فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی 29، جلد 8، شماره 2، بهار94، صفحه 43 تا 50

بررسی اثر عصاره الکلی برگ کرفس کوهی(*Kellussia odoratissma*) و ویتامین*B12* برمیزان شاخص‌های التهابی در موش صحرایی مبتلا به انسفالومیلیت آلرژیک تجربی

اکبر کریمی[1]، مجید گوروئی[2]
1- استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه پیام نور، تهران. ایران. *karimiakbar38@yahoo.com.*
2-گروهزیستشناسیدانشگاهپیامنور،تهران. ایران.
تاریخ دریافت: 93/12/2 تاریخ پذیرش:94/1/15

چکیده

زمینه و هدف:مالتیپل اسکلروزیس(*MS*) بیماری خود ایمنی و التهابی در سیستم عصبی مرکزی است. کرفس کوهی دارای خواص ضد التهابی و ویتامین*B12* تنظیم کننده سیستم ایمنی است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره الکلی برگ کرفس کوهی و*B12* بر روی آنزیم‌های لیزوزومی وشاخص بافتی در موش صحرایی مبتلا به انسفالومیلیت آلرژیک تجربی *(EAE)* است.

روش کار:در این مطالعه از 50 رت ماده لویس(180-200 گرم) استفاده و در 40 سر ازآن‌ها *EAE* القاء شد. عصاره الکلی برگ کرفس کوهی(*30mg/kg*) و ویتامین *B12*(*5mg/kg*) از طریق درون صفاقی به مدت 10 روز جهت درمان استفاده گردید. سطوح آنزیم‌های لیزوزومی و آنزیم‌های شاخص بافتی با روش‌های بیوشیمیاییمورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی‌های آماری با استفاده از *ANOVA* مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها:درمان رت‌های مبتلا به *EAE* با عصاره الکلی برگ کرفس کوهی و*B12* به کاهش معنی‌داری در شرایط بد کلینیکی، سطح آنزیم‌های لیزوزومی و آنزیم‌های شاخص بافتی منتهی شد($p\leq 0/05$).

نتیجه گیری:تیمار توام کرفس کوهی و ویتامین*B12* شاخص‌های التهابی را کاهش و دارای خواص ضد التهابی می باشند.

واژه های کلیدی: کرفس کوهی، ویتامین*B12*، انسفالومیلیت آلرژیک، رت.

مقدمه

بیماری *MS*از بیماری‌های التهابی است که در آن سلول‌های فعال شده ایمنی با حمله به سیستم عصبی مرکزی(مغز و نخاع) باعث بروز بیماری می شوند. درمان بیماری *MS* به دلیل پیچیدگی آن یکی از چالش‌های مهم در دنیای پزشکی است(5). انسفالومیلیت آلرژیک تجربی(*EAE*) مدل حیوانی با ارزشی در کارهای تحقیقاتی برای بررسی بیماری *MS* می‌باشد و آن را می-توان با تزریق بافت مغز یا نخاع از یک گونه جانوری به گونه دیگر ایجاد نمود(21). خانواده چتریان شامل 275 جنس و 285 گونه می باشند که کرفس کوهی با نام علمی *Kellussia odoratissima* یکی از گونه‌های آن می‌باشدو تنها در ایران رویش می کند(15). در طب سنتی برای اندام‌های هوایی این گیاه خواص ضد درد، ضد التهاب، درمان روماتیسم و تصفیه خون قائل هستند(16،17). بررسی‌ها نشان می‌دهد که عصاره تام کرفس کوهی دارای موادی هم‌چون ۳،۴و7 تری هیدروکسی فلاونول،کافئیک اسید و فتالید می‌باشد که مواد یاد شده می‌توانند خاصیت بالقوه و آنتی اکسیدانی مناسبی به کرفس کوهی بدهد(22).هم-چنینبهدلیلدارابودنترکیباتفنلیوفلاونوییدها،اینگیاهدارای

