

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

نویسندگان: زهرا قاسمی<sup>۱</sup>، زهرا کیاسالاری<sup>۲</sup>، فاطمه ابراهیمی<sup>۳</sup>، فریبا انصاری<sup>۴</sup>، مریم شرایلی<sup>۵</sup>، مهرداد روغنی<sup>۶\*</sup>

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۴. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۵. گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۶. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

E-mail: mehjour@yahoo.com

\* نویسنده مسئول: مهرداد روغنی

### 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 ماده مؤثر دیوسجنین را به‌عنوان یک ماده با خواص آنتی‌اکسیدانی و نوروپروتکتیو بر مدل موشی بیماری پارکینسون القا شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین بررسی کند.

**مواد و روش‌ها:** چهل موش صحرایی نر، به چهار گروه تقسیم شدند. ۱. شم: ۲. شم درمان شده با دیوسجنین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)؛ ۳. گروه جراحی شده با ۶-هیدروکسی دوپامین؛ ۴. گروه جراحی درمان شده با دیوسجنین. موش‌ها دیوسجنین را به‌روش گاواژ از 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 دی‌آلدئید (MDA)، گلوتاتیون (GSH)، کاتالاز، نیتريت (NO) پروتئین رشته‌ای اسیدی گلیال (GFAP) در بافت هموژنیزه شده 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 ضایعه‌دیده 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 ضایعه‌دیده تحت‌تیمار، نسبت به گروه ضایعه‌کاسته شد ( $P < 0.05$ ). همچنین، مقادیر MDA و GFAP مغز را به‌ترتیب با ( $P < 0.05$ ) و ( $P < 0.01$ ) در گروه ضایعه‌دیده تحت‌تیمار کاهش داد در حالی که مقادیر گلوتاتیون استریاتوم را افزایش داد ( $P < 0.05$ ). به‌علاوه، درمورد نیتريت 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

دوماهنامه علمی-پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال بیست و چهارم-شماره ۱۲۹  
تیر ۱۳۹۶

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

## مقدمه

(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 ایجادکننده پارکینسون بسیار متنوع می‌باشد و شامل فرآیندهای پاتولوژیک متعدد، فاکتورهای ژنتیکی، التهاب به‌خصوص فرآیند آستروگلیوزیس، عدم تعادل بین گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سلول، کاهش سطح گلووتاتیون، افزایش سطح آهن، قرارگرفتن در معرض آلاینده‌های محیطی مانند ارگانو فسفرها شامل روتنون و MPTP و افزایش سطح مالون دی آلدنید در سلول‌های دوپامینرژیک می‌باشد (۴). در طی چند سال اخیر، استفاده از مواد طبیعی در درمان حفاظتی بیماری‌های عصبی به‌طور روزافزون، مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در این خصوص، دیوسجنین یک ساپوچنین یافت شده در ساقه زیرزمینی گیاه یام می‌باشد و به‌طور وسیع، به‌شکل گلیکوزید در گیاهانی مانند شنبلیله یافت می‌شود که یک ماده واسطه 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 مورد تأیید قرار گرفته است (۵). با توجه به شباهت بالای مدل پارکینسون القا شده توسط تزریق داخل مغزی ۶-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 القا شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

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

بیماری پارکینسون یک اختلال عصبی نورودژنراتیو با شیوع ۱ تا ۲ درصد در افراد بالای ۶۵ 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 غیر حرکتی 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 ماسک شده است. اختلالات غیر حرکتی 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 پاتوژنز نیز این علائم، به افزایش آسیب‌پذیری نورون‌های دوپامینرژیک و مسمومیت آن‌ها به دنبال افزایش نقص در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی 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 به شدت 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، پرامپیکسول)، مهارکننده‌های مونوآمین اکسیداز (سلزیلین) و مهارکننده‌های کاته کول -0- متیل ترانسفرازها (انتاکاپون) و آگونیست‌های موسکارینی

دقیقه‌ای به مدت ۶۰ دقیقه، به صورت دستی اندازه‌گیری شد. در مدت آزمایش موش‌ها تنها به آب دسترسی داشتند. تعداد چرخش‌ها به سمت مخالف محل ضایعه (سمت راست) به عنوان عدد مثبت و چرخش به سمت محل ضایعه (سمت چپ) به عنوان 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 واکنش داده و رنگ صورتی ایجاد می‌کنند که ماکزیمم جذب نوری آن‌ها، در طول موج ۵۳۲ نانومتر است. این واکنش در pH=۲-۳ و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه انجام شد. بعد از سرد کردن نمونه، جذب نوری خوانده شد. ابتدا ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های سانتریفیوژ شده به ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواسید استیک و ۱/۵ میلی‌لیتر از TBA اضافه شد. تمامی نمونه‌ها و لوله‌های استاندارد با رقت‌های مختلف به مدت ۹۰ دقیقه در بن‌ماری آب جوش قرار داده شدند تا واکنش صورت گیرد. سپس محلول‌ها در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد نیز بر اساس رقت‌های تتراتوکسی پروپان تهیه شده و جذب نوری به دست آمده از نمونه‌ها بر روی منحنی استاندارد تطبیق داده شد.

