Journal of Guilan University of Medical Sciences

Winter 2021. Vol 29. Num 4

Research Paper

Effect of Sumac Nano-phytosome on Memory and Oxidative Stress in Valproic Acid-induced Rat Model of Autism Spectrum Disorder

*Akbar Hajizadeh Moghaddam[1], Haniyeh Abbasalipour[1], Mojtaba Ranjbar[2], Sedigheh Khanjani Jelodar[3]

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.
2. Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.
3. Faculty of Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Hajizadeh Moghaddam A, Abbasalipour H, Ranjbar M, Khanjani Jelodar S. Effect of Sumac Nano-phytosome on Memory and Oxidative Stress in Valproic Acid-induced Rat Model of Autism Spectrum Disorder. Journal of Guilan University of Medical Sciences. 2021; 29(4):102-113. https://doi.org/10.32598/JGUMS.29.4.950.1

https://doi.org/10.32598/JGUMS.29.4.950.1

CC BY NC

Received: 08 Jul 2020

Accepted: 30 Nov 2020

Available Online: 01 Jan 2021

Keywords:
Autism, Sumac nano-phytosome, Valproic acid, Oxidative stress, Rat

ABSTRACT

Background Autism Spectrum Disorder (ASD) is an advanced neurological disorder characterized by symptoms such as deficits in social interaction, communication, and cognition. Although sumac fruit contains compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties, its effectiveness is limited due to its low bioavailability.

Objective This study aims to investigate the neuroprotective effect of sumac extract and sumac nano-phytosome on memory and oxidative stress in the hippocampal area of ASD rats.

Materials and Methods In this experimental study, pregnant female rats were first divided into healthy and patient groups. In the patient group, 500 mg/kg body weight valproic acid was injected intraperitoneally on day 12.5 of pregnancy. Male rats born in the healthy group were further divided into two healthy control and positive control groups, and those in the patient group were divided into two treatment groups of Sumac Extract (n=6) and Sumac Nano-Phytosome (n=6) 21 days after birth. The control groups received only saline, while treatment groups received SE and SNP (40 mg/kg/PO) for 4 weeks. Novel object recognition test was performed to assess recongnition memory of rats on day 49 after birth. Finally, Total Antioxidant Capacity (TAC), Glutathione Peroxidase (GPx), Glutathione Reductase (GRx) and Catalase (CAT) were measured in the hippocampus of rats.

Results Valproic acid significantly decreased the discrimination index in novel object recognition test as well as GPx, GRx and CAT, and TAC levels in the hippocampus ($P<0.001$). Treatment with sumac nano-phytosome significantly improved the memory and the activity of antioxidant enzymes (GPx, GRx and CAT) and TAC ($P<0.001$).

Conclusion Sumac nano-phytosome can improve memory deficits and oxidative stress more compared to sumac extract in ASD rats due to increased bioavailability.

* *Corresponding Author:*
Akbar Hajizadeh Moghaddam, PhD.
Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.
Tel: +98 (11) 35302453
E-Mail: a.hajizadeh@umz.ac.ir

www.SID.ir

Extended Abstract

1. Introduction

Autism Spectrum Disorders (ASD) is an advanced neurological disorder characterized by symptoms such as impaired social interaction, communication, and cognition by the presence of repetitive patterns of behavior [1]. The main cause of this disorder is the interaction between genetic and environmental factors. Several studies have shown the increased oxidative stress in ASD patients that may contribute to the development of this disorder [2]. Although *Rhus Coriaria L.* (Sumac) contains compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties, the therapeutic use of its extract is limited due to its low bioavailability and biological absorption [3, 4]. Various approaches including the use of natural compounds in the form of nanoparticles such as nano-phytosome have been proposed to improve its effectiveness [5]. This study aims to compare the neuroprotective effects of sumac extract and its nano-phytosome form on memory impairment and oxidative stress in the hippocampus of rats with ASD.

2. Materials and Methods

In this experimental study, pregnant female rats were divided into healthy and patient groups. In the patient group, 500 mg/kg body weight valproic acid (VPA) was injected intraperitoneally on day 12.5 of pregnancy. Male rats born in the healthy group were further divided into two healthy control and positive control groups, and those in the patient group were divided into two treatment groups of Sumac Extract (SE, n=6) and Sumac Nano-Phytosome (SNP, n=6) 21 days after birth. The control groups received only saline, while treatment groups received SE and SNP (40 mg/kg/PO) for 4 weeks. Novel Object Recognition (NOR) test was performed to assess recognition memory of rats on day 49 after birth. The NOR task was performed in the Plexiglas open box (40×40×60 cm) with sawdust covering the floor. The Discrimination Index (DI) was defined as the difference between the time spent exploring novel and familiar objects and the total exploring time [6]. Finally, total Antioxidant Capacity (TAC), Glutathione Peroxidase (GPx), Glutathione Reductase (GRx) and Catalase (CAT) levels were measured. The CAT, GPx, GRx, and TAC levels were assessed using the methods proposed by Aebi [7], Rotruck [8], Pinto [9], and Benzie [10], respectively. All statistical analyses were carried out in GraphPad Prism version 8.0.2 software. The data were expressed as Mean±Standard Deviation (SD). Comparisons were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. $P<0.05$ was considered as the significance level.

3. Results

The induction of ASD model resulted in a significant decrease in DI in the patient group compared to the control group ($P<0.001$). Treatment with SE and SNP significantly increased the DI during NOR test. The levels of CAT, GPx, GRx, and TAC in the patient group were significantly decreased compared to the control group ($P<0.001$). Treatment with SE significantly increased the levels of CAT ($P<0.05$), GPx ($P<0.001$), and GRx ($P<0.01$), while treatment with SNP significantly increased CAT ($P<0.05$), GPx ($P<0.001$), GRx ($P<0.01$), and TAC ($P<0.01$) levels.

