Ar

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و هفتم، شماره یک، فروردین ۱۳۹۷

تاریخ دریافت:۱۳۹۴/۵/۱۳
تاریخ پذیرش:۱۳۹۴/۸/۱۰

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

اثر حفاظتی اسیدکلروژنیک در مدل تجربی بیماری پارکینسون القاشده توسط ۶– هیدروکسی‌دوپامین در موش صحرایی

سعیده دهناد[۱]، زهرا کیاسالاری[۲]، مهرداد روغنی*[۲]

مقاله پژوهشی

مقدمه: بیماری پارکینسون دومین بیماری شایع نورودژنراتیو است. با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌کننده عصبی اسیدکلروژنیک، هدف این مطالعه بررسی اثرحفاظت عصبی این ماده در مدل تجربی بیماری پارکینسون بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی موش‌های صحرایی‌نر نژاد ویستار (n=۳۲)، به ۴ گروه شم، شم تحت درمان با اسیدکلروژنیک، ضایعه‌دیده و ضایعه دیده تحت درمان با اسیدکلروژنیک، تقسیم شدند. مدل تجربی بیماری پارکینسون توسط تزریق ۱۲/۵ میکروگرم ۶-هیدروکسی دوپامین حل شده در محلول سالین‌اسکوربات به داخل نئواستریاتوم طرف چپ ایجاد گردید. گروه‌های شم تحت درمان و ضایعه‌دیده تحت درمان، از یک هفته قبل از انجام عمل جراحی استریوتاکسیک ۱۰میلی‌گرم دارو به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن را روزانه به فرم داخل صفاقی دریافت کردند، که آخرین نوبت تزریق یک ساعت قبل از جراحی استریوتاکسیک بود. در هفته دوم پس از جراحی، رفتار چرخشی به دنبال تزریق آپومورفین در طی یک ساعت و تعداد نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه مورد بررسی و شمارش قرار گرفت. برای آنالیز آماری از آزمون‌های آنووای یک طرفه و تست تعقیبی توکی در برنامه سیگما پلات نسخه ۱۲ استفاده شد.

نتایج: در موش‌های ضایعه‌دیده و درمان شده با اسیدکلروژنیک کاهش معنی‌داری در تعداد خالص چرخش‌ها مشاهده شد (p<۰/۰۱). هم چنین، در گروه ضایعه‌دیده و تحت درمان با اسیدکلروژنیک کاهش نورونی کمتر بود، به طوری که تعداد نورون‌ها در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (p<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: تجویز اسیدکلروژنیک به صورت پیش‌درمان موجب کاهش عدم تقارن حرکتی در مدل تجربی بیماری پارکینسون می‌گردد و موجب حفاظت و جلوگیری از کاهش نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسیدکلروژنیک، بیماری پارکینسون، ۶-هیدروکسی دوپامین، عدم تقارن حرکتی، نورون‌های دوپامینرژیک، جسم‌سیاه

ارجاع: دهناد سعیده، کیاسالاری زهرا، روغنی مهرداد. **اثر حفاظتی اسید کلروژنیک در مدل تجربی بیماری پارکینسون القا شده توسط۶-هیدروکسی‌دوپامین در موش صحرایی**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۸؛ ۲۷ (۱): ۲۷-۱۱۱۸

۱- دانش آموخته دکتری پزشکی عمومی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲-استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳-استاد ،فیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۲۱۵۱۲۱۲۶۳۷، پست الکترونیکی: mehjour@yahoo.com ، کد پستی :۱۸۱۵۵/۱۵۹

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

مقدمه

بیماری پارکینسون پس از بیماری آلزایمر، شایع‌ترین اختلال عصبی است که در حدود ۱٪ از جمعیت بالای ۵۰ سال و ۲٪ از جمعیت ۶۵ سال و بالاتر را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱،۲). میانگین سن شروع بیماری حدود ۶۰ سال است (۳،۴). علائم بیماری شامل لرزش، سفتی، کندی حرکت، و عدم تعادل حرکتی است. افزایش سن، فاکتورهای التهابی و عوامل ژنتیکی، قرار گرفتن در معرض عوامل زیست محیطی از جمله آفت‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها، فلزات سنگین، و سموم میکروبی، نوشیدن آب چاه و سابقه ضربه به سر خطر بیماری را افزایش می‌دهد (۵،۶). گرچه مکانیسم دقیق مرگ سلول‌های جسم سیاه در بیماری پارکینسون هنوز ناشناخته باقی مانده است، ولی شواهد زیادی برای نقش استرس اکسیداتیو مطرح است. اقدام درمانی موثر که بتواند نورودژنراسیون را دربیمارانی که از این بیماری رنج می‌برند متوقف کند هنوز در دسترس نیست (۹-۷). در خصوص مکانیسم‌های پاتولوژیک و علت مرگ نورونی سلول‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه در این بیماری فرضیات متعدد شامل نقص کمپلکس ۱ میتوکندریایی مربوط به زنجیره انتقال الکترون، تجمع آهن، اختلال عملکرد سیتوکروم کبدی P۴۵۰ و افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد مطرح می‌باشد.

