعیت است که درمان با دیوسجنین بر افزایش تعداد نورون ها اثر مثبت داشته است و در سطح ٤/۲ در گروه تیمارشده با دیوسجنین در این ناحیه تغییری مشاهده نشد (نمودار۳).



نمودار ۳. تعداد نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم مادهٔ سیاه در سمت چپ استیاتوم در گروه‌های مختلف در سطوح مختلف اینتراورال.

*p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شم **p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه شم ***p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه شم

#p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده ##p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده

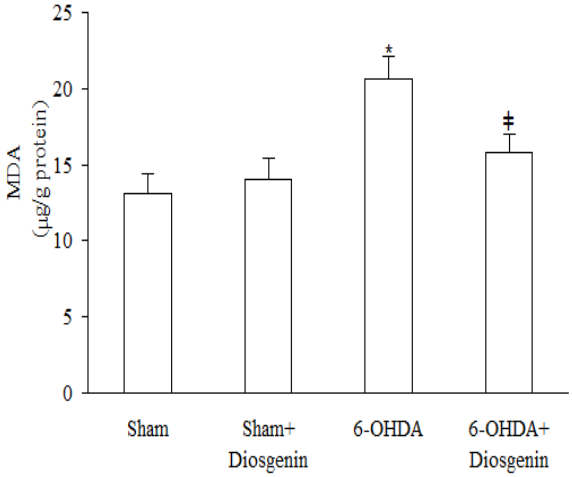


تصویر ۱. نمونهٔ تصاویر مربوط به ناحیهٔ جسم سیاه از بافت مغز گروه‌های مختلف.

فوتومیکروگراف ناحیهٔ مغز میانی رنگ‌آمیزی‌شده توسط رنگ نیسل (کرزیل ویوله) در گروه‌های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. در گروه شم، نورون‌های بخش متراکم مادهٔ سیاه (SNC) در محدودهٔ مدیولترال از سلامت ظاهری برخوردار‌بوده و تعداد آن‌ها در حد طبیعی می‌باشند. درمورد گروه ضایعه‌دیده با نوروتوکسین ٦-هیدروکسی دوپامین، کاهش شدید نورون‌های دوپامینرژیک تقریباً همهٔ نواحی بخش متراکم مادهٔ سیاه مشاهده شد که مؤید تحلیل‌رفتن نورون‌های این قسمت می‌باشد. در خصوص گروه‌های ضایعه‌دیده با نوروتوکسین ٦-هیدروکسی دوپامین و تحت تیمار با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، این کاهش نورونی به‌صورت واضح کمتر بود.

نتایج مربوط به اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در هموژنه استریاتوم حیوانات گروه‌های مختلف در نمودار ٤ نشان داده شده است. سطح مالون‌دی آلدهید در گروه ضایعه‌دیده با سم ٦-هیدروکسی دوپامین به‌صورت معنی‌دار از گروه شم بیشتر می‌باشد (p<۰/۰۵). به‌علاوه، سطح این پارامتر در

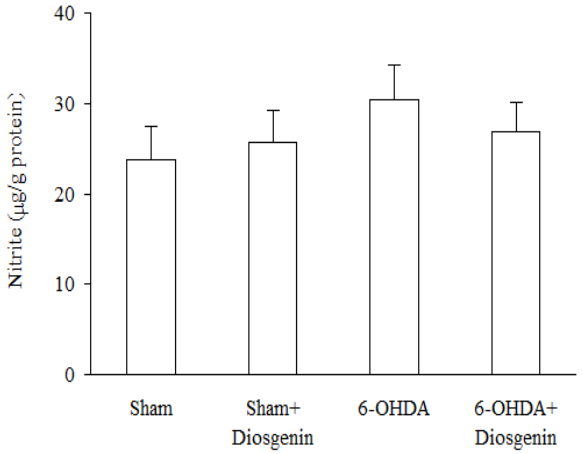
گروه‌های ضایعه‌دیده و تیمارشده با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نیز به‌طور معنی‌دار در مقایسه با گروه ٦-هیدروکسی دوپامین کمتر بود (p<۰/۰۵).