4. Discussion and Conclusion

Under the NOR test, a decrease in the DI was observed in ASD rats, indicating learning and memory impairment. Treatment by SE and SNP increased the DI, where SNP had a higher effect on VAP-induced learning and memory impairment. The results of this study revealed that SNP was more effective than SE. The effect of SNP was significantly higher than that of SE on cognitive function, enzymatic activities, and TAC. Natural products of sumac make treatment of neurodegenerative diseases difficult due to low bioavailability and absorption, caused by poor fat solubility and stability and rapid degradation after intestinal absorption. SNP has greater permeability into neurons in the brain than SE. In agreement with our findings, Nazari et al. reported that nano-phytosome of garlic essential oil increased bioavailability and stability [11]. Khalaj et al. [12] reported that the effect of treatment by nano- hesperetin was higher compared to hesperetin on antioxidant activities and behavioral disorders in ASD rats. Molaveisi et al. [13] reported that oral bioavailability was improved by echinacea extract phytosome developed for oral consumption. In conclusion, SNP has promising effects on neuropathological disorders such as ASD.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All procedures were according to ethical guidelines for the use of animals in research of the University of Mazandaran (Code: IR.UMZ.REC.1397.021).

Funding

This study was supported by the Cognitive Science and Technologies Council of Vice Presidency for Science and Technology (Grant Number: 0786).

www.SID.ir

Authors' contributions

Conceptualization, supervision, editing & review: Akbar Hajizadeh Moghaddam; Data collection: Haniyeh Abbasalipour; Data analysis: Mojtaba Ranjbar and Sedigheh Khanjani Jelodar.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Deputy for Research of the University of Mazandaran for their cooperation.

www.SID.ir

مقاله پژوهشی

اثر نانوفیتوزوم سماق بر اختلالات شناختی و استرس اکسیداتیو القاشده با والپروئیک اسید در مدل اُتیسمی موش صحرایی

*اکبر حاجی‌زاده مقدم[۱]، هانیه عباسعلی‌پور[۱]، مجتبی رنجبر[۲]، صدیقه خانجانی جلودار[۳]

۱. گروه زیست جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
۲. دانشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.
۳. گروه زیست جانوری، دانشکده علوم و زیست فناوری، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۸ تیر ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۱۰ آذر ۱۳۹۹
تاریخ انتشار: ۱۲ دی ۱۳۹۹

چکیده

زمینه اختلالات طیف اُتیسم گستره وسیعی از اختلالات عصبی پیشرفته را نشان می‌دهد که با علائم گسترده‌ای شامل نقص تعامل اجتماعی، ارتباطات و نقص‌های شناختی مشخص می‌شوند. اگرچه میوه سماق حاوی ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است، به دلیل پایین بودن دسترسی زیستی و فراهمی زیستی کارایی آن محدود است.

هدف هدف از این پژوهش بررسی اثر حفاظت نورونی سماق و نانوفیتوزوم سماق بر اختلال حافظه و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در ناحیه هیپوکامپ مغز موش‌های مدل اُتیسمی است.

مواد و روش‌ها در این مطالعه تجربی، موش‌های ماده باردار به دو گروه کنترل و آزمایش تقسیم شدند. در گروه آزمایش اسید والپروئیک (VPA) با دُز ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز ۱۲/۵ حاملگی به صورت درون‌صفاقی تزریق شد. نوزادان نر هر دو گروه ۲۱ روز بعد از تولد تقسیم‌بندی شدند. حیوانات سالم به دو گروه کنترل سالین و کنترل نانوفیتوزم سماق تقسیم شدند که به ترتیب سالین و نانوفیتوزوم عصاره سماق (SNP) را با دُز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت چهار هفته به صورت گاواژ دریافت کردند. همچنین نوزادان گروه آزمایش نیز به سه گروه آزمایش، آزمایش تیمارشده با عصاره سماق (SE) و آزمایش تیمارشده با نانوفیتوزوم عصاره سماق تقسیم شدند که به ترتیب سالین، عصاره سماق و نانوفیتوزوم سماق را با دُز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت چهار هفته به صورت خوراکی دریافت کردند. برای ارزیابی حافظه، آزمون شناسایی شیء جدید ۴۹ روز پس از تولد انجام شد. در پایان سطح آنتی‌اکسیدان تام (TAC) و فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، گلوتاتیون ردوکتاز (GRx) و کاتالاز (CAT) در ناحیه هیپوکامپ اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها بر اساس نتایج ما، اسید والپروئیک به طور قابل توجهی ($P<0/001$) سبب کاهش شاخص تبعیض در آزمون تشخیص شی جدید، فعالیت آنزیم‌های GRx، GPx و CAT و سطح TAC در هیپوکامپ شد. تیمار با نانوفیتوزوم سماق به طور معنی‌داری ($P<0/001$) باعث بهبود اختلال رفتاری و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (GRx، GPx و CAT) و سطح آنتی‌اکسیدان TAC شد.

نتیجه‌گیری نتایج این مطالعه نشان داد که نانوفیتوزوم سماق در مقایسه با عصاره میوه سماق به دلیل افزایش فراهمی زیستی باعث بهبود مؤثرتر نقص حافظه و استرس اکسیداتیو در موش‌های مدل اتیسمی می‌شود.

کلیدواژه‌ها:
اُتیسم، نانوفیتوزوم سماق، والپرویک اسید، استرس اکسیداتیو، موش صحرایی نر

مقدمه

اُتیسم اختلال تکوین عصبی است که با اختلال رفتارهای ارتباطی، کلامی و یادگیری همراه است. این اختلال که در سه سال اول زندگی ظاهر می‌شود و با شیوع بالای یک در هر ۶۸ نفر یکی از شایع‌ترین اختلالات روان‌پزشکی به شمار می‌آید. شیوع این اختلال در پسران بیشتر از دختران است. به علت طیف وسیع علائم این بیماری به آن اختلال طیف اُتیسم[1] گفته می‌شود. علت عمده بروز این اختلال تعامل بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی است [۱، ۲].