شواهد زیادی برای این موضوع وجود دارد که استرس اکسیداتیو به دنبال تشکیل بیش از حد رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در تحلیل رفتن و مرگ نورونی در این بیماری دارد. بر اساس فرضیه استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین میزان تشکیل عوامل پیش برنده اکسیداسیون و میزان عوامل آنتی‌اکسیدان برقرار می شود که منجر به تشدید پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسیددیس‌موتاز و کاتالاز تضعیف می گردد (۱۰،۱۱) .اسیدکلروژنیک یک پلی‌فنل می باشد که در برخی گیاهان نظیر قهوه یافت می شود. اسیدکلروژنیک فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف و مفیدی برای سلامتی انسان دارد. در این خصوص مشخص شده است که این ماده دارای مثل اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌بیوتیکی و ضدسرطانی، ضدویروسی، ضدروماتیسمی و اثرات تسکین‌دهنده درد، تب بری، تنظیم کنندگی فشارخون، اثرات هایپولیپیدمیک، ضدعفونی‌کنندگی دستگاه گوارشی وکاهش دهنده تشنج می‌باشد (۱۲،۱۳) و خطر دیابت نوع ۲ (۱۴) و بیماری آلزایمر (۱۵) را کاهش می‌دهند. نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که بخشی از اثرات حفاظتی این ماده به‌دلیل ضد استرس اکسیداتیو آن و از طریق کاهش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن انجام می‌شود (۱۶). هم چنین شواهد تحقیقاتی جدید ارتباط معکوس بین مصرف قهوه و بیماری پارکینسون را مورد تایید قرار داده‌اند (۱۷). جدیداً نشان داده شده که مشتقات اسیدکلروژنیک قادر به کاهش تولید برخی اینترلوکین‌ها در رده سلولی Caco 2 می باشد که این از طریق کاهش فعالیت مسیرهای ضدالتهابی و افزایش تمامیت سلولی انجام می‌شود (۱۸). هم چنین اثرات ضدالتهابی اسیدکلروژنیک از طریق مهار مسیر سیکلواکسیژناز و NF-kB در مدل التهابی القا شده با لیپوپلی‌ساکارید نیز مورد تایید قرار گرفته است (۱۹). با توجه به این اثرات سودمند برای اسیدکلروژنیک، هدف این بررسی تعیین اثر حفاظت عصبی این ماده بر تغییرات بافتی و رفتاری در مدل تجربی بیماری پارکینسون القا شده با ۶ هیدروکسی‌دوپامین بود.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی بر روی ۳۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار (تهیه شده از مرکز تکثیر دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) انجام گردید. موش ها در محدوده وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم قرار داشتند. هرسه یا چهار موش در یک قفس و در شرایط کنترل شده از نظر دما و نور با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش در اتاق حیوانات به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش‌ها نگهداری شدند. ملاک انتخاب موش ها، حیوان هایی بود که قبل از انجام جراحی به دنبال تزریق داخل صفاقی آپومورفین به میزان ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تعداد

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

خالص چرخش کمتر از ۳۰ در یک ساعت نشان دادند. حیوانات به صورت تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند:

۱-گروه شم (Sham)

این گروه مورد تزریق داخل صفاقی حلال اسیدکلروژنیک (پروپیلن‌گلیکول) قرار گرفتند. این ماده به مدت هشت روز و به‌طور روزانه با فاصله زمانی ۲۴ ساعت به حیوانات تجویز شد. نوبت آخر تجویز یک ساعت قبل از جراحی استریوتاکسی بود. حین جراحی نیز تزریق سالین‌اسکوربات به میزان ۵ میکرولیتر به داخل استریاتوم سمت چپ صورت گرفت.