#### سنجش غلظت نیتريت

سنجش غلظت نیتريت بافت مغزی، بر اساس واکنش گریس صورت گرفت. از آنجایی که سنجش مستقیم نیتريت در نمونه‌های بیولوژیکی مشکل می‌باشد، مقدار  $\text{NO}_2^-$  و نیتريت  $\text{NO}_3^-$  به عنوان شاخصی برای تولید نیتريت محسوب می‌شود. محلول کاری حاوی سولفانیل آمید

۲۰۵ تا ۲۴۵ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش دسترسی داشتند و به مدت یک هفته قبل از شروع کار، نگهداری شدند. در این آزمایش از موش‌هایی استفاده شد که رفتار چرخشی یک طرفه (چرخش‌های کامل بیشتر از ۳۰ بار در هر ساعت) را به دنبال تزریق داخل صفاقی آپومورفین به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان نمی‌دادند. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به چهار گروه شم (SHAM)، گروه شم و دیوسجنین، گروه ضایعه‌دیده (۶- هیدروکسی دوپامین) و گروه ضایعه‌دیده تحت تیمار با دیوسجنین تقسیم شدند. برای پارکینسونی نمودن حیوانات از ۶- هیدروکسی دوپامین (سیگما، آمریکا) به میزان ۱۲/۵ میکروگرم حل شده در محلول سالین آسکوربات و به میزان ۵ میکرولیتر در استریاتوم سمت چپ با مختصات ۳ میلی‌متر جانبی به سمت چپ، ۴.۵ میلی‌متر از سطح سخت شامه و ۰.۲ میلی‌متر قدامی خلفی نسبت به برگما با استفاده از سرنگ همپلتون و به روش 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 به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور روزانه و خوراکی با استفاده از سوزن گاوآژ 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) به میزان ۲ mg/kg به صورت داخل صفاقی، یک هفته بعد از جراحی موش‌ها صورت گرفت. موش‌ها از ۱۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش در محفظه استوانه‌ای با قطر ۳۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر نگهداری شدند. پس از تزریق دارو، تعداد چرخش کامل ۳۶۰ درجه، در فواصل زمانی ۱۰

ادرسد، نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید ۰/۱ درصد و ارتوفسفوریک اسید ۲/۵ درصد است. برای سنجش نیتريت، ۱ میلی لیتر از هموزنه بافتی و ۱ میلی لیتر از محلول گریس مورد نیاز است که به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق نگهداری شدند و در طول موج ۵۴۰ نانومتر، جذب نوری آن خوانده شده و با غلظت شناخته شده ای از سدیم نیتريت مقایسه گردید. جهت تهیه محلول های استاندارد نیز از رقت های مختلف سدیم نیتريت استفاده گردید.

**سنجش غلظت گلو تاتیون**

برای این منظور از روش Ellman و بر اساس دستورالعمل کیت و با استفاده از پلیت ریدر در طول موج ۴۱۲ نانومتر استفاده شد و مقادیر بر حسب نانوگرم بر میلی گرم گزارش شد.

**سنجش فعالیت کاتالاز**

برای اندازه گیری فعالیت کاتالاز در نمونه ها، از روش توصیف شده توسط Beers and Sizer در سال ۱۹۵۲ استفاده شد. در این رابطه، به هر لوله آزمایش، ۱/۹ میلی لیتر آب مقطر گرید تحقیقاتی اضافه شد و به آن ۱ میلی لیتر از محلول بافر فسفات پتاسیم (pH 7، دما = ۲۵ درجه سانتی گراد) ۰/۰۵ مولار در محیط تاریک اضافه شد و مخلوط حاصله به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. در ادامه ۰/۱ میلی لیتر از هموزنه بافت به لوله اضافه گردید و تغییرات جذب نوری در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت دو دقیقه در فواصل یک دقیقه، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد و میزان فعالیت کاتالاز نهایتاً بر حسب واحد میلی گرم گزارش گردید.

**بررسی های بافتی**

بررسی های بافتی شامل انجام مراحل پرفیوژن ترانس کاردیال، برش گیری، رنگ آمیزی کرزیل و یوله می باشد.