هیپوکامپ یکی از نواحی مغز است که عملکردش در

1. Autism Spectrum Disorder (ASD)

* نویسنده مسئول:
اکبر حاجی‌زاده مقدم
نشانی: بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست جانوری.
تلفن: ۳۵۳۰۲۴۵۳ (۱۱) ۹۸+
رایانامه: a.hajizadeh@umz.ac.ir

www.SID.ir

بیماری اُتیسم دچار آسیب می‌شود. مطالعات متعددی نشان داد که اختلال یادگیری، حافظه، زبان و عملکرد شناختی از جمله مشکلات افراد اُتیسمی است که احتمالاً ناشی از نقص در عملکرد ناحیه هیپوکامپ است [۳]. برای بررسی اختلالات طیف اُتیسم از مدل‌های حیوانی متعددی استفاده می‌شود. از متداول‌ترین روش‌های القا مدل حیوانی اُتیسم، تزریق والپروئیک اسید[۲] در دوران بارداری است. امروزه مطالعات گسترده نشان داده‌اند که تزریق والپروئیک اسید در دوران بارداری می‌تواند سبب القا اختلال شبه‌اُتیسمی شود. والپروئیک اسید با نام‌های تجاری دپاکین و والپاکین از داروهای ضدصرع و ضدتشنج است. والپروئیک اسید از طریق کاهش سطح گلوتاتیون احیاشده، افزایش گونه اکسیژن فعال و غیرفعال‌سازی میتوکندری سبب افزایش استرس اکسیداتیو و التهابی در سیستم عصبی می‌شود [۴، ۵].

عدم تعادل میان گونه‌های فعال اکسیژن[۳] و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در بسیاری از بیماری‌های عصبی از جمله اُتیسم دارد. کنش رادیکال‌های آزاد با ترکیبات لیپیدی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها منجر به تغییر ساختار آن‌ها و نهایتاً اختلال عملکرد میتوکندریایی و مرگ برنامه‌ریزی‌شده نورون‌ها می‌شود. در مراحل اولیه تکوین سیستم عصبی، نورون‌ها به استرس اکسیداتیو آسیب‌پذیرتر هستند، به طوری که منجر به بروز اختلالات رفتاری از جمله نقص شناختی، افسردگی، اضطراب در بیماری اسکیزوفرنی و اُتیسم می‌شود [۶، ۷].

اگرچه درمان قطعی بیماری اُتیسم تاکنون دقیقاً مشخص نشده است اما استفاده از ترکیبات دارویی طبیعی می‌تواند تا حدودی علائم بیماری را، بدون ظهور عوارض جانبی، کاهش دهد. امروزه به دلیل اثرات سوء داروهای شیمیایی، استفاده از گیاهان دارویی با اقبال بیشتری مواجه شده است.

میوه سماق به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و آنتی‌باکتریایی در طب سنتی گیاهی برای درمان بیماری دیابت، سکته، سرطان و بیماری‌های عصبی شناخته شده است. عصاره میوه این گیاه غنی از تانین، پلی‌فنول‌ها و فلانوئیدها مانند گالیک اسید، متیل گالات، کوئرستین و آنتوسیانین و اسید چرب است [۷-۹]. علی‌رغم اثرات دارویی فراوان، کاربرد درمانی عصاره میوه سماق به دلیل جذب و دسترسی زیستی اندک با محدودیت روبه‌رو است. در سال‌های اخیر برای افزایش کارایی و اثربخشی گیاهان دارویی رویکرد مختلفی از قبیل استفاده از ترکیبات طبیعی به فرم نانو و حامل‌های دارویی همچون لیپوزوم و فیتوزوم مدنظر محققین قرار گرفته [۱۰]. نانوفیتوزوم از جمله نانوحامل دارویی نوین است که در سیستم انتقال دارو استفاده می‌شود [۱۱]. هدف ما از این مطالعه بررسی اثرات عصاره میوه سماق و فرم نانوفیتوزوم آن بر اختلال یادگیری و استرس اکسیدانی هیپوکامپ موش‌هایی است که در دوران بارداری در معرض VPA قرار گرفتند.

2. Valproic Acid (VPA)
3. Reactive Oxygen Species (ROS)

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی موش‌های صحرایی ماده باردار نژاد ویستار از پژوهشکده انستیتو پاستور آمل خریداری شدند و در اتاق حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد، در مرکز تکثیر و پروش حیوانات آزمایشگاهی گروه علوم جانوری دانشگاه مازندران نگه‌داری شدند. غذای مخصوص حیوانات به میزان کافی در دسترس بود. موش‌های نر و ماده به مدت ۲۴ ساعت برای آمیزش در کنار هم قرار گرفتند. روز اول بارداری بعد از مشاهده پلاک واژینال در نظر گرفته شد. ابتدا موش‌های ماده باردار به دو گروه کنترل و آزمایش تقسیم شدند. موش‌های باردار گروه آزمایش ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن والپروئیک اسید (سیگما، آمریکا) را در روز ۱۲/۵ بارداری به صورت درون‌صفاقی دریافت کردند و موش‌های باردار گروه کنترل در همان روز سالین دریافت کردند. در ادامه موش‌های نر متولد شده از مادران گروه کنترل، به دو گروه کنترل سالم و کنترل مثبت تقسیم شدند که ۲۱ روز بعد از تولد به ترتیب سالین و نانوفیتوزوم عصاره سماق با دُز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به مدت چهار هفته به صورت گاواژ دریافت کردند. همچنین موش‌های نر متولدشده از گروه آزمایش نیز ۲۱ روز بعد از تولد به سه گروه آزمایش، آزمایش تیمارشده با عصاره سماق[۴] و آزمایش تیمارشده با نانوفیتوزوم عصاره سماق[۵] تقسیم شدند. عصاره سماق و نانوفیتوزوم آن با دُز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت چهار هفته به صورت خوراکی دریافت کردند. در تمامی گروه‌ها از ۶ سر موش صحرایی نر استفاده شده است.

روش تهیه نانو فیتوزوم سماق

میوه سماق[۶] از منطقه لاریجان آمل (مازندران) جمع‌آوری شد و در گروه علوم گیاهی دانشگاه مازندران از نظر علمی با کد هرباریومی ۱۱۵۲۶ تأیید شد. میوه‌ها به مدت ۲ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک و پودر شدند. سپس مقدار ۱۰۰ گرم از پودر میوه با ۲۰۰ سی‌سی اتانول (۹۶ درصد) به مدت ۳ روز در دمای اتاق بر روی شیکر قرار داده شد. در پایان از طریق کاغذ صافی فیلتر و با استفاده از دستگاه روتاری، الکل عصاره حذف شد. عصاره نهایی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، نگهداری شد. نانوفیتوزوم سماق به روش اتانولی تهیه شده است [۱۲]. به طور خلاصه عصاره سماق در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در ۳ گرم فسفاتیدیل کولین و ۲/۱۶ گرم توین ۸۰ حل شده و سپس محلول فوق همراه با ۱۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به بافر