نمودار ٤. میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت مغز میانی در موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف در هفتهٔ دوم پس از جراحی.

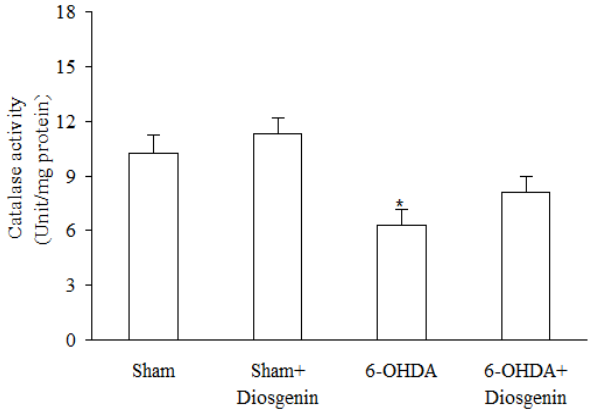
*p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شم #p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده

نمودار (٥) نتایج مربوط به اندازه‌گیری نیتریت به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در هموژنه بافت استریاتوم موش‌های گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. سطح نیتریت در گروه ضایعه‌دیده با ٦-هیدروکسی دوپامین نسبت به گروه شم افزایش یافت؛ ولی این افزایش فاقد تفاوت معنی‌دار می‌باشد. همچنین، سطح این پارامتر در گروه ضایعه‌دیدهٔ تیمارشده با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت غیرمعنی‌دار کمتر از گروه ٦-هیدروکسی دوپامین می‌باشد.



نمودار ٥. میزان نیتریت استریاتوم در موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف در هفتهٔ دوم پس از جراحی

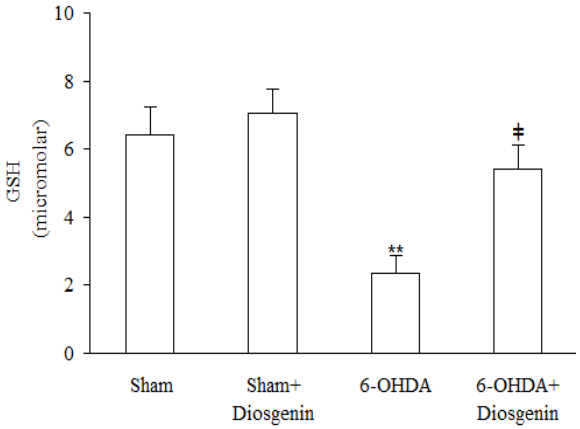
نمودار (٦) نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در واحد حجم بافت هموژنه استریاتوم نمونه‌ها، به نسبت غلظت عمومی پروتئین مربوط به هر بافت بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر را مشخص می‌نماید. این نتایج حاکی از کاهش میزان و سطح فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت هموژنه استریاتوم مربوط به گروه ضایعه در مقایسه با گروه شم می‌باشد که از نظر آماری این تفاوت معنادار بود. درمان با دیوسجنین در هر دو گروه ضایعه و شم موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به گروه جراحی شده است؛ اما این تفاوت معنی‌دار نیست.



نمودار۶. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف در هفتهٔ دوم پس از جراحی.