در مرحله برش گیری برخی موش ها (به تعداد ۴ از هر گروه) توسط کتامین به طور عمیق بیهوش شده و پس از برداشتن پوست و جداریه قدامی قفسه سینه، مسیر شریان آئورت مسدود گردید تا محلول فیکساتیو فقط در

برای این منظور از روش Ellman و بر اساس دستورالعمل کیت و با استفاده از پلیت ریدر در طول موج ۴۱۲ نانومتر استفاده شد و مقادیر بر حسب نانوگرم بر میلی گرم گزارش شد.

برای اندازه گیری فعالیت کاتالاز در نمونه ها، از روش توصیف شده توسط Beers and Sizer در سال ۱۹۵۲ استفاده شد. در این رابطه، به هر لوله آزمایش، ۱/۹ میلی لیتر آب مقطر گرید تحقیقاتی اضافه شد و به آن ۱ میلی لیتر از محلول بافر فسفات پتاسیم (pH 7، دما = ۲۵ درجه سانتی گراد) ۰/۰۵ مولار در محیط تاریک اضافه شد و مخلوط حاصله به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. در ادامه ۰/۱ میلی لیتر از هموزنه بافت به لوله اضافه گردید و تغییرات جذب نوری در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت دو دقیقه در فواصل یک دقیقه، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد و میزان فعالیت کاتالاز نهایتاً بر حسب واحد میلی گرم گزارش گردید.

**روشن الایزای ساندویچی جهت اندازه گیری میزان GFAP**

مراحل این کار به ترتیب زیر و بر اساس دستورالعمل کیت بود:

پنج میکرولیتر از آنتی بادی اولیه، علیه GFAP ایجاد شده در خرگوش با رقت مناسب حل شده در بافر PBS (pH=7.4) به ۵۰ میکرولیتر از بافر پوشش دهنده

خارج شده و با استفاده از چسب اتلان (مرک، آلمان) لامل بر روی آن‌ها قرار گرفت. با وارد نمودن فشار ملایم بر روی لامل، حباب‌های ایجاد شده درون چسب خارج شدند.

#### شمارش نورونی بخش متراکم جسم سیاه

برای شمارش نورونی در مورد هر موش، برش‌های مغز میانی در محدوده ۴/۲ میلی‌متر اینتراورال الی ۲/۹ میلی‌متر اینتراورال اطلس پاکسینوس و واتسون مورد بررسی قرار گرفتند. نورون‌های واقع در بخش متراکم جسم سیاه در برش‌های منطبق با چهار سطح ۲/۹۶، ۳/۲، ۳/۷ و ۴/۲ اطلس پاکسینوس، نسبت به مرکز خط اینتراورال با بزرگ‌نمایی  $\times 200$  شمارش شدند. در هر سطح از چهار سطح ذکر شده، شمارش برای حداقل دو برش انجام شد و نورون‌های دوپامینرژیک با محدوده سیتوپلاسمی و هسته (هستک)، واضح شمارش گردیدند. این مطالعات میکروسکوپی به وسیله عکس‌برداری از لام‌ها با بزرگ‌نمایی  $\times 200$  انجام گردید. سپس در انتها، با شمارش نقاط مشخص شده، اعداد حاصله به‌عنوان تعداد نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه SNC گزارش گردید.

#### آنالیز آماری

تمامی داده‌ها به صورت  $\text{SEM Mean} \pm$  بیان شدند. در مورد نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخش القاشده توسط آپومورفین از آنالیز آماری پارامتریک آنووای یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد. در مورد نتایج بیوشیمیایی و بافت‌شناسی نیز از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها در برنامه سیگما استات نسخه ۳/۵ (۲۰۰۶) انجام شد. برای بررسی‌ها و سنجش‌های بافت‌شناسی نیز از نرم‌افزار Imagetool نسخه ۳ استفاده گردید. جهت رسم نمودارها از برنامه میکروسافت اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد. در مورد کلیه یافته‌ها، اختلاف در سطح  $p < 0.05$  به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

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 مجموعه خارج گردیده و به مدت ۲ تا ۳ روز در محلول فیکساتیو قرار داده شد.

