اثرات محافظت عصبی عصاره الکلی بذر شاهدانه در برابر تخریب نورون‌های حرکتی نخاع در موش‌های صحرایی نر دیابتی نوع II

مریم طهرانی‌پور* PhD
گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
ناصر مهدوی شهری PhD
گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
افسانه اکرامی کوشکی BSc
گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
بی‌بی زهرا جوادموسوی BSc
گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

چکیده

اهداف: یکی از عوارض معمول طولانی‌مدت دیابت، نوروپاتی دیابتی است. با توجه به این که گیاه شاهدانه دارای اثرات ضدتوموری، ضددیابتی و ضداکسیدانی است، هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر عصاره الکلی بذر شاهدانه بر میزان تخریب نورون‌های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع در موش‌های صحرایی نر دیابتی نوع II بود.

روش‌ها: این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم در ۵ گروه "کنترل"، "کمپرسیون"، "کمپرسیون+القای دیابت"، "کمپرسیون+القای دیابت+تیمار با دوز ۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی بذر شاهدانه" و "کمپرسیون+القای دیابت+تیمار با دوز ۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی بذر شاهدانه" انجام شد. پس از تهیه عصاره الکلی بذر شاهدانه، ۱۸ سر موش صحرایی مورد القای دیابت و ۲۴ سر مورد عمل کمپرسیون قرار گرفتند. نمونه‌گیری نخاعی از همه موش‌های صحرایی انجام شد. داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری Minitab 14 و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: چگالی نورونی گروه "کمپرسیون" (۲۸±۷۸۹) نسبت به گروه "کنترل" (۷۰±۱۷۶۶) کاهش معنی‌داری داشت. اختلاف معنی‌داری بین چگالی نورونی گروه "کمپرسیون" و گروه "کمپرسیون+دیابت" (۱۴±۵۴۳) مشاهده شد. مقایسه چگالی نورونی گروه "کمپرسیون+دیابت" با گروه‌های تیمارشده با عصاره الکلی بذر شاهدانه اختلاف معنی‌داری نشان داد. به‌طوری‌که در هر دو گروه تیمار شده، چگالی نورونی نسبت به گروه "کمپرسیون" و "کمپرسیون+دیابت" افزایش داشت.

نتیجه‌گیری: برای جلوگیری از پیشرفت ضایعات سیستم عصبی ناشی از هایپرگلایسمی، استفاده از عصاره الکلی بذر شاهدانه به‌عنوان ماده محافظ عصبی مفید است.

کلیدواژه‌ها: دیابت، شاهدانه، کمپرسیون، محافظت عصبی، نورون‌های حرکتی آلفا، موش صحرایی نر

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲
تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۱۹
* نویسنده مسئول: maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir

مقدمه

دیابت قندی نوعی بیماری است که در اثر افزایش غلظت گلوکز خون ایجاد می‌شود. این بیماری پُرهزینه، علت شایع مرگ افراد زیادی در ایالات متحده و مسئول بسیاری از موارد مرگ‌ومیر در گروه‌های سنی بالای ۲۵ سال است. این بیماری شایع‌ترین علت نارسایی مزمن کلیوی، نابینایی و قطع عضو شناخته شده است [۱]. دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیک وخیم است که به‌واسطه هایپرگلایسمی ناشی از نقص ترشح انسولین (نوع I) یا مقاومت به انسولین (نوع II) مشخص می‌شود. در گذشته، عوارض عصب‌شناختی دیابت شامل عوارض محیطی و نوروپاتی سیستم عصبی مرکزی به‌عنوان آنسفالوپاتی دیابتی شناخته می‌شد [۲]. آنسفالوپاتی دیابتی یکی از عواقب معمول طولانی‌مدت دیابت است؛ به عبارت دیگر، یکی از عوارض دیررس بیماری دیابت، نوروپاتی یا گرفتاری اعصاب است. نوروپاتی به چند شکل در بیماران دیده می‌شود که شایع‌ترین فرم آن مشکلات حسی در پا است که ممکن است به صورت درد، سوزن‌سوزن‌شدن یا مورمورشدن در پاها بروز نماید یا به صورت ازبین‌رفتن حس درد، حرارت و حس درک موقعیت پا تظاهر کند [۳]. هایپرگلایسمی از طریق مکانیسم‌هایی مانند افزایش فشار و تنش اکسایشی نقش مهمی در توسعه و پیشرفت نوروپاتی دیابتی بازی می‌کند [۴]. باتوجه به فراوانی وسیع بیماری دیابت و عدم درمان قطعی آن، امروزه محققان در پی استفاده از گیاهان دارویی برای کمک به درمان آن هستند.