*p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شم

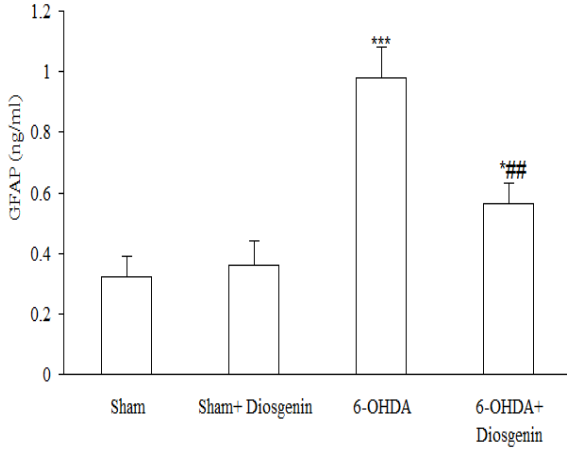
نتایج حاصل از سنجش میزان گلوتاتیون (GSH) در واحد حجم بافت هموژنه استریاتوم نمونه‌ها، به نسبت غلظت عمومی پروتئین مربوط به هر بافت بر حسب میکرومولار در نمودار ۷ به تصویر کشیده شده است. بر این اساس، میزان غلظت گلوتاتیون در گروه ضایعه که دچار تخریب نورونی حاصل از تزریق ٦-هیدروکسی دوپامین شده است، نسبت به گروه شم دارای کاهش معنی‌دار با نسبت (p<۰/۰۱) شده است که نشان‌دهندهٔ کاهش میزان گلوتاتیون در نتیجهٔ تأثیر نوروتوکسین ٦-هیدروکسی دوپامین در نورون‌ها می‌باشد. درمان با دیوسجنین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در گروه ضایعهٔ تیمارشده باعث افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۱) نسبت به گروه ضایعه شده که بیان‌کنندهٔ تأثیر مثبت دیوسجنین در افزایش آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون در درمان بیماری پارکینسون می‌باشد.



نمودار ۷. نتایج حاصل از بررسی میزان غلظت گلوتاتیون در واحد حجم بافت هموژنه مغز.

p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه شم #p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده

نمودار (۸) نتایج مربوط به اندازه گیری میزان بیان پروتئین Glial fibrillary acidic protein (GFAP) به‌عنوان یک شاخص معتبر برای پی‌بردن به بروز آستروگلیوزیس در بافت هموژنهٔ سمت چپ استریاتوم گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. در این خصوص، میزان GFAP در گروه ضایعه‌دیده در حد بسیار معنی‌دار و به‌طور بارز از گروه شم بیشتر بود (p<۰/۰۰۱) و سطح این پارامتر در گروه ضایعه‌دیدهٔ تیمارشده با دیوسجنین در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده، با نسبت معنی‌دار (p<۰/۰۱) کمتر بود و همچنین میزان این پروتئین درگروه ضایعه‌دیدهٔ تیمارشده، نسبت به گروه شم با نسبت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بیشتر بود.



نمودار۸. نتایج میزان GFAP به‌عنوان مارکر اختصاصی آستروسیت‌ها در سمت چپ استریاتوم در گروه‌های مختلف

*p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شم ***p<۰/۰۰۵ در مقایسه با گروه شم

p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز دیوسجنین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است و در حیوانات پارکینسونی‌شده، منجر به بهبود عملکردها در آزمون رفتاری چرخش، افزایش سطح گلوتاتیون بافت استریاتوم و کاهش معنی‌دار سطح مالون دی آلدئید، کاهش معنی‌دار پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیال و همچنین، باعث جلوگیری از کاهش تعداد نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه نسبت به گروه جراحی مبتلا به پارکینسون شد. همچنین، تجویز دیوسجنین تأثیر مطلوب به سطح نیتریت و فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت.