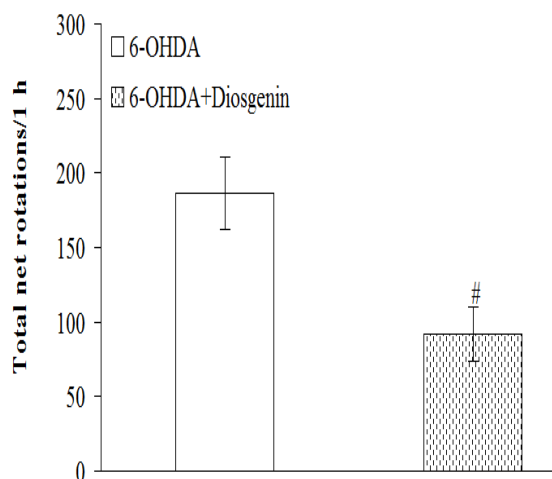
برش‌گیری به وسیله دستگاه میکروتوم فریزینگ یا کرایو استات (لایکا، آلمان) انجام شد. برای برش‌گیری، ابتدا نمونه‌ها باید کاملاً از محلول فیکساتیو عاری شوند. ناحیه مغز میانی از سایر قسمت‌های مغز جدا گردیده و روی پایه مخصوص نمونه دستگاه قرار داده شد. برای این کار با ریختن چند قطره از بافر سوکروز ۳۰ درصد، روی پایه مخصوص دستگاه میکروتوم فریزینگ و پس از منجمد شدن آن چند قطره دیگر بافر سوکروز ۳۰ درصد 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 به وسیله 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  $\text{pH} = 7.4$  قرار می‌گیرند. سپس به کمک قلم‌موی نازک و ظریف بر روی لام‌های ژلاتینه قرار گرفته و پس از خشک شدن، مراحل رنگ‌آمیزی در مورد آن‌ها انجام گردید.

به منظور تهیه رنگ کرزیل ویوله، ۰/۴ گرم از پودر کرزیل ویوله استات (سیگما، آمریکا) را به ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه نموده و به مدت حداقل ۱۰ دقیقه با استفاده از همزن مخلوط گردید. پس از اطمینان از حل شدن کامل پودر، آن را با استفاده از کاغذ صافی واتمن فیلتر نموده و برای رنگ‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور انجام رنگ‌آمیزی نیسل با کرزیل ویوله، مراحل زیر در مورد لام‌های حاوی برش‌های بافتی به ترتیب انجام شد: مرحله هیدراسیون، مرحله رنگ‌آمیزی، مرحله دهیدراسیون، مرحله شفاف‌سازی. با پایان یافتن مراحل زیر هر یک از لام‌ها از گزیلول

## نتایج

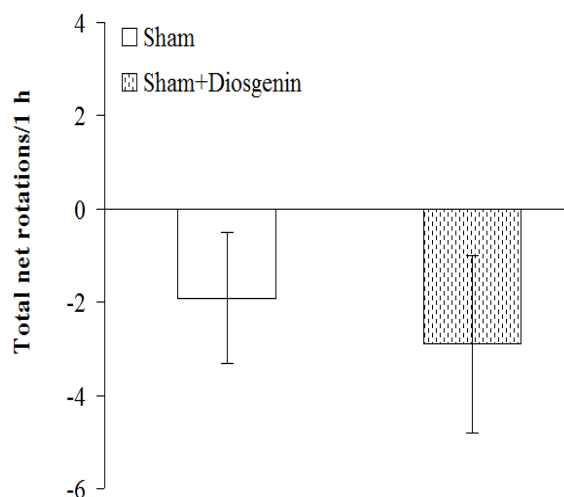
نمودار (۱)، نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القا شده توسط آپومورفین (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت درون صفاقی در گروه‌های شم و شم تیمار شده با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در هفته دوم پس از جراحی نشان داده شده است. در این ارتباط تعداد چرخش در گروه شم منفی بوده و در گروه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

نمودار (۲)، نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القا شده توسط آپومورفین (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت درون صفاقی در گروه ضایعه‌دیده با نوروتوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین و گروه‌های ضایعه‌دیده با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در هفته دوم پس از جراحی نشان داده شده است. در این ارتباط موش‌های گروه ضایعه‌دیده یک چرخش بارز و زیاد به سمت مقابل



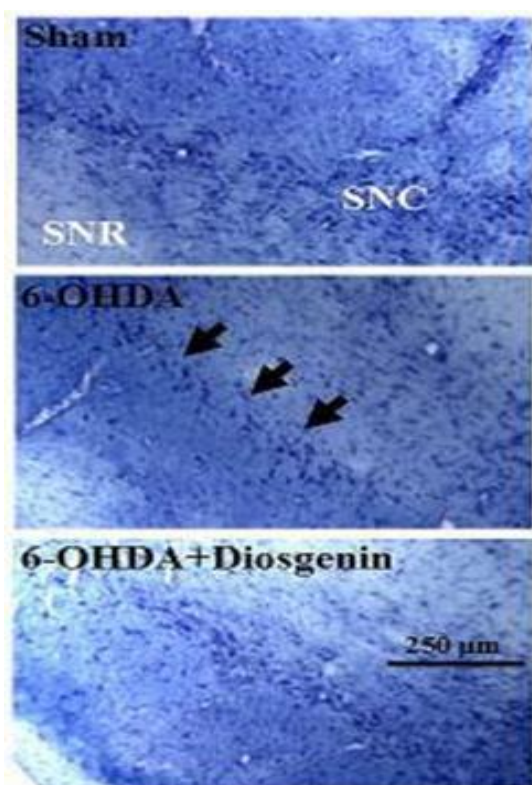
نمودار ۲. نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القا شده توسط آپومورفین در گروه ضایعه‌دیده و ضایعه‌دیده تحت تیمار با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. # $p < 0.05$  در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده

پس از پایان بررسی رفتاری و تهیه نمونه‌های بافتی، شمارش نورون‌های دوپامینرژیک سمت چپ بخش متراکم جسم سیاه تمامی گروه‌ها در چهار مقطع مختلف استریاتوم ۲/۹۶، ۳/۲، ۳/۷ و ۴/۲ نسبت به خط اینترورال اطلس پاکسینوس و واتسون انجام گرفت. در این ارتباط تیمار موش‌های گروه شم با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عملاً تغییر معنی‌داری از نظر آماری در مقایسه با گروه شم در هیچ‌یک از سطوح ایجاد نمود. در مقطع ۳/۲ در گروه ضایعه‌دیده کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه شم با نسبت (۰/۰۱)  $p <$  مشاهده شد که این به‌خوبی، نشان دهنده آثار مخرب نوروتوکسین ۶-



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

نمودار (۳)، نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القا شده توسط آپومورفین (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت درون صفاقی در گروه ضایعه‌دیده با نوروتوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین و گروه‌های ضایعه‌دیده و تیمار شده با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در هفته دوم پس از جراحی نشان داده شده است. در این ارتباط موش‌های گروه ضایعه‌دیده یک چرخش بارز و زیاد به سمت مقابل

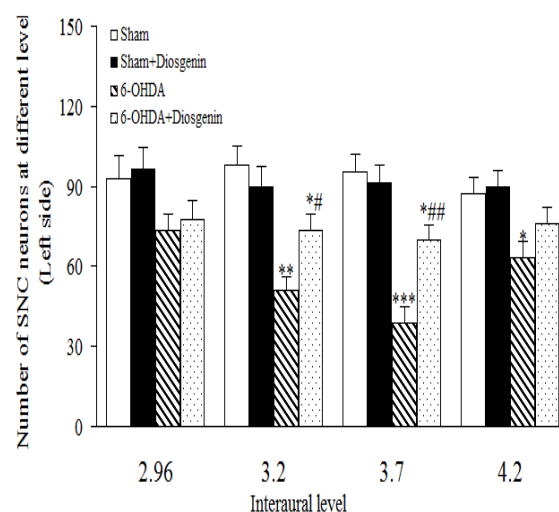


تصویر ۱. نمونه تصاویر مربوط به ناحیه جسم سیاه از بافت مغز گروه‌های مختلف.

فوتومیکروگراف ناحیه مغز میانی رنگ آمیزی شده توسط رنگ نیسل (کرزیل ویوله) در گروه‌های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. در گروه شم، نورون‌های بخش متراکم ماده سیاه (SNC) در محدوده مدیولترال از سلامت ظاهری برخوردار بوده و تعداد آن‌ها در حد طبیعی می‌باشند. در مورد گروه ضایعه‌دیده با نوروٹوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین، کاهش شدید نورون‌های دوپامینرژیک تقریباً همه نواحی بخش متراکم ماده سیاه مشاهده شد که مؤید تحلیل رفتن نورون‌های این قسمت می‌باشد. در خصوص گروه‌های ضایعه‌دیده با نوروٹوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین و تحت تیمار با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، این کاهش نورونی به صورت واضح کمتر بود.

نتایج مربوط به اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در هموزنه استریاتوم حیوانات گروه‌های مختلف در نمودار ۴ نشان داده شده است. سطح مالون‌دی‌آلدهید در گروه ضایعه‌دیده با سم ۶-هیدروکسی دوپامین به صورت معنی‌دار از گروه شم بیشتر می‌باشد ( $p < 0.05$ ). به علاوه، سطح این پارامتر در

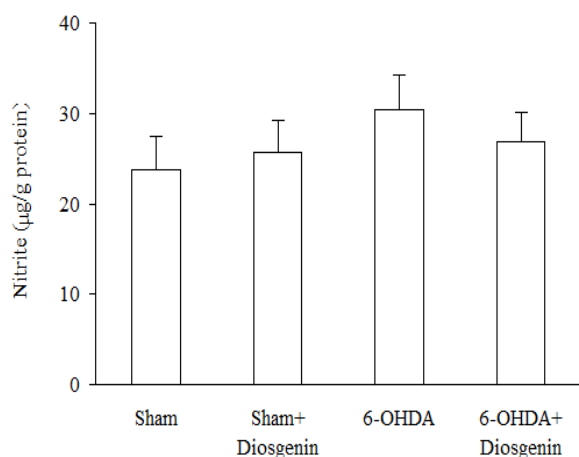
هیدروکسی دوپامین بر بیشتر نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه ماده سیاه می‌باشد. به علاوه، تیمار موش‌های ضایعه‌دیده و تحت تیمار با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عملاً توانست از این کاهش نورونی به صورت معنی‌دار در مقایسه با ضایعه‌دیده جلوگیری نماید ( $p < 0.05$ ). در سطح ۳/۷ در گروه ضایعه‌دیده کاهش بسیار معنی‌دار نورون‌ها را با نسبت ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه شم شاهد بودیم که نشان‌دهنده تأثیر بیشتر نوروٹوکسین 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 ( $p < 0.01$ ) و بیانگر این واقعیت است که درمان با دیوسجنین بر افزایش تعداد نورون‌ها اثر مثبت داشته است و در سطح ۴/۲ در گروه تیمار شده با دیوسجنین در این ناحیه تغییری مشاهده نشد (نمودار ۳).