شاهدانه، از گیاهان زراعی قدیمی است که احتمالاً وطن اصلی آن آسیای مرکزی است و از آنجا به چین رفته و در این کشور بیش از ۴۵۰۰ سال سابقه کشت دارد. گیاهی دوپایه، علفی، یکساله به ارتفاع ۱ تا ۳ متر با تنوع فراوان که دانه آن موارد استفاده فراوانی دارد. دانه‌های شاهدانه به‌طور معمول حاوی ۳٪ اسیدچرب اشباع، ۲۸٪ اسیدچرب غیراشباع و حدود ۲۵٪ پروتئین هستند [۵]. دلتا۹-تتراهیدروکانابینول، ماده اصلی و فعال شاهدانه محسوب می‌شود و انواع سنتزی آن (آناندامید، نولادین، ۲-آراشیدونیل‌گلیسرول و N-آراشیدونیل‌اتانول‌آمین و غیره) نیز وجود دارد که از نظر شیمیایی به هم شباهتی ندارند، اما می‌توانند گیرنده‌های کانابینوئیدی را فعال کنند [۶، ۷]. بعضی از اثرات دارویی دلتا۹-تتراهیدروکانابینول، اثرات ضداسپاسم، ضدحساسیت، ضدتهوع و موثر در درمان گلوکوما و ایدز است [۸، ۹]. گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 (مستقر در سیستم عصبی مرکزی، محیطی، کبد و بافت چربی) و CB2 (مستقر در سیستم ایمنی) هستند [۱۰، ۱۱]. عصاره شاهدانه (*Cannabis sativa*) دارای اثرات ضدتوموری، ضددیابتی، ضدباکتریایی و ضداکسیدانی است [۱۲]. از آنجایی که در ضایعات سیستم عصبی محیطی، اثرات این ضایعات به‌صورت رتروگراد به جسم سلولی اعصاب که در سیستم عصبی مرکزی قرار دارند برمی‌گردد و باعث تجزیه اعصاب مرکزی در مغز و نخاع می‌شود و با توجه به اینکه

Archive of SID
www.SID.ir

مواد ضداکسیدانی می‌توانند تا حدی از پیشرفت این ضایعات جلوگیری نمایند، در شرایط دیابتی که تنش اکسایشی باعث تشدید ضایعات عصبی می‌شود، استفاده از ماده‌ای که هم کاهش‌دهنده قند خون باشد و هم خاصیت محافظت عصبی داشته باشد، اثرات درمانی خوبی به همراه خواهد داشت [۱۳].

هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر عصاره الکلی بذر شاهدانه بر میزان تخریب نورون‌های آلفای شاخ قدامی نخاع در موش‌های صحرایی نر دیابتی نوع II بود.

روش‌ها

روش مطالعه

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انجام شد.

حیوانات مورد مطالعه

۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ با وزن ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم (سرم‌سازی رازی؛ ایران) تهیه و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با درجه حرارت $22-24^{o}C$ و رطوبت مناسب ۵۰٪ در اتاق حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی مشهد نگهداری شدند. موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به ۵ گروه ("کنترل"، "کمپرسیون"، "کمپرسیون+القای دیابت"، "کمپرسیون+القای دیابت+تیمار با دوز ۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی بذر شاهدانه" و "کمپرسیون+القای دیابت+تیمار با دوز ۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی بذر شاهدانه") ۶تایی تقسیم شدند.

تهیه عصاره شاهدانه

در ابتدا بذر شاهدانه تهیه (شرکت مزرعه سبز؛ کرج، ایران) و توسط مرکز هرباریوم دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد با کد ۲۵۴۸ تایید شد. بذر شاهدانه توسط دستگاه خردکننده کاملاً آسیاب و پودر آن تا زمان عصاره‌گیری در جای خشک و خنک نگهداری شد. از پودر شاهدانه عصاره الکلی به روش سوکسله تهیه شد. عصاره‌گیری در اتاق تحقیقات گیاهی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد صورت گرفت [۱۴]. سوکسله، روش متداول عصاره‌گیری است. ۵۰ گرم پودر بذر شاهدانه داخل کاغذ مخصوص کارتوش ریخته و در دستگاه قرار داده شد (دستگاه عصاره‌گیری شامل یک کیسه حرارتی یا شوف بالن است). از ۴۵۰سی‌سی الکل متانول خالص به‌عنوان حلال استفاده شد. با گرم‌شدن کیسه حرارتی، الکل نیز گرم و عصاره گیاه به‌آرامی با الکل مخلوط شد. عصاره‌گیری با حرارت ملایم تا جمع‌شدن مایع نسبتاً غلیظ در ته بالن ادامه یافت. در نهایت، الکل حذف شد [۱۵].