www.SID.ir

خاصیتمهارارادیکال-
هایآزادواثراتآنتیاکسیدانیاستکهباآلفاتوکوفرولقابلمقایسهم
یباشد.درمطالعات مختلف اثرات ضد التهابی،آرام‌بخش، فیبرینولیتیک، کاهنده اسید معده، تقویت کننده حافظه درکرفس کوهی ثابت شده است، درضمن این گیاه دارای خواص محافظت از کبد و ضد سرطانی نیز است(6). ویتامین B12 که به کوبالامین معروف است، یک ترکیب ارگانیک فلزی است که اتم کبالت درون یک حلقه کورین قرار گرفته و ساختار شبه پورفیرین هم(*Heme*) را ایجاد می‌کند(13).اختلالات عصبی ناشی از کمبود ویتامین B12 دارای نشانه‌هایی مثل میلین زدایی و مرگ آکسونی می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده است که خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی B12 نتیجه‌ای از یک سری اثرات مستقیم وغیر مستقیم شامل تحریک فعالیت متیونین سنتتاز و تعدیل مولکول‌های پیام رسان می‌باشد(4).*Brich* و همکارانشدر سال 2009 گزارش کردند که مشتقات ویتامین B12 پاسخ‌های استرس اکسیداتیو را تعدیل نموده و این مشتقات می‌تواند به عنوان مکمل در پاسخ‌های سلولی به التهاب مورد استفاده قرار گیرد(4). با توجه به نقش احتمالی B12 در تعدیل فرآیندهای التهابی و نقش آن در احیای میلین در این مطالعه از آن به همراه عصاره کرفس کوهی که خاصیت ضدالتهابی دارد در جهت بررسی کاهش اثرات بیماری رت‌های مبتلا به انسفالومیلت آلرژیک تجربی استفاده گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی جهت ایجاد مدلی از بیماری *MS* در حیوانات از روش *Shinder* استفاده شد(21). برای این منظور پس از بیهوش کردن خوکچه‌های هندی نخاع آن‌ها خارج و یک گرم از نخاع با یک سی سی نرمال سالین ترکیب و هموژنه گردید. ترکیب ایجاد شده به نسبت یک به یک با ادجوانت کامل فروند مخلوط و در نهایت250 میکرولیتر از ترکیب به هر رت ماده نژاد لویس(200-180 گرم) به‌صورت زیرجلدی تزریق شد. موش‌ها در مرکز حیوان‌خانه دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان در شرایط استاندارد(12 ساعت تاریکی و 12 ساعت روشنایی، دسترسی آزادانه به آب، غذا، دما، رطوبت مناسب) نگه‌داری گردید.بعد از گذشت 10 روز علائم القاء بیماری در موش‌ها دیده شد.

روش عصاره‌گیری

برگ کرفس کوهی از منطقه کوهرنگ استان چهارمحال و بختیاری تهیه و بعد از جدا کردن قسمت-های زائد، فرآیند شستشو، خشک و پودر کردن روی آن‌ها اعمال شد. پودر حاصله با نسبت یک به دو با الکل شیرین 70٪ مخلوط گردید(22) و به مدت 48 ساعت در دمای اتاق قرار گرفته، سپس با قیف بوخنر صاف و در ادامه به نسبت یک به یک به آن حلال اضافه و به مدت 24 ساعت در دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.پسازخشکشدن،عصاره‌های تراشیدهتوزین واز 500 گرمکرفسکوهیاولیهدرنهایت 35گرمپودرعصارهبهدستآمد. پساز آن غلظت‌هایمورد نظر تهیه وتازماناستفادهدرروزآزمایشدریخچالنگهداریشدند(22).

دارو درمانی

پس از القاء بیماری در 40 رت، آن‌ها به‌صورت تصادفی در 4 گروه قرار داده شدند.به همراه گروه شاهد پنج گروه ده تایی از رت‌های ماده لویس به قرار زیر ایجاد شد:

گروه اول(شاهد):که القاءبیماری درآن‌ها انجام نشد.