۲- گروه شم + اسیدکلروژنیک

این گروه مورد تزریق داخل صفاقی اسیدکلروژنیک به میزان ۱۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفت (۱۸). این ماده به مدت هشت روز و به‌طور روزانه با فاصله زمانی ۲۴ ساعت به حیوانات تجویز شد. نوبت آخر تزریق یک ساعت قبل از جراحی بود. حین جراحی، تزریق سالین‌اسکوربات نیز به میزان ۵ میکرولیتر در استریاتوم سمت چپ صورت گرفت.

۳- گروه ضایعه دیده

این گروه مورد تزریق داخل صفاقی حلال اسیدکلروژنیک (پروپیلن‌گلیکول) قرار گرفت. این حلال به مدت هشت روز و به‌طور روزانه با فاصله زمانی ۲۴ ساعت به حیوانات تجویز شد. نوبت آخر تجویز یک ساعت قبل از جراحی بود. حین جراحی، تزریق نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) به میزان ۱۲/۵ میکروگرم حل شده در سالین‌آسکوربات و به میزان ۵ میکرولیتر در استریاتوم سمت چپ صورت گرفت (۲۰).

۴- گروه ضایعه‌دیده و تحت تیمار با اسیدکلروژنیک

این گروه مورد تزریق داخل صفاقی اسیدکلروژنیک حل شده در پروپیلن‌گلیکول به میزان ۱۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفت. این ماده به مدت هشت روز و به طور روزانه با فاصله زمانی ۲۴ ساعت به حیوانات تجویز شد. نوبت آخر تجویز، یک ساعت قبل از جراحی بود. حین جراحی، تزریق نوروتوکسین ۶- هیدروکسی‌دوپامین به میزان ۵ میکرولیتر در استریاتوم سمت چپ صورت گرفت.

مدل بیماری پارکینسون توسط تزریق ۵ /۱۲ میکروگرم ۶ – هیدروکسی‌دوپامین حل شده در محلول سالین‌آسکوربات به داخل نئواستریاتوم طرف چپ ایجاد گردید. گروه‌های شم و ضایعه‌دیده تحت درمان، از هشت روز قبل از انجام عمل جراحی استریوتاکسیک، روزانه ۱۰ میلی گرم دارو با فاصله زمانی ۲۴ ساعت به فرم داخل صفاقی دریافت کردند. در هفته ۲ پس از جراحی، رفتار چرخشی به دنبال تزریق آپومورفین در طی یک ساعت و تعداد نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه مورد بررسی و شمارش قرار گرفت.

جراحی استریوتاکسیک

موش ها توسط تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین و گزیلازین به ترتیب ۸۰ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. سپس در دستگاه استریوتاکس، با مختصات تنظیم شده قرار گرفتند. مختصات دستگاه برای ایجاد ضایعه بر روی ۳ میلی‌متر لترال به سمت چپ، ۴/۵ میلی متر از سطح سخت‌شامه و ۰/۲ میلی‌متر قدامی خلفی نسبت به برگما بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون تنظیم شد. هم چنین میله دندانی ۳/۳ میلی‌متر زیر سطح افق قرار گرفت. قبل از تثبیت سر حیوان در دستگاه، موهای سر حیوان تراشیده شد تا پوست سر در معرض دید کامل قرار گیرد. سپس حیوان در دستگاه تثبیت شد و بعد از ضد عفونی کردن محل جراحی با بتادین، به وسیله تیغ جراحی شکافی موازی با سطح ساژیتال از محل فاصله بین چشم‌ها تا ناحیه فاصله بین گوش‌ها ایجاد گردید، پوست سر کنار زده شد، عضلات و ماهیچه‌های ظریف به آرامی به عقب رانده شد. با پیدا کردن مختصات، استخوان محل تزریق توسط دریل مخصوص با سرعت متوسط به منظور جلوگیری از آسیب بافت مغز سوراخ گردید. آن‌گاه با نمایان شدن سطح سخت‌شامه، تزریق به وسیله سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری صورت گرفت.