4.Sumac Extract (SE)
5. Sumac Nanophytosome (SNP)
6. R.coriaria

www.SID.ir

هیدراتاسیون (محلول بافر فسفات ۰/۰۱ مولار، ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl، pH4.7) در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد اضافه شد. برای حذف اتانول، محلول نهایی با همزن مغناطیسی به مدت ۳۰ دقیقه درون حمام آب در تبخیرکننده روتاری در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در پایان برای تشکیل نانوفیتوزوم و تولید ذرات کوچک‌تر از صد نانومتر، محلول نهایی به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

تست شناسایی شیء جدید

آزمون شناسایی شی جدید برای ارزیابی میزان اختلال حافظه انجام شد. این آزمون شامل سه مرحله است. مرحله اول (عادت) در مدت ۳ تا ۵ دقیقه انجام شد. در مرحله دوم یا مرحله آموزش دو شی کاملاً یکسان در کف اتاقک قرار گرفت و موش به مدت ۱۰ دقیقه در اتاقک به صورت آزادانه قرار داده شد. در مرحله سوم که مرحله آزمون حافظه حیوان است، شی جدیدی که از نظر مورفولوژی متفاوت با دو شی قبلی بود، جایگزین یکی از اشیا شده و موش به مدت ۵ دقیقه در اتاقک قرار گرفت. در پایان با تقسیم زمان بررسی شی جدید بر مجموع مدت زمان بررسی شی آشنا و جدید، شاخص زمانی تشخیص شیء جدید محاسبه شد [۱۳].

نمونه‌برداری

پس از ارزیابی اختلالات شناختی، حیوانات با کلروفرم بی‌هوش شدند و برای خارج شدن خون از بدن رپرفیوژن قلبی انجام شد. در ادامه به کمک ماتریکس مغزی ناحیه هیپوکامپ جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفت. بافت هموژن‌شده هیپوکامپ با سرعت ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول شفاف رویی آن برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده شد.

تعیین غلظت پروتئین به روش برادفورد

برای تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها از روش برادفورد استفاده شد و جذب هر نمونه در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. هرچه غلظت پروتئین حل‌شده بیشتر باشد، میزان رنگ آبی حاصل و جذب نوری آن افزایش می‌یابد [۱۴].

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز[۷] از روش ابی استفاده شد [۱۵]. محلول نهایی واکنش شامل بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار در pH=7است که حاوی ۱۰ میلی‌مولار H_2O_2 است. ۶۰ میکرولیتر از محلول رویی بافت هیپوکامپ هموژن‌شده به ۷۴۰ میکرولیتر مخلوط واکنش اضافه شد. جذب محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خوانده شد. برای سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز[۸] در هر نمونه از مخلوط واکنشی که شامل سدیم آزید ۵ میلی‌مولار، گلوتاتیون کاهیده ۴ میلی‌مولار، سدیم فسفات ۰/۴ مولار با pH=7که ۰/۴ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱ میلی‌مولار NADPH در آن حل شده است. سپس ۲۰۰ میکرولیتر محلول رویی بافت هموژن‌شده به مخلوط واکنش اضافه شد و اجازه داده شد به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شود و درنهایت پراکسید هیدروژن ۴ میلی‌مولار به مخلوط اضافه شد و جذب محلول در طول موج ۳۴۰ نانومتر و به مدت ۲ دقیقه خوانده شد [۱۶]. فعالیت آنزیم گلوتاتیونردوکتاز[۹] به روش رومرو و براساس اکسیداسیون NADPH محاسبه شد [۱۷]. مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۰/۱ مولار با pH=7به همراه ۲/۵ میلی‌مولار GSSG و ۰/۱ میلی‌مولار NADPH است. سپس ۶۰ میکرولیتر محلول رویی از بافت هموژن‌شده و۷۴۰ میکرولیتر محلول واکنش اضافه شد. تغییرات جذب نوری مربوط به فعالیت این آنزیم در طول موج ۳۴۰ نانومتر و طی ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد.

سنجش سطح آنتی‌اکسیدان تام

برای سنجش سطح آنتی‌اکسیدان تام (TAC) ۵۰ میکرولیتر از محلول رویی به ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP افزوده شد و بعد از ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه بن‌ماری، در طول موج ۵۹۳ نانومتر جذب اندازه‌گیری شد. برای صفر کردن دستگاه از مخلوط ۲۰ میکرولیتر آب مقطر در ۱/۵ میلی‌لیتر محلول FRAP، به عنوان بلانک، استفاده شد. با استفاده از منحنی استانداردها و معادله خط به‌دست‌آمده از FeSO4 غلظت آنتی‌اکسیدان تام نمونه‌ها محاسبه شد. غلظت آنتی‌اکسیدان بر حسب µM/g Tissue گزارش شد [۱۸].

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه[۱۰] و در صورت معنی‌دار شدن از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و Prism نسخه ۸ انجام شده و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Prism استفاده شد.

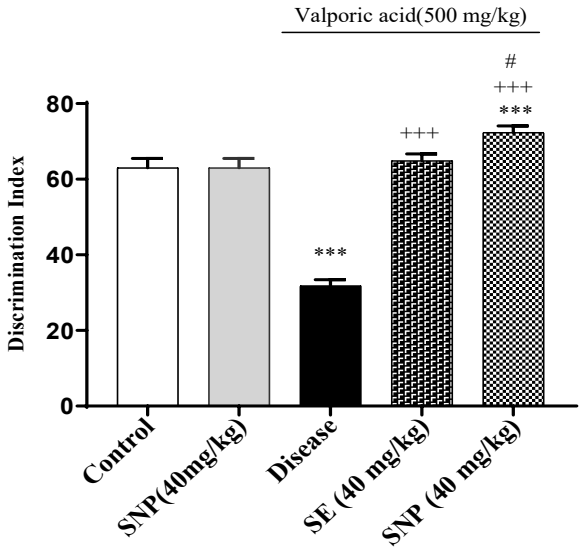
نتایج

بررسی اثر عصاره سماق و نانو فیتوزوم سماق بر شاخص تبعیض در آزمون شناسایی شی جدید

نتایج آزمون شناسایی شی جدید نشان داد که شاخص تبعیض در گروه بیمار کاهش معنی‌دار (P>۰/۰۰۱) یافت. این شاخص در گروه آزمایش تیمارشده با غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سماق نسبت به گروه آزمایش افزایش معنی‌داری (P>۰/۰۰۱) نشان داده است؛ همچنین شاخص تبعیض در گروه آزمایش تیمارشده با نانو فیتوزوم سماق با دُز ۴۰ میلی‌گرم به کیلوگرم نیز افزایش معنی‌داری