گروه دوم(کنترل): بیماری در آن‌ها القا وروزانه با نرمال سالین به صورت درون صفاقی تیمارشدند.

گروه سوم(ویتامین B12):بیماریدرآن‌هاالقاو به میزان 5*mg/kg* به‌صورت درون صفاقی تیمار شدند(13).

Archive of SID

www.SID.ir

گروه چهارم: گروه کرفس،بیماریدرآن‌هاالقاءو با مقدار *mg/kg* 30عصاره الکلی برگ کرفس کوهی به-صورت درون صفاتی تیمار شدند(9).

گروه پنجم: گروه ترکیبی،بیماریدرآن‌هاالقاء و با ترکیبی از عصاره الکلی برگ کرفس کوهی و ویتامین*B12* به صورت درون صفاقی تیمار شدند.به دلیل آن که بروز علائم بیماری حداقل 10 روز به طول می انجامد تیمارها نیز به مدت 10 روز تزریق گردید.

بررسی شرایط کلینیکی

از روز بعد از القاء بیماری توسط فردی که از روش و مقدار درمان بی اطلاع بود، استفاده شد تا میزان شدت علائم بیماری مطابق با جدول1 را برای هر رت اندازه-گیری نماید. بعد از آن از امتیازات بدست آمده میانگین گرفته و برای هر گروه در هر روز یک میانگین لحاظ شد. این امر تا 14روز بعد از القاء بیماری به طول انجامید.

جدول1- علائم ونشانه های کلینیکی و امتیازات متناسب با آنان(21).

امتیاز	علائم و نشانه ها
0	بدون نشانه و علامت
1	دم فاقد کشیدگی طبیعی
2	فلج دم
3	فلج جزئی در اندام حرکتی عقبی
4	فلج کامل پاها و فلج جزئی دست‌ها
5	فلج کامل پاها و فلج کامل دست‌ها
6	مرگ و میر

سنجش آنزیم های لیزوزومی

15روز بعد از القاء بیماری، حیوانات با ترکیبی از زایلیزین و کتامین بیهوش و نمونه خون با ایجاد سوراخ درقلب تهیه گردید. در ادامه جهت تعیین اسید فسفاتاز از روش *King* و نیز برای تعیین میزان گلوکورونیداز از روش *Kawai* استفاده شد(12، ۱، ۱۰).

اندازه‌گیری میزان گلیکوپروتئین‌ها

برای بررسی گلیکوپروتئین‌ها، حدود 100 میلی‌گرم از هر کدام از بافت‌های کبد و طحال در روز پانزدهم بعد از القاء بیماری برداشته و در محلول هگزان تثبیت گردید. در ادامه نمونه‌ها به لوله های اپندورف منتقل و یک میلی‌لیتر از *HCL* 2نرمال برای هیدرولیز بافتی اضافه شد. پس از انجام هیدرولیز*pH* محلول‌ها با سود مناسب خنثی و محلول رویی برای بررسی میزان گلیکوپروتئین-ها(هگزوآمین)، با روش *Wanger* محاسبه شد(22)، در ادامه میزان سیالیک اسید به روش *Aminof* مورد ارزیابی قرار گرفت(24).

بررسی آنزیم‌های شاخص بافتی

میزان آلکالین فسفاتاز، آسپارتات ترانس آمیناز(*AsT*) و آلانین ترانس آمیناز(*ALT*) با روش *King* اندازه گیری شد(12).

اندازه‌گیری میزان تومور نکروزیز فاکتور آلفا(*TNF-α*)

پس از جداسازی سرم‌ها میزان *TNF-α* با روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص تعیین *TNF-α* ساخت شرکت(*Abcam*) و مطابق با دستورالعمل کیت به شماره *ab460700* اندازه‌گیری شد(2).