ارزیابی رفتاری

بررسی رفتاری با تجویز داروی آپومورفین هیدروکلراید (سیگما، آمریکا) به میزان ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم به فرم داخل صفاقی در هفته قبل از جراحی و

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

در هفته دوم پس از جراحی صورت گرفت. موش‌ها از ۱۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش در محفظه استوانه‌ای با قطر ۳۵ سانتی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر نگهداری شدند. پس از تزریق دارو، تعداد چرخش کامل ۳۶۰ درجه به مدت ۶۰ دقیقه به‌صورت دستی اندازه گیری شد. در مدت آزمایش موش ها تنها به آب دسترسی داشتند. تعداد چرخش ها به سمت مخالف محل ضایعهContra lateral (سمت راست) به عنوان عدد مثبت و چرخش به سمت محل ضایعه Epsi lateral (سمت چپ) به عنوان عدد منفی در نظر گرفته شد. تعداد خالص چرخش Net rotation، پس از تفاضل چرخش ها در دو جهت محاسبه گردید. این ارزیابی رفتاری در پایان هفته اول پس از ایجاد ضایعه و قبل از بیهوش کردن حیوان، جهت انجام پرفیوژن و خارج ساختن مغز برای هر موش نیز مجدداً انجام شد.

مطالعه بافت شناسی

پس از انجام آزمون رفتاری و در پایان کار بررسی‌های بافتی به ترتیب زیر صورت گرفت:

پرفیوژن ترانس کاردیال

موش‌ها توسط دوز بالای کتامین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن) بیهوش شده، پس از باز نمودن قفسه‌سینه در ابتدا ۱۰۰ میلی لیتر نرمال سالین حاوی هپارین و بعد از آن ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی لیتر محلول پارافرمالدئید ۴ درصد در بافر فسفات ۰/۱ مولار عبور داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲-۱ روز در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار حاوی ۳۰٪ سوکروز قرار گرفتند و در ادامه برش گیری به‌وسیله دستگاه میکروتوم فریزینگ (لایکا، آلمان) انجام شد. برش‌های بافتی با ضخامت ۳۰ میکرون بر روی لام‌های ژلاتینه قرار گرفت و پس از خشک شدن، مراحل رنگ‌آمیزی نیسل (کرزیل ویوله) در مورد آنها انجام گردید.

شمارش نورونی بخش متراکم جسم سیاه

برای شمارش نورونی در مورد هر موش، برش های مغز میانی در محدوده ۴/۲ میلی متر اینتراورال الی ۲/۹ میلی متر اینتراورال اطلس پاکسینوس و واتسون مورد بررسی قرار گرفتند. نورون‌های واقع در بخش متراکم جسم‌سیاه در برش های منطبق با چهار سطح ۲/۹۶، ۳/۲، ۳/۷ و ۴/۲ اطلس پاکسینوز، نسبت به مرکز خط اینتراورال با بزرگ‌نمایی X400 شمارش شدند. در هر سطح از چهار سطح ذکر شده، شمارش برای حداقل دو برش انجام شد و نورون های دوپامینرژیک با محدوده سیتوپلاسمی واضح شمارش گردیدند. این مطالعات میکروسکوپی به‌وسیله عکس‌برداری از لام‌ها با بزرگنمایی X 400 انجام گردید. سپس در انتها با شمارش نقاط مشخص شده، اعداد حاصله به عنوان تعداد نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه SNC گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تمام داده‌های این تحقیق به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شده است. در مورد نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخش و هم چنین شمارش نورونی از آنالیز آماری آنووای یک طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد. به علاوه،$P< ۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای آنالیز آماری از برنامه سیگما پلات نسخه ۱۲ استفاده شد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه شاهد تایید شده است (کد اخلاق IR.Shahed.REC.1394.306).

نتایج

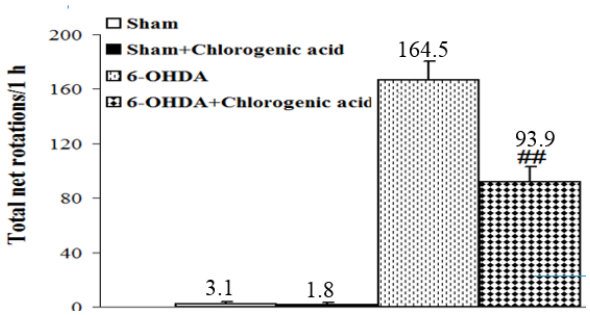
نمودار ۱ نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القاء شده توسط آپومورفین (۲ میلی گرم به ازاءهرکیلوگرم وزن حیوان) به‌صورت داخل صفاقی را در نشان می‌دهد. در این ارتباط تعداد خالص چرخش در گروه شم مثبت (چرخش به سمت مخالف ضایعه) و در گروه شم تیمار شده با اسید کلروژنیک نیز چرخش‌ها به همان سمت (کنترا لترال) بودند هر چند در گروه اخیر تعداد خالص چرخش از گروه شم بیشتر بود. با این وجود این چرخش‌ها کمتر از ۳۰ دور در دقیقه بودند و با انجام آنالیز آماری مشخص شد تفاوت معنی دار بین این دو گروه یافت نمی شود. موش‌های گروه ضایعه‌دیده یک چرخش بارز و زیاد به سمت مقابل (کونترالترال) نشان دادند که این خود نشان دهنده ایجاد مدل بیماری پارکینسون در این دسته از موش ها بود.