بیماری پارکینسون، دومین اختلال نوروپاتولوژیک شایع می‌باشد که در نتیجهٔ دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه و پایانه‌های آن‌ها در استریاتوم به‌وجود می‌آید. کاهش دوپامین، منجر به اختلالات حرکتی و ناتوان‌کنندهٔ متعددی از قبیل برادی کینزی، لرزش، سخت‌شدگی عضلانی و عدم‌تعادل وضعیتی می‌شود. عواملی از قبیل استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش سطح گلوتاتیون، تخریب DNA و تجمع آهن، از مهم‌ترین علل دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیکی هستند (٦). استرس اکسیداتیو نه‌تنها نورون‌های دوپامینرژیک را تخریب می‌کند بلکه با ایجاد اختلال در فرآیند فسفریلاسیون اکسیداتیو و کاهش تولید انرژی منجر به مرگ سلول‌ها می‌شود. منابع آندوژن استرس اکسیداتیو شامل رادیکال‌های آزاد منتج از متابولیسم دوپامین و ملانین است. نوروتوکسین ٦-هیدروکسی دوپامین با تولید رادیکال‌های آزاد که خود سایتوتوکسیک هستند، سبب مختل‌نمودن هموستاز کلسیم از طریق افزایش ورود یا تشدید آزادشدن از ذخایر داخل سلولی و اثر بر برنامهٔ تنظیم ژنتیکی و القای آپوپتوز شده و موجب مرگ نورون‌ها می‌شود. ضایعهٔ یک‌طرفهٔ زوائد نیگرواستریاتال به‌وسیلهٔ 6-OHDA منجر به کاهش سلول‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه، از طریق انتقال رتروگراد آکسونی از پایانه‌های آن در استریاتوم به جسم سیاه می‌شود. این تغییرات سلولی در نورون‌ها، منجر به ایجاد مدل پارکینسونی مشابه آنچه در انسان است، می‌شود. تزریق درون استریاتوم 6-OHDA سبب کاهش ٥٠درصد سلول‌ها در هر دو استریاتوم و جسم سیاه و کاهش ١٠درصد سلول‌های VTA می‌شود و این منطبق بر سایر مشاهداتی است که میزان تخریب به‌وسیلهٔ 6-OHDA را بین ٤٠ تا ٦٠درصد پس از دو هفته، بیان می‌کنند. کاهش سلولی حدود ١٠درصد در VTA تأییدکنندهٔ این نکته است که استطاله‌های دوپامینرژیکی از VTA به استریاتوم پشتی وارد می‌شوند (٧). درمان‌های آنتی‌اکسیداتیو در مراحل اولیهٔ بیماری پارکینسون، امروزه در کلینیک مطرح است. یکس از روش‌های درمانی برای کاهش‌دادن اثرات استرس اکسیداتیو و محافظت نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد (٨).

در این مطالعه اثر مادهٔ مؤثر دیوسجنین را به‌علت دارابودن خواص آنتی‌اکسیدانی موردبررسی قرار دادیم. تجویز دیوسجنین به‌مقدار ١٠٠ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، در این تحقیق موجب کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود رفتار چرخشی و جلوگیری از کاهش نورون‌های دوپامینرژیکی مادهٔ سیاه در مدل تجربی بیماری پارکینسون گردید. در توجیه اثرات سودمند دیوسجنین مشخص شده است که این ماده دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که گاواژ دیوسجنین دارای اثر درمانی روی موش‌های صحرایی پارکینسونی شده است. که این اثرات درمانی به‌صورت کاهش کل تعداد چرخش‌ها و جلوگیری از کاهش نورون‌های بخش متراکم جسم سیاه، نسبت به قبل دورهٔ تیمار بروز کرده است. در مطالعه‌ای که ناتان و همکارانش در سال ٢٠١٤ انجام دادند به این نتیجه رسیدند که مصرف عصارهٔ استاندارد شنبلیله (حاوی مادهٔ مؤثر دیوسجنین) به‌صورت کپسول ٣٠٠ میلی‌گرمی دوبار در روز، به‌عنوان یک مکمل غذایی طی یک دورهٔ شش ماهه در پنجاه بیمار پارکینسونی منجر به بهبود علائم حرکتی شده است (٩). همچنین فولر و همکارانش در سال ٢٠١٥ به این نتیجه رسیدند که ساختار آلی دیوسجنین، فیبرهای گیاه شنبلیله و ٤-هیدروکسی ایزولوسین تأثیرات سودمندی را روی مارکرهای بیولوژیک و فیزیولوژیک التهاب و عملکرد سیستم عصبی نشان داده‌اند (١٠). در سال ٢٠١٦ پاندری و همکارانش مشاهده کردند که گیاه شنبلیله غنی از اسیدهای چرب غیراشباع مانند لینولئیک اسید و لینولنیک اسید می‌باشد که دارای خاصیت ضدالتهابی چشمگیری می‌باشند. در این مطالعه فعالیت ضدالتهابی این اسیدهای