تحلیل آماری

نتایج بر اساس میانگین و انحراف معیار بیان و جهت مقایسه بین گروه هاو تفاوت معنی‌دار از روش*ANOVA* 2 طرفه و*LSD*استفاده و $P<0/05$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

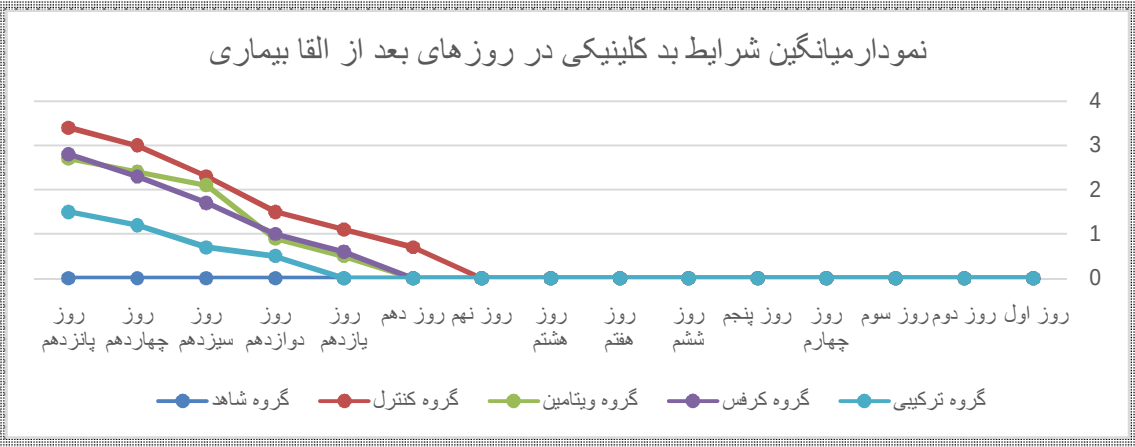
نتایج

همان‌طور که ملاحظه می‌شود این میزان میانگین شرایط بد کلینیکی در گروه دوم(القاء شده ودرمان شده

Archive of SID

www.SID.ir

با نرمال سالین) افزایش و در گروه پنجم(گروه درمان ترکیبی) نسبت به گروه اول، کاهش معنی‌داری پیدا کرده است($P<0/05$)(نمودار1). پس از پایان آزمایش سطوح آنزیم‌های لیزوزومی در خون، کبد و طحال گروه‌ها بررسی شد. میزان اسید فسفاتاز و گلوکورونیداز در گروه شاهد افزایش یافته بود و این در حالی است که در گروه‌های درمانی میزان آن‌ها کاهش یافته بود، به‌طوری که در گروه ترکیبی نسبت به گروه کنترل میزان آن‌ها کاهش معنی داری پیدا کرده بود($p\leq0/05$) (جدول 2).



نمودار 1- اثر تیمارهای عصاره الکلی برگ کرفس و B12 بر شرایط بدکلینیکی در روزهای بعد از القائیماری

میانگین شدت بیماری در گروه کنترل در روز دهم مطابق با امتیازات کسب شده توسط جدول 1 برابر با 0/5بوده، در صورتی که در گروه ترکیبی میانگین یاد شده در روز دوازدهم به‌دست آمده از طرف دیگر حداکثر میانگین شدت بیماری در گروه کنترل 2/9 بوده در حالی که این میزان در گروه ترکیبی کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد($p\leq0/05$).

جدول 2- اثر تیمارهای عصاره الکلی برگ کرفس و B12 بر میزان آنزیم‌های لیزوزومی

پارامتر	گروه شاهد	گروه کنترل	گروه ویتامین	گروه کرفس	گروه ترکیبی
اسیدفسفاتاز پلاکت‌ها	0/12±0/01	0/91±0/01	0/11±0/02	0/12±0/05	0/13±0/01*
بتاگلوکورونیداز پلاسما	1/76±0/09	6/25±0/6	5/35±0/65	5/1±0/7	3/23±0/10*
اسید فسفاتاز کبد	2±0/01	4/1±0/07	3/2±0/11	3/3±0/1	2/55±0/11*
بتاگلوکورونیداز کبد	25±0/071	38/7±1/37	37/6±0/1	36/2±1/72	30±0/87*
اسید فسفاتاز طحال	2/66±0/07	4/3±0/08	4/2±0/2	3/6±0/06	3/15±0/11*
بتاگلوکورونیداز طحال	28±0/81	44/5±0/95	40±2.1	39±2/3	32/5±0/95*

میزان آنزیم‌های لیزوزومی خون، کبد و طحال در گروه ترکیبی نسبت به گروه‌های کنترل، ویتامین و کرفس کوهی کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد($p\leq0/05$)

*نشان دهنده کاهش سطوح آنزیم‌های لیزوزومی در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد($p\leq0/05$).