نمودار ۳. تعداد نورون‌های دوپامینرژیک بخش

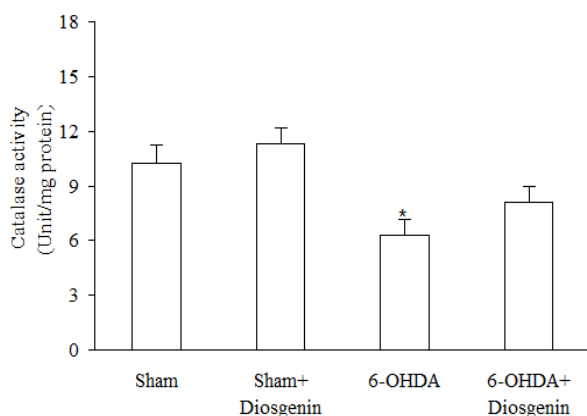
متراکم ماده سیاه در سمت چپ استریاتوم در گروه‌های مختلف در سطوح مختلف اینتراورال.

\* $p < 0.05$  در مقایسه با گروه شم \*\* $p < 0.01$  در مقایسه با گروه شم \*\*\* $p < 0.001$  در مقایسه با گروه شم ## $p < 0.01$  در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده ### $p < 0.001$  در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده



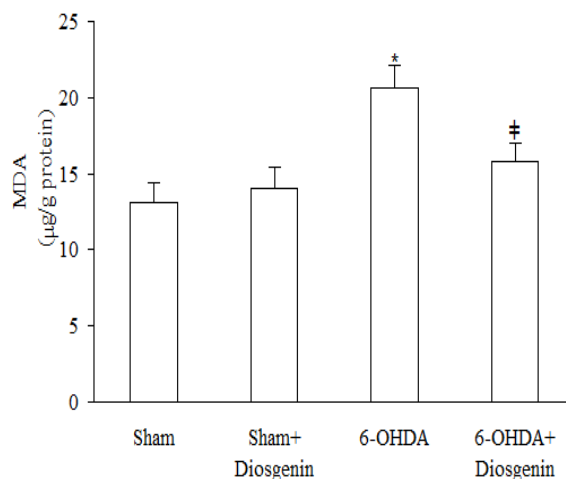
نمودار ۵. میزان نیتريت استرياتوم در موش‌های صحرايي گروه‌های مختلف در هفته دوم پس از جراحي

نمودار (۶) نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در واحد حجم بافت هموزنه 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 هموزنه استریاتوم مربوط به گروه ضایعه در مقایسه با گروه شام می‌باشد که از نظر آماری این تفاوت معنادار بود. درمان با دیوسجنین در هر دو گروه ضایعه و شام موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به گروه جراحی شده است؛ اما این تفاوت معنی‌دار نیست.



نمودار ۶. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در موش‌های صحرايي گروه‌های مختلف در هفته دوم پس از جراحي. \* $p < 0.05$  در مقایسه با گروه شام

گروه‌های ضایعه‌دیده و تیمار شده با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نیز به‌طور معنی‌دار در مقایسه با گروه ۶-هیدروکسی دوپامین کمتر بود. ( $p < 0.05$ ).



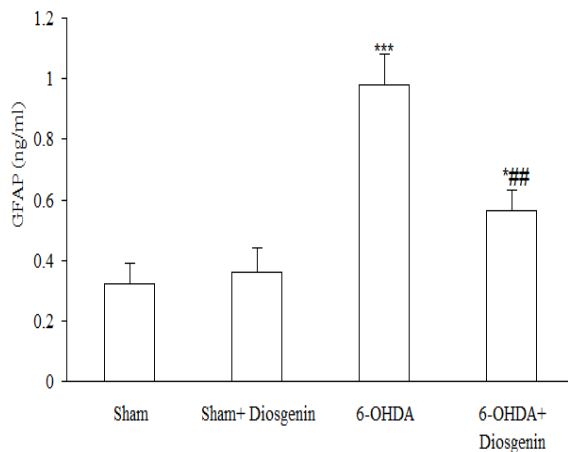
نمودار ۴. میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت مغز میانی در موش‌های صحرايي گروه‌های مختلف در هفته دوم پس از جراحي.