چرب با توانایی آن‌ها در مهار درد حاد ناشی از مواد محرک دردزای مختلفی از قبیل پروستاگلندین E2 ، لوکوترین و التهاب ناشی از اسیدآراشیدونیک آشکار شد که نشان‌دهندهٔ توانایی این اسیدهای چرب در مهار هر دو مسیر سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز است. در این مطالعه همچنین، کاهش معنی‌دار درد و ادم در گروه ضایعه‌دیدهٔ القاشده با فرمالدهید که تحت‌درمان با عصارهٔ دانه‌های شنبلیله بودند، نسبت به گروه ضایعه‌دیده مشاهده شد (p<۰/۰۵). در ادامهٔ این تحقیق، این ساختارهای شیمیایی به‌طور قابل توجهی موجب حفاظت در برابر تولید، مهاجرت و ترشح سلولی عوامل التهاب‌زا شد که نشانگر فعالیت ضدالتهابی گیاه شنبلیله می‌باشد (۱۱). در مطالعه‌ای که توسط عبدل و همکارانش در سال ۲۰۱۵ انجام گرفت خصوصیات آنتی‌اکسیدانی شنبلیله و سایر ترکیبات دارای دیوسجنین، مثل تریگونلا فونئوم گراسیوم بر روی مادهٔ آکریل آمید که یک ساختار بسیار خطرناک ایجادکنندهٔ استرس اکسیداتیو است، موردبررسی قرار گرفت. این مطالعه به‌منظور بررسی اثر عصارهٔ دانهٔ شنبلیله در برابر سمیت آکریل آمید انجام شد، گروه ضایعه‌دیده، آکریل آمید را به‌صورت خوراکی به‌صورت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرد. در این گروه افزایش قابل‌توجهی در سطح سرمی اینترلوکین -۱ بتا، اینترلوکین -٦ و فاکتور نکروز توموری آلفا مشاهده شد. در حالی که در گروه ضایعه‌دیدهٔ تحت‌درمان با عصاره، کاهش قابل‌توجهی در سطح سرمی این پارامترها ایجاد شد (۱۲). بدین ترتیب، دیوسجنین نیز به‌دلیل دارابودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی با مطالعات انجام شده هم‌خوانی دارد و نتایج مطالعات انجام‌شده تأییدکنندهٔ اثر درمانی دیوسجنین در بیماری پارکینسون می‌باشد.

به‌طور خلاصه، نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که گاواژ دیوسجنین، سبب کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود، پیش‌درمانی با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم قبل از تزریق داخل استریاتوم ٦-هیدروکسی دوپامین در مدل اولیهٔ بیماری پارکینسون، موجب کاهش شدت رفتار چرخشی و عدم‌تقارن حرکتی و جلوگیری از کاهش آسیب به نورون‌های جسم سیاه می‌گردد. همچنین، سطح مالون دی آلدئید و پروتئین رشته‌ای اسیدی گلیال کاهش معنی‌دار پیدا کرد و میزان فاکتور آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون افزایش نشان داد. در این مطالعه همچنین میزان نیتریت و کاتالاز تغییر مطلوبی نداشت.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامهٔ دانشجوی کارشناسی‌ارشد خانم زهرا قاسمی، مصوب دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۳ می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه شاهد (تهران، ایران) به انجام رسیده است.

منابع

1. Skodda S, Visser W, Schlegel U. Gender-related patterns of dysprosody in Parkinson disease and correlation between speech variables and motor symptoms. Journal of Voice 2011;25 (1):76-82.
2. Ungprasert P, Srivali N, Thongprayoon C. Gout is not associated with a lower risk of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. Parkinsonism & Related Disorders 2015;21 (10):1238-42.
3. Heinzel S, Roeben B, Ben-Shlomo Y, Lerche S, Alves G, Barone P, et al. Prodromal markers in parkinson's disease: limitations in longitudinal studies and lessons learned. Frontiers in Aging Neuroscience 2016;8:147.
4. Lutz SG, Holmes JD, Ready EA, Jenkins ME, Johnson AM. Clinical presentation of anxiety in Parkinson's disease: a scoping review. OTJR: Occupation, Participation and Health 2016;36 (3):134-47.
5. Mariani E, Frabetti F, Tarozzi A, Pelleri MC, Pizzetti F, Casadei R. Meta-analysis of parkinson's disease transcriptome data using tram software: whole substantia nigra tissue and single dopamine neuron differential gene expression. PloS One 2016;11 (9):e0161567.
6. Binks S, Dobson R. Risk factors, epidemiology and treatment strategies for metabolic bone disease in patients with neurological disease. Current Osteoporosis Reports 2016; 14(5):199-210.