جدول(3) میزان هگزوزآمین و اسید سیالیک را در کبد و طحال گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. میزان این مواد در گروه‌های تحت درمان کاهش یافته است. به‌طوری‌که این کاهش در گروه پنجم یعنی گروهی که هم کرفس کوهی و هم ویتامین B12 را دریافت کرده بودند معنی‌دار بود ($P<0/05$).

جدول 4 میزان آنزیم‌های شاخص بافتی آلکالین فسفاتاز(ALP)، آلانین آمینوترانسفراز(ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) را نشان می‌دهد. همان‌طور که

www.SID.ir

ملاحظه می‌گردد میزان آنزیم‌ها در کبد،پلاسما و طحال گروه تیمار شده با کرفس‌کوهی و ویتامین$B12$ نسبت به گروه کنترلبه‌طور معنی‌داری کاهش یافته است($P<0/05$).

جدول3- **میانگین اثر تیمارهای عصاره الکلی برگ کرفس و $B12$ بر میزانهگروزآمینواسیدسیالیککبدوطحال**

پارامتر	گروه شاهد	گروه کنترل	گروه ویتامین	گروه کرفس	گروه ترکیبی
هگزوز آمین کبد	0/18±0/06	0/44±0/02	0/43±0/03	0/40±0/02	0/23±/04*
سیالیک اسید کبد	30±2	44/1±3/5	42±1/5	39/5±2/5	35±2/1*
هگزوآمین طحال	0/20±0/04	0/30±0/02	0/29±0/03	0/28±0/04	0/25±0/03*
سیالیک اسید طحال	23±1/64	33/8±2/3	33/1±1/75	32±2	26±2/ 5*

*نشان دهنده کاهش معنی‌دار سطوح هگزوزآمین و اسید سیالیک در کبد وطحال گروه تیمار ترکیبی کرفس کوهی و ویتامین$B12$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد($p<0/05$).

جدول4- میانگین اثر تیمارهای عصاره الکلی برگ کرفس و $B12$ بر میزانآنزیمهایشاخصبافتی

پارامتر	گروه شاهد	گروه کنترل	گروه ویتامین	گروه کرفس	گروه ترکیبی
آلانین ترانس آمیناز خون	0/6±0/06	1/2±0/09	1/3±0/08	0/9±0/07	0/67±0/08*
آسپارتات ترانس آمیناز خون	0/43±0/05	1/1±0/08	1/5±0/09	1±0/05	0/51±0/04*
الکالین فسفاتاز خون	2/1±0/20	5/2±0/6	3/7±0/7	3/6±0/6	2/95±0/3*
آلانین ترانس آمیناز کبد	0/1±0/05	0/27±0/03	0/23±0/06	0/23±0/08	0/18±0/04*
آسپارتات ترانس آمیناز کبد	0/15±0/06	0/29±0/04	0/28±0/05	0/22±0/02	0/17±0/08*
آلکالین فسفاتاز کبد	1/1±0/09	3/12±0/13	3±0/1	2/5±0/09	1/7±0/2*
آلانین ترانس آمیناز طحال	0/11±0/01	0/36±0/03	0/31±0/04	0/28±0/05	0/24±0/05*
آسپارتات ترانس آمیناز طحال	0/17±0/06	0/44±0/02	0/45±0/02	0/40±0/03	0/35±0/04*
آلکالین فسفاتاز طحال	0/44±0/03	0/99±0/05	0/8±0/06	0/7±0/04	0/58±0/06*

* نشان‌دهنده کاهش مقدار آنزیم‌های شاخص بافتی گروه درمان ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل است($p<0/05$).