www.SID.ir

Archive of SID

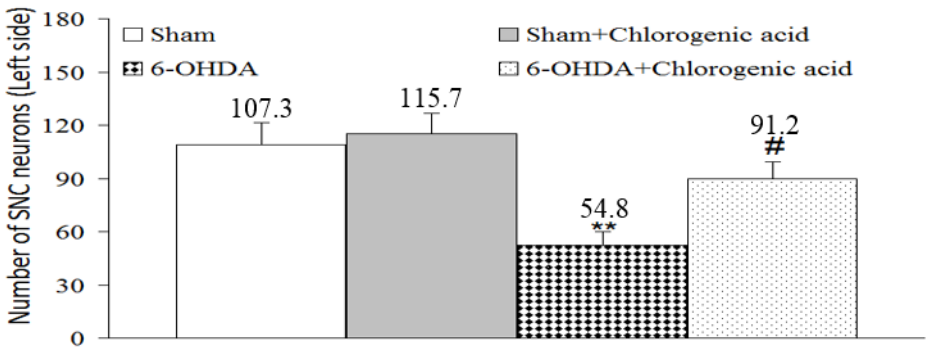
[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

به علاوه، تیمار موش‌های ضایعه‌دیده با اسید کلروژنیک به میزان ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی‌دار تعداد خالص چرخش ها گردید ($p<0.01$).



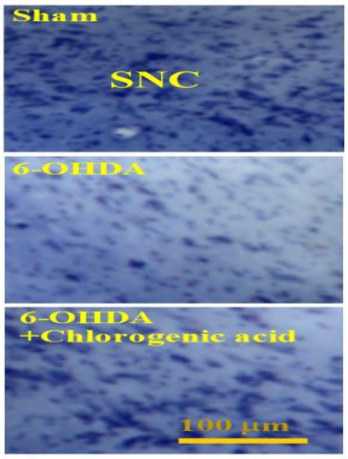
نمودار ۱: نتایج حاصل از بررسی رفتار چرخشی القاء شده توسط آپومورفین در گروههای مختلف

(در مقایسه با گروه ضایعه‌دیده) آزمون آنووای یکطرفه و تست تعقیبی توکی



نمودار۲: میانگین تعداد نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم‌سیاه در سمت چپ مغز میانی در گروه‌های مختلف.