7. Duarte IS, Holanda Gdo N, Martins MA. Laryngeal electromyography and acoustic voice analysis in Parkinson's disease: a comparative study. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology 2010;76 (1):40-3.
8. Pupillo E, Cricelli C, Mazzoleni F, Cricelli I, Pasqua A, Pecchioli S, et al. Epidemiology of Parkinson's disease: a population-based study in primary care in Italy. Neuroepidemiology 2016;47 (1):38-45.
9. Savica R, Grossardt BR, Bower JH, Ahlskog JE, Rocca WA. Time trends in the incidence of Parkinson disease. JAMA Neurology 2016;73 (8):981-9.
10. de Araujo DF, de Melo Neto AP, Oliveira IS, Brito BS, de Araujo IT, Barros IS, et al. Small (autonomic) and large fiber neuropathy in Parkinson disease and parkinsonism. BMC Neurology 2016;16:139.
11. Hong H, Kim BS, Im HI. Pathophysiological Role of Neuroinflammation in neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. International Neurology Journal 2016;20 (Suppl 1):S2-7.
12. Main BS, Zhang M, Brody KM, Ayton S, Frugier T, Steer D, et al. Type-1 interferons contribute to the neuroinflammatory response and disease progression of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. Glia 2016;64 (9):1590-604.

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University
24th Year, No.129
June- July 2017

Daneshvar(medicine) shahed University/ 24th year/2017 /NO.129

Neuroprotective effect of diosgenin in 6-hydroxydopamine-induced model of Parkinson's disease in the rat

Zahra Ghasemi[1], Zahra Kiasalari[2], Fatemeh Ebrahimi[1], Fariba Ansari[1], Maryam Sharayeli[3], Mehrdad Roghani[2*]

1. Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.
2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.
3. Department of Anatomy and Pathology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

*** Corresponding author e-mail: roghanim@yahoo.com**

Abstract

Background and Objective: Parkinson's disease is one the most common neurodegenerative diseases clinically diagnosed by movement disorders such as slowness of movement, muscle stiffness, tremor at rest and personality disorder. The goal of this study was to examine the impact of diosgenin with antioxidant and neuroprotective effects on a rat model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine.

Materials and Methods: Forty male Wistar rats were divided into four groups. 1-sham, 2-sham treated with diosgenin (100 mg/kg) 3- The group microinjected with 6-hydroxydopamine (6-OHDA) and 4- 6-OHDA group treated with diosgenin. Rats received diosgenin by gavage before surgery for 1 week. At the end of this period, the experimental model of Parkinson's disease was induced by unilateral injection of 6-OHDA into the striatum. Rotational behavior was studied after the surgery. Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), catalase, nitrite and glial fibirally acidic protein (GFAP) were measured in the homogenate. Also, nigral neurons were counted and compared using Nissl staining.

Results: There was a significant reduction of rotations in diosgenin-pretreated 6-OHDA-lesioned rats as compared to untreated 6-OHDA group. In addition, pretreatment with diosgenin in 6-OHDA-lesioned group significantly prevented the reduction of neurons in the substantia nigra pars compacta as compared to the untreated group ($P<0.05$). Also, diosgenin pretreatment decreased the level of GFAP and MDA in the brain homogenate ($P<0.01$) and increased level of glutathione (GSH) ($P<0.05$). There was also no significant change regarding nitrite and catalase.

Conclusion: Diosgenin pretreatment improved motor behavior and asymmetry in 6-OHDA-lesioned rats and protected substantia nigra pars compacta neurons and its effect is mediated via attenuation of oxidative stress and astrogliosis.

Keywords: Parkinson's disease, Diosgenin, 6-hydroxydopamine, Oxidative stress, Glial fibrillary acidic protein

Received: 09/02/2017
Last revised: 22/03/2017
Accepted: 29/03/2017