جدول5 میزان تومور نکروزیز فاکتور آلفا(TNF-α)در سرم رت‌ها در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. میزان TNF-α در گروه درمان شده با کرفس‌کوهی و ویتامین$B12$ نسبت به گروه کنترل(القاء شده ودرمان شده با نرمال سالین) کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد($P<0/05$).

جدول 5- میانگین اثر تیمارهای عصاره الکلی برگ کرفس و $B12$ بر میزان تومور نکروزیز فاکتور آلفا

پارامتر	گروه شاهد	گروه کنترل	گروه ویتامین	گروه کرفس	گروه ترکیبی
تومور نکروزیز فاکتور آلفا(*pg/ml*)	423±0/8	760±0/09	640±0/08	630±0/07	560±0/08*

*نشان دهنده کاهش معنی‌دار میزان تومور نکروزیز فاکتور آلفا در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد($p<0/05$).

بحث و نتیجه گیری

افزایش میانگین شرایط بد کلینیکی در مدل‌های القاء شده نتیجه ای از نفوذ گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها به سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. یکی از موارد مهمی که در تحقیقات برروی مدل‌های حیوانی بیماری MS مورد ارزیابی قرار می‌گیرد،مشابه شرایط یاد شده می‌باشد، هرچه شدت بیماری بیشتر شود میزان بروز اختلالات حرکتی هم نمود بیشتری پیدا می‌کند(21، 8). در این مطالعه هم افزایش میزان میانگین شرایط بد کلینیکی در گروه دریافت‌کننده نرمال سالین و کاهش میانگین شرایط یاد شده در گروه‌های درمانی خصوصاً گروه تیمار شده با کرفس‌کوهی و ویتامین $B12$ مشاهده گردید.بررسی‌ها

Archive of SID
www.SID.ir

نشان داده است که در طی التهاب فعالیت آنزیم‌های لیزوزومی افزایش می‌یابد(۲۵،۲۰). در این مطالعه افزایش آنزیم‌های یاد شده در گروه دریافت‌کننده نرمال سالینمشاهده گردید. این آنزیم‌ها از ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها آزاد می‌شوند و در ادامه با شروع بیان میانجی‌های التهابی از متیل پروستاگلاندین‌ها در توسعه اثرات ناشی از التهاب نقش‌آفرینی می‌کنند(16). کاهش آزادسازی آنزیم‌های یاد شده می‌تواند دلیل مناسبی برای خواص محافظتی درمانی باشد. در این مطالعه کاهش آنزیم‌های یاد شده در گروه‌های آزمایشیمخصوصاً گروه درمان ترکیبی کرفس‌کوهی و ویتامین مشاهده گردید.گلیکوپروتئین‌ها ترکیبات شکل دهنده بافت همبند هستند؛ در ضمن دارای خواص آنتی‌ژنی هم می‌باشند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که متابولیسم گلیکوپروتئین‌ها در مدل‌های حیوانی بیماری‌های خود ایمنی افزایش می‌یابد(23). این عوامل در تخریب ساختارهای ماکرومولکولی در بافت همبند دخالت دارند و میزان‌شان در فرآیندهای التهابی افزایش می‌یابد(11، 7). با توجه به نقش و جایگاه عوامل یاد شده در فرآیندهای التهابی نتایج حاصله از این پژوهش با تحقیقات قبلی مطابقت دارد. از آنجایی که آسیب بافتی با اندازه‌گیری فعالیت آمینوترانسفرازها در سرم و کبد مورد ارزیابی قرار می گیرد، نقش کبد در بیماری‌های خود ایمنی و التهابی ثابت شده است(19)، در این مطالعه سطوح آلکالین فسفاتاز و آمینوترانسفرازها مورد ارزیابی قرار گرفت و مشاهده شد که ترکیب کرفس کوهی و ویتامین B12 از بیان فعالیت آلکالین فسفاتاز و آمینوترانسفراز جلوگیری به عمل می آورد و این کاهش می تواند نتیجه ای از اثرات محافظتی و تعدیل کننده ایمنی کرفس کوهی و ویتامین B12 باشد.کرفس کوهی منطقه کوهرنگ دارای فتالدهیدهایی از قبیل *Z-Ligustilid* می‌باشد(14، 13). *Wong* و همکارانش در سال 2012 مشخص نمودندکه *Z-Ligustilid* می‌تواند از بیان آنزیم *Cox2* پروستاگلاندین E_2 در طی التهاب جلوگیری نماید. در ضمن بررسی آن‌ها نشان دادکه فعالیت ضدالتهابی *Z-Ligustilid* به خاطر ممانعت از مسیرهای *NF_K* و *MAPK* در ماکروفاژها می‌باشد(9).