** در مقایسه با گروه شم $p<0.01$.# در مقایسه با گروه ضایعه دیده $P<0.05$ آزمون آنووای یکطرفه و تست تعقیبی توکی



شکل ۱: عکس میکروسکوپ نوری از ناحیه مغزمیانی گروه های مختلف. بار = ۱۰۰ میکرومتر

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز داخل صفاقی اسیدکلروژنیک به حیوانات ضایعه دیده موجب کاهش قابل ملاحظه‌ای در رفتار چرخشی القا شده به وسیله آپومورفین می شود. به علاوه اسیدکلروژنیک موجب بقای نورون‌های نیگرواستریاتال در بخش متراکم جسم سیاه حتی پس از آسیب القا شده به وسیله نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین می شود. تزریق ۶- هیدروکسی‌دوپامین به بخش متراکم جسم سیاه سبب تخریب کامل جسم‌سلولی نورون‌ها در این ناحیه و متعاقب آن تهی‌شدن استریاتوم از دوپامین می شود (۲۰). همان طور که در قبل بیان شد 6-OHDA با ایجاد استرس‌اکسیداتیو سبب بروز بیماری پارکینسون می‌شود (۲۰). رادیکال‌های آزاد اکسیژن و دیگر رادیکال‌های آزاد، مسبب بسیاری از بیماری‌ها و مسیرهای پاسخ سلولی مرتبط با آن ها هستند. مطالعات نشان داده است که آسیب یک طرفه سیستم دوپامینرژیکی نیگرواستریاتوم با تزریق داخل استریاتال ۶- هیدروکسی دوپامین موجب کاهش سطح دوپامین و تنظیم افزایشی (Up-regulation) گیرنده‌های پس‌سیناپسی دوپامینرژیک واقع بر روی نورون‌های استریاتوم سمت آسیب دیده می‌گردد (۲۲-۲۰). نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین از طریق رادیکال‌های آزاد موجب تخریب ناحیه نیگرواستریاتوم می شود. این نوروتوکسین از طریق حامل‌های انتخابی دوپامین وارد پایانه‌های دوپامینرژیکی واقع در نئواستریاتوم شده و با تولید هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن باعث پراکسیداسیون لیپید، فراگمانتاسیون DNA و اکسیداسیون پروتئین و در نتیجه مرگ سلولی می‌شوند (۲۲-۲۰). تزریق یک طرفه نوروتوکسین موجب ایجاد عدم تقارن عملکردی (Functional asymmetry) می شود که با استفاده از آگونیست‌های مستقیم دوپامینرژیکی نظیر آپومورفین که مستقیماً بر روی گیرنده‌ها اثر می‌کنند و آگونیست‌های غیرمستقیم نظیر آمفتامین که آزاد شدن دوپامین را افزایش داده و تجزیه دوپامین و بازجذب آن را به داخل پایانه‌های دوپامینرژیکی کاهش می‌دهند به طور کمی قابل ارزیابی است (۲۳). در این رابطه آپومورفین موجب القا چرخش به سمت راست در حیوانات با تخریب طرف چپ استریاتوم می‌شود. افزایش معنی دار تعداد چرخش به‌دنبال تجویز داروهای دوپامینرژیکی به ویژه آپومورفین به عنوان یکی از معیارهای معتبر ارزیابی میزان کاهش دوپامین در نواحی هدف سیستم نیگرو استریاتال در نظر گرفته می شود (۲۴-۲۳). کاهش تعداد چرخش القا شده به‌وسیله تزریق آپومورفین پس از تخریب سیستم نیگرواستریاتال در گروهی که با اسیدکلروژنیک پیش درمانی شده‌اند نشان‌دهنده توان حفاظتی اسیدکلروژنیک بر نورودژنراسیون جسم سیاه و حفظ سطح دوپامین استریاتوم به میزانی که موجب بروز رفتار چرخشی می باشد. به نظر می رسد اسیدکلروژنیک از طریق مکانیسم‌های مرتبط با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی خود موجب بازگشت عملکردی سیستم نیگرواستریاتال شده باشد. از طرف دیگر اسیدکلروژنیک سطح آنزیم‌های دفاعی مغز نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیس‌موتاز و سطح آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بافت نظیر گلوتاتیون بویژه در ناحیه نئواستریاتوم بافت عصبی را بالا می‌برد (۲۵). مطالعات نشان داده‌اند که اسیدکلروژنیک با مکانیسم حذف رادیکال‌های آزاد و آثار مهاری روی MMP۲ و ۹ (۲۶) و کاهش تولید گونه‌های اکسیژن فعال و افزایش بیان پروتئین ضدآپوپتوز BCL-2 (۲۷) اثرات محافظت نورونی خود را ایفا می‌کند. به طورخلاصه، پیش درمان موش‌های نیمه پارکینسونی با اسید کلروژنیک به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قبل از تزریق داخل استریاتوم ۶- هیدروکسی‌دوپامین در مدل اولیه بیماری پارکینسون می تواند از وقوع عدم تقارن عملکردی و نورودژنراسیون نورون‌های بخش متراکم جسم سیاه جلوگیری نماید .به نظر می رسد ویژگی‌های آنتی اکسیدانی موجود در این ماده نقش مهمی در اثرات حفاظتی آن داشته باشند که این می‌تواند به عنوان یک درمان کمکی و حفاظتی در افراد مبتلا به بیماری پارکینسون به ویژه در مراحل اولیه کاربرد داشته باشد. در مطالعات آتی، اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو در ناحیه جسم سیاه یا نئواستریاتوم نظیر میزان مالون دی آلدئید و سطح آنزیم‌های دفاعی مانند سوپر اکسید دیسموتاز توصیه می شود.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه گیری

به‌طور خلاصه، نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز اسیدکلروژنیک با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت پیش‌درمان موجب کاهش عدم تقارن حرکتی در مدل تجربی بیماری پارکینسون می‌گردد و موجب حفاظت و جلوگیری از کاهش نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه می‌شود. مشخص نمودن نقش استرس اکسیداتیو و التهاب در اثربخشی اسیدکلروژنیک در این مدل از بیماری پارکینسون در مطالعات آتی توصیه می شود.