7. Catalase (CAT)
8. Glutathione Peroxidase (GPx)
9. Glutathione Reductase (GRx)
10. ANOVA

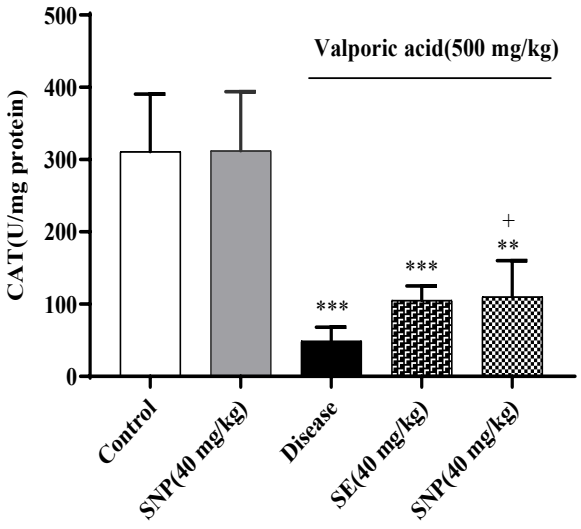
www.SID.ir



مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

تصویر ۱. بررسی اثر عصاره سماق و نانوفیتوزوم سماق بر مدت زمان صرف‌شده برای شی جدید (n=6 و Mean±SEM)

عصاره میوه سماق: SE و نانو فیتوزوم سماق: SNP. $^{***}P<0/001$ در مقایسه با گروه کنترل، $^{+++}P<0/001$ در مقایسه با گروه آزمایش و $^{\#}P<0/05$ در مقایسه با گروه SE.



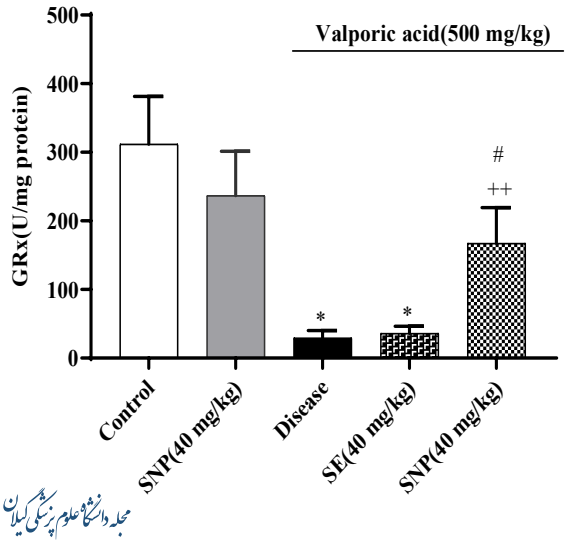
مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

تصویر ۲. بررسی اثر عصاره سماق و نانوفیتوزوم سماق بر فعالیت آنزیم کاتالاز در هیپوکامپ

(n=6, Mean±SEM) عصاره میوه سماق: SE و نانو فیتوزوم سماق: SNP. $^{***}P<0/001$، $^{**}P<0/01$ در مقایسه با گروه کنترل، $^{+}P<0/05$ در مقایسه با گروه بیمار.

بررسی اثر عصاره سماق و نانو فیتوزوم سماق بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

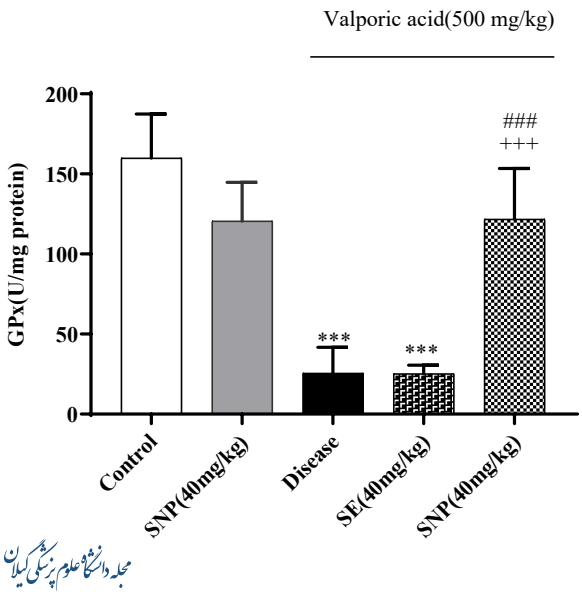
با توجه به تصویر شماره ۲، فعالیت آنزیم کاتالاز هیپوکامپی در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار ($P>0/001$) نسبت به گروه آزمایش نشان داد و افزایش این شاخص در گروه تیمارشده با نانوفیتوزوم در مقایسه با گروه تیمارشده با عصاره سماق نیز چشمگیر بود ($P>0/05$) (تصویر شماره ۱).



مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

تصویر ۳. بررسی اثر عصاره سماق و نانوفیتوزوم سماق بر فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز در هیپوکامپ (n=6, Mean±SEM)

عصاره میوه سماق: SE و نانو فیتوزوم سماق: SNP. $^{*}P<0/05$ در مقایسه با گروه کنترل، $^{++}P<0/01$ در مقایسه با گروه آزمایش و $^{\#}P<0/05$ در مقایسه با گروه SE.