*TNF-α*توسط سلول‌های خودایمنی ترشح شده و مستقیماً سد خونی مغزی را تخریب می‌کند و عاملی در جهت میلین‌زدایی محسوب می‌شود(۱۴،۳). با توجه به نقش *TNF-α* در گسترش بیماری و هدف درمانی آن در این مطالعه میزان آن بررسی شد. B12 دارای تاثیرات تنظیم کنندگی ایمنی می‌باشد و این تاثیرات شامل تعدیل فعالیت سیتوکین‌هایی مثل *TNF-α* می‌باشد(16،13).

علاوه بر تاثیرات ضد التهابی ترکیبات کرفس کوهی می‌توان به نقش و اهمیت ویتامین B12 اشاره کرد. ویتامین B12 دارای فعالیت‌های آنتی اکسیدانی شاخصی در جایگاه‌های فارماکولوژی می‌باشد و موجب حفاظت‌های سلولی مهم علیه استرس‌های اکسیداتیو می‌شود(4).ترکیب کرفس کوهی و ویتامین B12 می‌تواند باعث کاهش آنزیم‌های لیزرومی، آنزیم‌های شاخص بافتی؛*TNF-α* و شرایط بد کلینیکی در رت‌های مبتلا به انسفالومیلت آلرژیک تجربی شوند(18) و می‌توان با کاربرد آن‌ها کاهش شرایط کلینیکی بد در بیماران *MS* و حتی بهبود آن‌ها را انتظار داشت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه بخشی از طرح پژوهشی دانشگاه پیام نور استان اصفهان می باشد. بدین وسیله نویسندگان مقاله از همکاری مسئولین محترم دانشگاه پیام نور اصفهان کمال تشکر را دارند.

منابع

1.*Agha, M.A.(1995). Lipid peroxidation and lysosomal integrity in different inflammatory models in rats: The effects of indomethacin and naftazone. Agents and Actions, 32; 279–285.*

Archive of SID

www.SID.ir

2.*Aminoff, D. (1961). Methods for the quantitative estimation of N-acetylneuraminic acid and their application to hydrolysates of sialomucoids. The Biochemical Journal, 81; 384–392.*

3.*Bielekova, B., Martin, R. (2004).Development of biomarkers in multiple sclerosis. Brain, 127; 1463- 1478.*

4.*Birch, C.S., Brasch, N.E., MsCaddin, A.,Williams, JH.H. (2009). A novel role for vitamin B12; Cobalamins are intrecellura antioxidant in vitro. Biology and Medicine, 47;184-188.*

5.*Blakemore, W.F. (2007). Regeneration review repair in MS: the view of experimental pathology. J. Neurogical. Sci.,125;1-4.*

6.*Etebari, M., Sajjadi, SA., Jafarian-Dehkordi, A.,(2012).Antigenotoxic effects of methanolic and aqueous extracts of Kellussia odoratissima mozaffarian against damage induced by methyl methanesulfonate.Journal of Isfahan Medical School,30(215);2061-2070.*

7.Chung, JW.,Choi –Eun, R.J.,Soo, K.(2012).Anti- inflamatory effect of (Z) – ligustilide though suppression of mitogen-activated protin kinase and nuclear factor –k B activation phathways. Archives of Phrmacol Research, 35(4);723-732.