سپاس‌گزاری

پژوهش حاضر حاصل پایان‌نامه دانشجوئی سعیده دهناد مصوب معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۲ می‌باشد و با حمایت مالی این دانشگاه به انجام رسیده است که بدینوسیله از این معاونت تشکر می‌گردد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1-Donaldson IM. ***James Parkinson's essay on the shaking palsy.*** J R Coll Physicians Edinb 2015; 45(1): 84-6.

2-De Rijk MC, Launer LJ, Berger K, Breteler MM, Dartigues JF, Baldereschi M, et al. ***Prevalence of Parkinson's disease in Europe: A collaborative study of population-based cohorts***. ***Neurologic Diseases in the Elderly Research Group***. Neurology 2000; 54: S21-23

3-Scheife RT, Schumock GT, Burstein A, Gottwald MD, Luer MS. ***Impact of Parkinson's disease and its pharmacologic treatment on quality of life and economic outcomes***. Am J Health Syst Pharm 2000; 57(10): 953-62.

4-Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kieburtz K, et al. ***Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030***. Neurology 2007; 68(5): 384-86.

5-Di Monte DA. ***The environment and Parkinson's disease: is the nigrostriatal system preferentially targeted by neurotoxins?*** Lancet Neurol 2003; 2(9): 531-8.

6-Kanthasamy AG, Kitazawa M, Kanthasamy A, Anantharam V. ***Dieldrin-induced neurotoxicity: relevance to Parkinson's disease pathogenesis***. Neurotoxicology 2005; 26: 701-19.

7-Ascherio A, Zhang SM, Hernan MA, Kawachi I, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC. ***Prospective study of caffeine consumption and risk of Parkinson's disease in men and women.*** Ann Neurol 2001; 50: 56-63.

8-Arenas E. ***Common views in the treatment of Parkinson's disease***. Brain Research Bulletin 2002; 57(6):759-808.

9-Barneud P, Mazadier M, Miquet JM, Parmentier S, Dubedat P, Doble A, et al. ***Neuroprotective effects of riluzile on a model of Parkinso's disease in the rat***. Neuroscience 1996; 74(4): 971-83.

10- Stelmashook EV, Isaev NK, Genrikhs EE, Amelkina GA, Khaspekov LG, Skrebitsky VG,

www.SID.ir

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

Archive of SID

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

et al. ***Role of zinc and copper ions in the pathogenetic mechanisms of Alzheimer's and Parkinson's diseases***. Biochemistry (Mosc) 2014; 79(5): 391-6.

11- Schapira AH, Olanow CW, Greenamyre JT, Bezard E. ***Slowing of neurodegeneration in Parkinson's disease and Huntington's disease: future therapeutic perspectives***. Lancet 2014; 384(9942): 545-55.

12- Clifford MN. ***Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism***. J Sci Food Agric 2000; 80(1): 1033-43.

13- VecchiaC, Tavani A. ***Coffee and cancer risk: an update.*** Eur J Cancer Prev 2007; 16(50: 385-9.

14- Salazar-MartinezE, WillettW, AscherioA, MansonJ, LeitzmannM, Stampfer M, et al. ***Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus***. Ann Intern Med 2004; 140: 1-8.

15- LindsayJ, LaurinD, VerreaultR, HebertR, HelliwellB, Hill G, et al. ***Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging***. Am J Epidemiol 2002; 156(4): 445-53.

16- Yen W, Wang B, Chang L, Duh P. ***Antioxidant properties of roasted coffee residues***. J Agric Food Chem 2005; 53(7): 2658-63.

17- Hernan MA, Takkouche B, Caamano-Isorna F, Gestal-Otero JJ. ***A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease***.Ann Neurol 2002; 52(3): 276-84.

18- Liang N, Kitts DD. ***Chlorogenic Acid (CGA) isomers alleviate interleukin 8 (IL-8) production in Caco-2 cells by decreasing phosphorylation of p38 and increasing cell integrity.*** Int J Mol Sci 2018; 19(12).