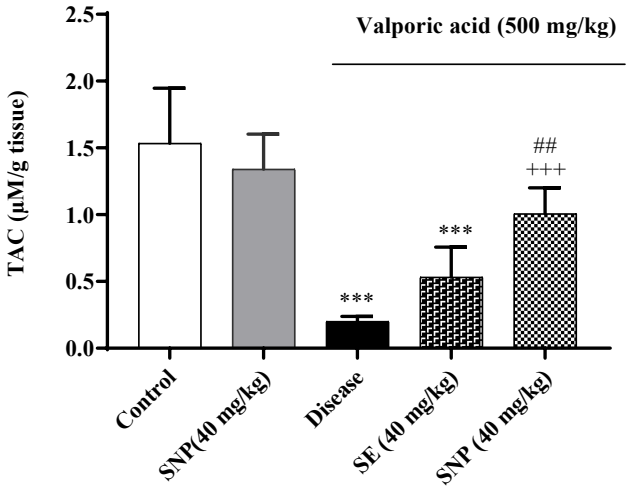


مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

تصویر ۴. بررسی اثر عصاره سماق و نانوفیتوزوم سماق بر فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در هیپوکامپ مغز (n=6, Mean ±SEM)

عصاره میوه سماق: SE و نانو فیتوزوم سماق: SNP. $^{***}P<0/001$ در مقایسه با گروه کنترل، $^{+++}P<0/001$ در مقایسه با گروه آزمایش و $^{\#\#\#}P<0/001$ در مقایسه با گروه SE.

www.SID.ir



تصویر ۵. بررسی اثر عصاره سماق و نانوفیتوزوم سماق بر سطح آنتی‌اکسیدان تام در هیپوکامپ مغز موش مدل اُتیسم (Mean±SEM n=6)
عصاره میوه سماق: SE و نانو فیتوزوم سماق: SNP. ***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، +++P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه بیمار و ##P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه SE40.

(P>۰/۰۰۱) را نشان داده است و تنها تیمار با نانوفیتوزوم سماق سبب افزایش معنی‌دار (P>۰/۰۵) فعالیت این آنزیم در مقایسه با گروه آزمایش شد. بر اساس تصویر شماره ۳، فعالیت آنزیم GRx درگروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار(P<۰/۰۵) داشته است. این در حالی است که فعالیت این آنزیم در گروه SNP نسبت به گروه آزمایش افزایش معنی‌دار (P> ۰/۰۰۱) نشان داد. همچنین سطح فعالیت این آنزیم در گروه SNP نسبت به گروه SE نیز افزایش معنی‌داری نشان داده است (P>۰/۰۵).

با توجه به تصویر شماره ۴، فعالیت آنزیم GPx هیپوکامپ در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری (P>۰/۰۰۱) نشان داده است. تیمار با عصاره میوه سماق با دُز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (SE40) بر فعالیت این آنزیم تأثیری ندارد و گروه آزمایش تیمارشده با SE کاهش معنی‌داری (P>۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد. در حالی که فعالیت آنزیم GPx در گروه تیمارشده با SNP در مقایسه با گروه آزمایش افزایش معنی‌داری (P>۰/۰۰۱) نشان داد، به طوری که درگروه SNP40 نسبت بهSE نیز افزایش معنی‌دار (P>۰/۰۰۱) مشاهده شد.

بررسی اثر عصاره سماق و نانوفیتوزوم سماق بر سطح فعالیت آنتی‌اکسیدان تام

تصویر شماره ۵ نشان می‌دهد که سطح آنتی‌اکسیدان تام هیپوکامپ بین گروه کنترل و کنترل مثبت اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما در گروه آزمایش کاهش معنی‌دار (P>۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل نشان داده است. این در حالی است که تنها تیمار با SNPسبب افزایش معنی‌دار (P>۰/۰۰۱) سطح آنتی‌اکسیدان تام نسبت به گروه آزمایش شده است. همچنین در گروه SNP نسبت به گروه SE نیز افزایش معنی‌داری (P>۰/۰۰۱) مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

اُتیسم طیفی از اختلالات عصبی است که با اختلال در ارتباطات، حافظه و عملکرد شناختی همراه است. مطالعات قبلی نشان داده است که برهم‌کنش‌های ژنتیکی و محیطی در طی مراحل تکوین سیستم عصبی در بروز این اختلال مؤثر است [۱۹]. مصرف داروی ضدصرع والپروئیک اسید در اوایل دوران بارداری به عنوان یکی از فاکتورهای محیطی احتمال بروز اُتیسم را در فرزندان افزایش می‌دهد. مطالعات متعددی نشان داده است که قرار گرفتن در معرض VPA در طول دوران بارداری در رت‌های نژاد ویستار سبب القا مدل اُتیسم می‌شود [۲۰]. مطالعات نشان داده است یکی از مناطق درگیر در اُتیسم ناحیه هیپوکامپ است [۴]. در مطالعه حاضر داده‌های آزمون رفتاری شناسایی شی جدید نشان داد که تزریق VPA در دوران بارداری موجب کاهش شاخص تبعیض می‌شود و این نتایج در راستای تأیید گزارش هارا و همکاران است [۱۶]. مطالعه نیکولینی و همکاران نیز نشان داد تزریق VPA سبب القا رفتارهای شبه‌اُتیسمی در جوندگان می‌شود [۲۱].

نتایج بیوشیمیایی پژوهش ما حاکی از آن است که تزریق VPA در دوران بارداری موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و همچنین باعث کاهش تغییرات سطوح آنتی‌اکسیدان تام در ناحیه هیپوکامپ مغز شده است. افزایش استرس اکسیداتیو در مغز افراد مبتلا به اُتیسم عامل مهمی در پاتوفیزیولوژی اُتیسم است. در پژوهش قبلی القا رفتارهای شبه‌اُتیسمی ناشی از تزریق VPA و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است [۲۲]. پراگنیا و همکاران نشان دادند تزریق VPA موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۲۳]. گائو و همکارانش نیز

www.SID.ir

گزارش کردند که تزریق VPA به موش‌های ماده باردار سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در زاده‌ها می‌شود [۲۴].

از آنجایی که مطالعات متعدد نشان می‌دهد سطوح ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در افراد مبتلا به اُتیسم تغییر می‌کند، بنابراین اختلال در مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در بروز اختلال اُتیسمی ایفا می‌کنند [۲۵]. علاوه بر این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله GP-x مانع از آسیب رساندن سوپراکسیدها به DNA می‌شوند. GSH آنتی‌اکسیدان اندوژنی است که توسط سلول‌ها تولید می‌شود و نقش مهمی در خنثی کردن ROS، سم‌زدایی و حذف سموم زیست‌محیطی ایفا می‌کند. افزایش استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ افراد مبتلا به اُتیسم نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو ممکن است عامل مهمی در پاتوفیزیولوژی اُتیسم باشد [۲۶].