8.*Ferguson, C., Sarlieve, L.I, Vincendon, G.(1990). Multiple sclerosis; review of main experimental data and pathogenic hypotheses. Rev. Med. Intern., 11; 201- 208.*

9.*Hajhashemi, V., Ghanadi,A., Soltani, L.(2002). Effect of anti-inflammatory and analgesic of Kellussia. Research in Medical Sciences,7; 121-125.*

10.*Kawai, Y., Anno, K.(1971). Mucopolysaccharide-degrading enzymes from the liver of the squid, Ommastrephes sloani pacificus I. Hyaluronidase. Biochim. Biophys. Acta., 242; 428-436.*

11.*Kesava Reddy, G., Dhar, S.(1991). Metabolism of glycosaminoglycans in tissues of adjuvant arthritic rat. Molecular and Cellular Biochemistry, 106(2); 117-126.*

12.*King, E. J. (1965). Practical clinical enzymology, ed. by Van D., Nostrand Company Ltd., London.*

13.*Mastronardi, F.G., Min, W., Wang, H.,Winer, S., Dosch, M., Boggs, J.M. (2004).Attenuation of experimental autoimmune encephalomyelitis and non immune demyelination by IFN-beta plus vitamin B12:treatment to modify notch-1/sonic hedgehog balance. J. Immunol., 172; 6418-26.*

14.*Miller, J.W. (2002). Vitamin B12 deficiency,tumor necrosis factor-alpha, and epidermal growth factor: a novel function for vitaminB12?. Nutr. Rev., 60;142-4.*

15.*Mozaffarian, V. (2003).Two new genera of iranian Umbelliferae. Bot. Zhurn., 88-94.*

16.*Perry L M.(1982). Medicinal plants of East andSouth-East Asia. London.MIT Press;413.*

17.*Pitt, D., Nagel Meier, I. E., Wilson, H. C.,Raine, C. (2003). Glutamate uptake by oligodendroeytes: Implications forexcitotoxicity in MS. Neurology, 61; 1113-1120.*

18.*Rabbani, M., Sajjadi, I., Sadeghi, M.(2011). Chemical composition of the essential oil from Kellussia odoratissima Mozaff. and the evaluation ofits sedative and anxiolytic effects in mice. CLINICS, 66(5); 843-848.*

19.*Rainsford, KD.(1982).Adjuvant polyarthritis in rats: Is this a satisfactory model for screening anti-arthritic drugs?. Agents and Actions, 12; 452–458.*

20.*Rasool, M., Latha, L., Varalakshmi, P.(2000). Effect of Withania somnifera on lysosomal acid hydrolases in adjuvant-induced arthritis in rats. Pharm. Pharmacol. Commun., 6; 187-190.*

21.*Schnider, C., Shuetz, G., Zollner, T.M.(2009). Acute neuro inflammation in Lewis rats.A model for acute multiple sclerosis relapses.J.of Neuroimmunol, 213; 84 – 90.*

22.*Shahrani, M., Pilevarian, A., Kheiri, S., Asgari, A. (2008). Effect of Kelusia on bloodlipids in mice. J. ofUniversity of Medical Sciences Shahre Kord, 50-56.*

23.*Vijayalakshmi, T., Muthulakshmi, V., Sachdanandam, P.(1997).Effect of milk extract of Semecarpus anacardium nuts on glycohydrolases and lysosomal stability in adjuvant arthritis in rats. J. Ethnopharmacol , 58(1); 1-8.*

24.*Wagner, W. D.(1997). More sensitive assay discriminating galactosamine and glycosamine in mixtures. Anal. Biochem., 94; 394–397.*

25.*Weissmann, G.(1972). Lysosomal mechanisms of tissue injury in arthritis. N. Engl. J. Med., 286(3); 141–147.*

Archive of SID

www.SID.ir