\* $p < 0.05$  در مقایسه با گروه شام # $p < 0.05$  در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده

نمودار (۵) نتایج مربوط به اندازه‌گیری نیتريت به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در هموزنه بافت استریاتوم موش‌های گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. سطح نیتريت در گروه ضایعه‌دیده با ۶-هیدروکسی دوپامین نسبت به گروه شام افزایش یافت؛ ولی این افزایش فاقد تفاوت معنی‌دار می‌باشد. همچنین، سطح این پارامتر در گروه ضایعه‌دیده تیمار شده با دیوسجنین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت غیرمعنی‌دار کمتر از گروه ۶-هیدروکسی دوپامین می‌باشد.



شم بیشتر بود ( $p < 0.001$ ) و سطح این پارامتر در گروه ضایعه‌دیده تیمار شده با دیوسجنین در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده، با نسبت معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) کمتر بود و همچنین میزان این پروتئین در گروه ضایعه‌دیده تیمار شده، نسبت به گروه شم با نسبت معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بیشتر بود.



#### نمودار ۸. نتایج میزان GFAP به‌عنوان مارکر

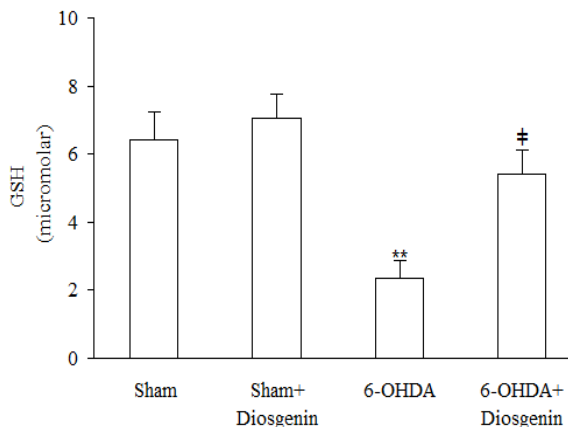
اختصاصی آستروسیت‌ها در سمت چپ استریاتوم در گروه‌های مختلف

\*  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه شم \*\*\*  $p < 0.005$  در مقایسه با گروه شم  
##  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده

#### بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز دیوسجنین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است و در حیوانات پارکینسونی شده، منجر به بهبود عملکردها در آزمون رفتاری چرخش، افزایش سطح گلوپروتئین بافت استریاتوم و کاهش معنی‌دار سطح مالون دی‌آلدنید، 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 نیتريت و فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت.

نتایج حاصل از سنجش میزان گلوپروتئین (GSH) در واحد حجم بافت همورژنه 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 گلوپروتئین در گروه ضایعه که دچار تخریب نورونی حاصل از تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین شده است، نسبت به گروه شم دارای کاهش معنی‌دار با نسبت ( $p < 0.01$ ) شده است که نشان‌دهنده کاهش میزان گلوپروتئین در نتیجه تأثیر نوروتوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین در نورون‌ها می‌باشد. درمان با دیوسجنین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در گروه ضایعه تیمار شده باعث افزایش معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) نسبت به گروه ضایعه شده که بیان‌کننده تأثیر مثبت دیوسجنین در افزایش آنتی‌اکسیدان گلوپروتئین در درمان بیماری پارکینسون می‌باشد.



#### نمودار ۷. نتایج حاصل از بررسی میزان غلظت

گلوپروتئین در واحد حجم بافت همورژنه مغز.

\*\*  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه شم #  $p < 0.05$  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 همورژنه 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

بیماری پارکینسون، امروزه در کلینیک مطرح است. یکس از روش‌های درمانی برای کاهش دادن اثرات استرس اکسیداتیو و محافظت نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد (۸).