در این مطالعه اثر حفاظتی سماق و نانوفیتوزوم آن بر شاخص رفتار شناختی و همچنین بر میزان سطح آنتی‌اکسیدان تام و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت هیپوکامپ در فرزندان اُتیسمی که مادران آن‌ها در دوره بارداری در معرض VPA قرار گرفتند، بررسی شد. نتایج داده‌های رفتاری این پژوهش نشان داد که مصرف سماق و نانوفیتوزوم سماق سبب بهبود رفتارهای شناختی در فرزندان اُتیسمی می‌شود. بررسی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی هیپوکامپ نشان داد که نانوفیتوزوم سماق موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و سطح آنتی‌اکسیدان تام می‌شود. همچنین نتایج این پژوهش حاکی از آن است که نانوفیتوزوم سماق احتمالاً به واسطه قابلیت زیستی بالاتر و جذب بهتر در لوله گوارش نسبت به عصاره خام سماق سبب بهبود اختلال شناختی و استرس اکسیداتیو هیپوکامپی القاشده با VPA در مدل اُتیسم می‌شود.

آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در کنترل یا درمان اختلالات تحلیل عصبی مانند آلزایمر، پارکینسون، سکته و اُتیسم ایفا می‌کنند. سماق نیز با روش‌های مختلفی به فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمک می‌کند. مطالعات اخیر حضور آنتی‌اکسیدان‌های گوناگون شامل اسیدگالیک، فنول‌ها و اسیدهای چرب را در سماق ثابت کرده‌اند [۱۵]. آنتوسیانین و تانن‌های هیدرولیزشده در سماق از پراکسیداسیون لیپید جلوگیری می‌کند. علاوه بر این گالیک اسید موجود در سماق از آسیب DNA در برابر ROS محافظت می‌کند و نیز رادیکال هیدروکسیل را مهار می‌کند [۷].

استرس اکسیداتیو منجر به افزایش H_2O_2 و ROS می‌شود که ROS سبب پراکسیداسیون لیپید و آسیب سلولی و آسیب به DNA می‌شود. بنابراین درمان با سماق موجب کاهش H_2O_2 می‌شود و در نتیجه می‌تواند از پراکسیداسیون لیپید و آسیب به DNA جلوگیری کند و نیز گالیک‌اسید موجود در سماق از DNA در برابر ROS محافظت می‌کند [۱۵]. هرچند سماق در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود اما به دلیل داشتن مشکلاتی همچون قابلیت زیستی و جذب پایین که ناشی از حلّ‌پذیری ضعیف در چربی و اندازه بزرگ آن‌هاست، درمان را تا حدودی دچار مشکل می‌کند [۷]. تکنولوژی نانو با افزایش قابلیت زیستی و جذب روده‌ای روش جدیدی برای حل این مشکل است. در میان ساختارهای مختلف نانوحامل، فیتوزوم کارآمدترین شکل نانوحامل است [۲۷].

در نتایج تحقیق حاضر اثرات بهبودی نانوفیتوزوم سماق با غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه دریافت‌کننده عصاره سماق با غلظت مشابه چشمگیرتر بود. به طوری که در شاخص تبعیض نسبت گروه سماق افزایش معنی‌داری مشاهده شد. بررسی مقایسه‌ای شاخص‌های آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانی هیپوکامپ بیانگر اثرات بارز ساختار نانوفیتوزومی سماق با غلظت ۴۰ در مقایسه با عصاره با همین غلظت است. در همین راستا، مشاهده شد که نانوفیتوزوم سماق با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و محافظ نورونی خود موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سطح آنتی‌اکسیدان تام و بهبود رفتار یادگیری در رت‌های مدل اوتیستیک شده است. نانوفیتوزوم سماق احتمالاً با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود سبب حفاظت نورون شده و از این رو توانسته است اثر مخرب VPA را در هیپوکمپ موش‌های اُتیسمی مهار کند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در این مطالعه تمامی مراحل کار با حیوان ازمایشگاهی مطابق با منشور اخلاق زیستی دانشگاه مازندران با کد اخلاقی IR.UMZ.REC.1397.021 انجام شد.

حامی مالی

این مطالعه با حمایت مالی ستاد توسعه علوم و فناوری‌های شناختی معاونت علمی و فناوری ریاست‌جمهوری انجام گرفته است (طرح شماره: ۰۷۸۶).

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی، نظارت، ویراستاری و نهایی‌سازی نوشته: اکبر حاجی‌زاده مقدم؛ جمع‌آوری داده‌ها: هانیه عباسعلی‌پور، آنالیز و بررسی داده‌ها: صدیقه خانجانی جلودار و مجتبی رنجبر.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

www.SID.ir

References

[1] Meguid NA, Dardir AA, Abdel-Raouf ER, Hashish A. Evaluation of oxidative stress in autism: Defective antioxidant enzymes and increased lipid peroxidation. Biological Trace Element Research. 2011; 143(1):58-65. [DOI:10.1007/s12011-010-8840-9] [PMID]

[2] Mousavinejad E, Ghaffari MA, Riahi F, Hajmohammadi M, Tiznobeyk Z, Mousavinejad M. Coenzyme Q10 supplementation reduces oxidative stress and decreases antioxidant enzyme activity in children with Autism Spectrum Disorders. Psychiatry Research. 2018; 265:62-9. [DOI:10.1016/j.psychres.2018.03.061] [PMID]

[3] Cheaha D, Bumrungsri S, Chatpun S, Kumarnsit E. Characterization of in utero valproic acid mouse model of autism by local field potential in the hippocampus and the olfactory bulb. Neuroscience Research. 2015; 98:28-34. [DOI:10.1016/j.neures.2015.04.006] [PMID]

[4] Silvestrin RB, Bambini-Junior V, Galland F, Bobermim LD, Quincozes-Santos A, Abib RT, et al. Animal model of autism induced by prenatal exposure to valproate: Altered glutamate metabolism in the hippocampus. Brain Research. 2013; 1495:52-60. [DOI:10.1016/j.brainres.2012.11.048] [PMID]

[5] Kumaravel P, Melchias G, Vasanth N, Manivasagam T. Epigallocatechin gallate attenuates behavioral defects in sodium valproate induced autism rat model. Research Journal of Pharmacy and Technology. 2017; 10:1477-80. [DOI:10.5958/0974-360X.2017.00260.8]