19- Zhang L, Fan Y, Su H, Wu L, Huang Y, Zhao L, et al. ***Chlorogenic acid methyl ester exerts strong anti-inflammatory effects via inhibiting the COX-2/NLRP3/NF-κB pathway.*** Food Funct 2018; 9(12): 6155-64.

20- Baluchnejadmojarad T, Eftekhari SM, Jamali-Raeufy N, Haghani S, Zeinali H, Roghani M. ***The anti-aging protein klotho alleviates injury of nigrostriatal dopaminergic pathway in 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease: Involvement of PKA/CaMKII/CREB signaling***. Exp Gerontol 2017; 100: 70-6.

21- Gerlach M, Riederer P. ***Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man***. J Neural Transmission 1996; 103(8-9): 987-1041.

22- Schwarting RK, Huston JP. ***The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research: analysis of functional deficits, recovery and treatments***. Prog Neurobiol 1996; 50(2-3): 275-331.

23- Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM. ***Free radicals as mediators of neuronal injury***. Cell Mol Neurobiol 1998; 18(6): 667-82.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019

24- Schwarting RK, Huston JP. ***Behavioral and neurochemical dynamics of neurotoxic meso-striatal dopamine lesions***. Neurotoxicology 1997; 18(3): 689-708.

25- Vardi N, Parlakpinar H, AtesB. ***Beneficial effects of chlorogenic acid on methotrexate-induced cerebellar Purkinje cell damage in rats***. J ChemNeuroanat 2011; 43(1):43-7.

26- Lee K, Lee JS, Jang HJ, Kim SM, Chang MS, Park SH, et al. ***Chlorogenicacid ameliorates brain damage and edema by inhibiting matrix metalloproteinase-2 and 9 in a rat model of focal cerebral ischemia***. Eur J Pharmacol 2012; 689(1-3): 89-95.

27- Oboh G, Agunloye OM, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO, Adefegha SA.***Comparative study on the inhibitory effect of caffeic and chlorogenic acids on key enzymes linked to Alzheimer's disease and some pro-oxidant induced oxidative stress in rats' brain-in vitro.*** Neurochem Res 2013; 38(2): 413-9.

.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 27| NO 1 | Apr 2019

Received: 4 Aug 2015
Accepted: 1 Nov 2015

Protective effect of chlorogenic acid in an experimental model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine in rats

Saeedeh Dehnad[1], Zahra Kiasalari[2], Mehrdad Roghani[*2]

Original Article

Introdution: Parkinson's disease is the second most common neurodegenerative disease. Considering the antioxidant and neuroprotective properties of chlorogenic acid, the purpose of this study was to evaluate the neuroprotective effect of this substance in an experimental model of Parkinson's disease.

Methods: In this experimental study, Wisar male rats (n = 32) were divided into 4 groups: sham, chlorogenic acid-treated sham, lesion and chlorogenic-acid-treated lesion. The experimental model of Parkinson's disease was made by injecting 12.5 microgram of 6-hydroxydopamine dissolved in a saline-ascorbate solution into the left side of neostriatum. The chlorogenic acid-treated sham and the chlorogenic-acid-treated lesion groups received 10 mg/kg of the drug intraperitoneally daily during a week before stereotaxic surgery and the last injection was given one hour before stereotaxic surgery. In the second week after surgery, the rotational behavior induced by apomorphine injection within one hour and the number of dopaminergic neurons in the substantia nigra compacta was examined and counted. For statistical analysis, one-way ANOVA and Tukey post-host tests were used in Sigmaplot 12.

Results: Chlorogenic acid-pretreated lesion group showed significantly lower rotations versus lesion group ($p<0.01$). In addition, chlorogenic acid-treated lesion group had a higher number of dopaminergic neurons relative to lesion group ($p<0.05$).

Conclusion: Pretreatment with chlorogenic acid reduces motor asymmetry in an experimental model of Parkinson's disease and has also protective effect on nigral dopaminergic neurons.

Keywords: Chlorogenic acid, Parkinson's disease, 6-hydroxydopamine, Motor asymmetry, Dopaminergic neuron, Substantia nigra.

Citation: Dehnad S, Kiasalari Z, Roghani M. **Protective effect of chlorogenic acid in an experimental model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine in rats.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2019; 27(1): 1118-27.

[1]Shahed University, Tehran, Iran.
[2]Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 02151212637**, email:** mehjour@yahoo.com

www.SID.ir

[DOI: 10.18502/ssu.v27i1.869]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 12:01 IRDT on Monday May 20th 2019