در این مطالعه اثر ماده مؤثر دیوسجنین را به‌علت دارابودن خواص آنتی‌اکسیدانی موردبررسی قرار دادیم. تجویز دیوسجنین به‌مقدار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، در این تحقیق موجب کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود رفتار چرخشی و جلوگیری از کاهش نورون‌های دوپامینرژیک ماده سیاه در مدل تجربی بیماری پارکینسون گردید. در توجیه اثرات سودمند دیوسجنین مشخص شده است که این ماده دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. نتایج مطالعه 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 دوره تیمار بروز کرده است. در مطالعه‌ای که ناتان و همکارانش در سال ۲۰۱۴ انجام دادند به این نتیجه رسیدند که مصرف عصاره استاندارد شنبلیله (حاوی ماده مؤثر دیوسجنین) به‌صورت کپسول ۳۰۰ میلی‌گرمی دوبار در روز، به‌عنوان یک مکمل غذایی طی یک دوره شش ماهه در پنجاه بیمار پارکینسونی منجر به بهبود علائم حرکتی شده است (۹). همچنین فولر و همکارانش در سال ۲۰۱۵ به این نتیجه رسیدند که ساختار آلی دیوسجنین، فیبرهای گیاه شنبلیله و ۴-هیدروکسی ایزولوسین تأثیرات سودمندی را روی مارکرهای بیولوژیک و فیزیولوژیک التهاب و عملکرد سیستم عصبی نشان داده‌اند (۱۰). در سال ۲۰۱۶ پاندوری و همکارانش مشاهده کردند که گیاه شنبلیله غنی از اسیدهای چرب غیراشباع مانند لینولئیک اسید و لینولئیک اسید می‌باشد که دارای خاصیت ضدالتهابی چشمگیری می‌باشند. در این مطالعه فعالیت ضدالتهابی این اسیدهای

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 عدم تعادل وضعیتی می‌شود. عواملی از قبیل استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش سطح گلوکوتاتیون، تخریب DNA و تجمع آهن، از مهم‌ترین علل دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیک هستند (۶). 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 ۶-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 ۵۰ درصد سلول‌ها در هر دو استریاتوم و جسم سیاه و کاهش ۱۰ درصد سلول‌های VTA می‌شود و این منطبق بر سایر مشاهداتی است که میزان تخریب به‌وسیلهٔ 6-OHDA را بین ۴۰ تا ۶۰ درصد پس از دو هفته، بیان می‌کنند. کاهش سلولی حدود ۱۰ درصد در VTA تأییدکنندهٔ این نکته است که استپاله‌های دوپامینرژیک از VTA به استریاتوم پستی وارد می‌شوند (۷). درمان‌های آنتی‌اکسیداتیو در مراحل اولیهٔ بیماری

قابل توجهی در سطح سرمی این پارامترها ایجاد شد (۱۲). بدین ترتیب، دیوسجنین نیز به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی با مطالعات انجام شده هم‌خوانی دارد و نتایج مطالعات انجام شده تأییدکننده اثر درمانی دیوسجنین در بیماری پارکینسون می‌باشد.

به‌طور خلاصه، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گاوژ دیوسجنین، سبب کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود، پیش‌درمانی با دیوسجنین به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قبل از تزریق داخل استریاتوم ۶- هیدروکسی دوپامین در مدل اولیه بیماری پارکینسون، موجب کاهش شدت رفتار چرخشی و عدم تقارن حرکتی و جلوگیری از کاهش آسیب به نورون‌های جسم سیاه می‌گردد. همچنین، سطح مالون دی‌آلدئید و پروتئین رشته‌ای اسیدی گلیال کاهش معنی‌دار پیدا کرد و میزان فاکتور آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون افزایش نشان داد. در این مطالعه همچنین میزان نیتريت و کاتالاز تغییر مطلوبی نداشت.

#### سپاسگزاری

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

#### منابع

- 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.
- Ungrasert 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

چرب با توانایی آن‌ها در مهار درد حاد ناشی از مواد محرک درزای مختلفی از قبیل پروستاگلندین E2، لوکوترین و التهاب ناشی از اسیدآراشیدونیک آشکار شد که نشان‌دهنده توانایی این اسیدهای چرب در مهار هر دو مسیر سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز است. در این مطالعه همچنین، کاهش معنی‌دار درد و ادم در گروه ضایعه‌دیده القاشده با فرمالدهید که تحت‌درمان با عصاره دانه‌های شنبلیله بودند، نسبت به گروه ضایعه‌دیده مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در ادامه 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 فونتوم گراسیوم بر روی ماده آکريل آميد که یک ساختار بسیار خطرناک ایجادکننده استرس اکسیداتیو است، موردبررسی قرار گرفت. این مطالعه به‌منظور بررسی اثر عصاره دانه شنبلیله در برابر سمیت آکريل آميد انجام شد، گروه ضایعه‌دیده، آکريل آميد را به‌صورت خوراکی به‌صورت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرد. در این گروه افزایش قابل توجهی در سطح سرمی اینترلوکین ۱- بتا، اینترلوکین ۶- و فاکتور نکروز توموری آلفا مشاهده شد. در حالی که در گروه ضایعه‌دیده تحت‌درمان با عصاره، کاهش

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.

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

Zahra Ghasemi<sup>1</sup>, Zahra Kiasalari<sup>2</sup>, Fatemeh Ebrahimi<sup>1</sup>, Fariba Ansari<sup>1</sup>, Maryam Sharayeli<sup>3</sup>, Mehrdad Roghani<sup>2\*</sup>

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 fibrillary 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