[6] Fontella FU, Siqueira IR, Vasconcellos AP, Tabajara AS, Netto CA, Dalmaz C. Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. Neurochemical Research. 2005; 30(1):105-11. [DOI:10.1007/s11064-004-9691-6] [PMID]

[7] Sağlam M, Köseoğlu S, Hatipoğlu M, Esen HH, Köksal E. Effect of sumac extract on serum oxidative status, RANKL/OPG system and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. Journal of Applied Oral Science. 2015; 23(1):33-41. [DOI:10.1590/1678-775720140288] [PMID] [PMCID]

[8] Rajan VK, Muraleedharan K. A computational investigation on the structure, global parameters and antioxidant capacity of a polyphenol, Gallic acid. Food Chemistry. 2017; 220:93-9. [DOI:10.1016/j.foodchem.2016.09.178] [PMID]

[9] Peng Y, Zhang H, Liu R, Mine Y, McCallum J, Kirby C, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of pyranoanthocyanins and other polyphenols from staghorn sumac (Rhus hirta L.) in Caco-2 cell models. Journal of Functional Foods. 2016; 20:139-47.[DOI:10.1016/j.jff.2015.10.026]

[10] Riaz H, Raza SA, Aslam MS, Ahmad MS, Ahmad MA, Maria P. An updated review of pharmacological, standardization methods and formulation development of rutin. Journal of Pure and Applied Microbiology. 2018; 12:127-32. [DOI:10.22207/JPAM.12.1.16]

[11] Karimi N, Ghanbarzadeh B, Hamishehkar H, Keyvani F, Pezeshki A, Gholian MM. [Phytosome and liposome: The beneficial encapsulation systems in drug delivery and food application (Persian)]. Applied Food Biotechnology. 2015; 2(3), 17-27. https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=466705

[12] Shin GH, Chung SK, Kim JT, Joung HJ, Park HJ. Preparation of chitosan-coated nanoliposomes for improving the mucoadhesive property of curcumin using the ethanol injection method. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2013; 61(46):11119-26. [DOI:10.1021/jf4035404] [PMID]

[13] Zavvari F, Karimzadeh F. A review on the behavioral tests for learning and memory assessments in rat. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2017; 5(4):110-24. [DOI:10.18869/acadpub.shefa.5.4.110]

[14] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 1976; 72(1-2):248-54. [DOI:10.1016/0003-2697(76)90527-3]

[15] Aebi H. [13] Catalase in vitro. Methods in enzymology. 1984; 105:121-6. [DOI:10.1016/S0076-6879(84)05016-3]

[16] Hara Y, Ago Y, Higuchi M, Hasebe S, Nakazawa T, Hashimoto H, et al. Oxytocin attenuates deficits in social interaction but not recognition memory in a prenatal valproic acid-induced mouse model of autism. Hormones and Behavior. 2017; 96:130-6. [DOI:10.1016/j.yhbeh.2017.09.013] [PMID]

[17] Pinto RE, Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. Biochemical Journal. 1969; 112(1):109-15. [DOI:10.1042/bj1120109] [PMID] [PMCID]

[18] Benzie IF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Analytical Bochemistry. 1996; 239(1):70-6. [DOI:10.1006/abio.1996.0292] [PMID]

[19] Wei H, Alberts I, Li X. The apoptotic perspective of autism. International Journal of Developmental Neuroscience. 2014; 36:13-8. [DOI:10.1016/j.ijdevneu.2014.04.004] [PMID]

[20] Cezar LC, Kirsten TB, da Fonseca CC, de Lima AP, Bernardi MM, Felicio LF. Zinc as a therapy in a rat model of autism prenatally induced by valproic acid. Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2018; 84:173-80. [DOI:10.1016/j.pnpbp.2018.02.008] [PMID]

[21] Nicolini C, Fahnestock M. The valproic acid-induced rodent model of autism. Experimental Neurology. 2018; 299:217-27. [DOI:10.1016/j.expneurol.2017.04.017] [PMID]

[22] Khalaj R, Moghaddam AH, Zare M. Hesperetin and it nanocrystals ameliorate social behavior deficits and oxido-inflammatory stress in rat model of autism. International Journal of Developmental Neuroscience. 2018; 69:80-7.[DOI:10.1016/j.ijdevneu.2018.06.009] [PMID]

[23] Pragnya B, Kameshwari JS, Veeresh B. Ameliorating effect of piperine on behavioral abnormalities and oxidative markers in sodium valproate induced autism in BALB/C mice. Behavioural Brain Research. 2014; 270:86-94. [DOI:10.1016/j.bbr.2014.04.045] [PMID]

[24] Gao J, Wang X, Sun H, Cao Y, Liang S, Wang H, et al. Neuroprotective effects of docosahexaenoic acid on hippocampal cell death and learning and memory impairments in a valproic acid-induced rat autism model. International Journal of Developmental Neuroscience. 2016; 49:67-78. [DOI:10.1016/j.ijdevneu.2015.11.006] [PMID]

www.SID.ir

[25] Chakraborty A, Ferk F, Simić T, Brantner A, Dušinská M, Kundi M, et al. DNA-protective effects of sumach (Rhus coriaria L.), a common spice: Results of human and animal studies. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 2009; 661(1-2):10-7. [DOI:10.1016/j.mrfmmm.2008.10.009] [PMID]

[26] Al-Amin MM, Rahman MM, Khan FR, Zaman F, Reza HM. Astaxanthin improves behavioral disorder and oxidative stress in prenatal valproic acid-induced mice model of autism. Behavioural Brain Research. 2015; 286:112-21.[DOI:10.1016/j.bbr.2015.02.041] [PMID]

[27] Shivanand P, Kinjal P. Phytosomes: Technical revolution in phytomedicine. International Journal of PharmTech Research. 2010; 2(1):627-31. https://www.researchgate.net/publication/266065880_Phytosomes_Technical_Revolution_in_Phytomedicine

[28] Nazari M, Ghanbarzadeh B, Kafil HS, Zeinali M, Hamishehkar H. Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model. Colloid and Interface Science Communications. 2019; 30:100176. [DOI:10.1016/j.colcom.2019.100176]

www.SID.ir

Archive of SID

This Page Intentionally Left Blank

www.SID.ir