القای دیابت

به ۱۸ سر موش صحرایی گروه‌های القای دیابت با تزریق STZ با دوز ۵۵میلی‌گرم بر کیلوگرم (مرکز هلال احمر مشهد؛ ایران) دیابت تجربی القا و بعد از ۴۸ ساعت خون‌گیری انجام شد. موش‌های صحرایی دارای قند خون زیر ۲۰۰میلی‌گرم بر دسی‌لیتر از آزمایش حذف شدند [۱۶، ۱۷]. موش‌های صحرایی به‌مدت ۴ هفته نگهداری شدند و هر هفته قند خون آنها اندازه‌گیری شد [۱۷]. در مرحله بعد، به غیر از گروه کنترل بقیه موش‌های صحرایی تحت عمل کمپرسیون قرار گرفتند.

جراحی کمپرسیون

موش‌های صحرایی با تزریق درون‌صفاقی ماده بیهوشی رامپون (Chanel؛ ایرلند) و کتامین (Alpha Sun؛ هلند) به نسبت ۶۰ و ۶میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بیهوش شدند [۱۵]. عصب سیاتیک پای چپ در ناحیه سر استخوان ران توسط پنس قفل‌دار (قفل دوم-۶۰ ثانیه) تحت کمپرسیون قرار گرفت. پس از کمپرسیون محل ضایعه ضدعفونی شده و توسط گیره فلزی بخیه زده شد. در هنگام بیهوشی، سعی شد بدن موش‌های صحرایی گرم نگه داشته شود. بعد از اینکه موش‌های صحرایی هوشیاری اولیه خود را به‌دست آوردند به قفس‌های جداگانه منتقل و در شرایط استاندارد حیوان‌خانه نگهداری شدند [۱۸].

در گروه‌های تیمار اولین تزریق عصاره بلافاصله بعد از انجام عمل کمپرسیون و تزریق دوم دو هفته بعد انجام شد. دوزهای استفاده شده و تعداد دفعات تزریق از طریق آزمون پایلوت انتخاب شد زیرا هیچ مطالعه‌ی مشابهی در این زمینه یافت نشد. ۲۸ روز پس از کمپرسیون از قطعات نخاعی مربوط به عصب سیاتیک L4-L6 نمونه‌برداری شد [۱۸].

نمونه‌گیری نخاعی

از آنجایی‌که بافت عصبی حساس است و سریعاً دچار فرآیندهای خودهضمی می‌شود و علاوه بر این، تثبیت‌کننده نیز به‌علت وجود پرده‌های سخت دور نخاع به‌خوبی در آن نفوذ نمی‌کند، برای تثبیت از روش پرفیوژن استفاده شد. بعد از اتمام پرفیوژن، از نخاع نمونه‌برداری شد. برای یکسان‌سازی نمونه‌برداری در همه نمونه‌ها نخاع به‌طور کامل تا انتهای مخروط انتهایی جدا و از ۱۸ میلی‌متر بالای انتهای مخروط انتهایی نمونه‌هایی به طول ۸ میلی‌متر تهیه شد. سپس، نمونه‌ها وارد مرحله پاساژ شدند. پس از طی مراحل پاساژ از آنها به‌صورت سریالی برش‌های ۷ میکرونی تهیه شد که با آبی تولوئیدن و ائوزین رنگ‌آمیزی شد [۱۸]. با استفاده از دستگاه فوتومیکروسکوپ از منطقه شاخ قدامی در نیمه چپ نخاع لام‌هایی تهیه و عکس‌های لازم با حفظ ترتیب و شماره برای مطالعات بعدی گرفته شد. از هر لام دو قطعه عکس (یکی از شاخ قدامی نیمه چپ برش اول و دیگری از شاخ قدامی نیمه چپ برش بعدی) گرفته شد. بزرگنمایی فوتومیکروسکوپ در این مرحله ۴۰۰برابر بود.

شمارش نورون‌ها

برای شمارش نورونی از روش نمونه‌برداری تصادفی و برای

Archive of SID
www.SID.ir

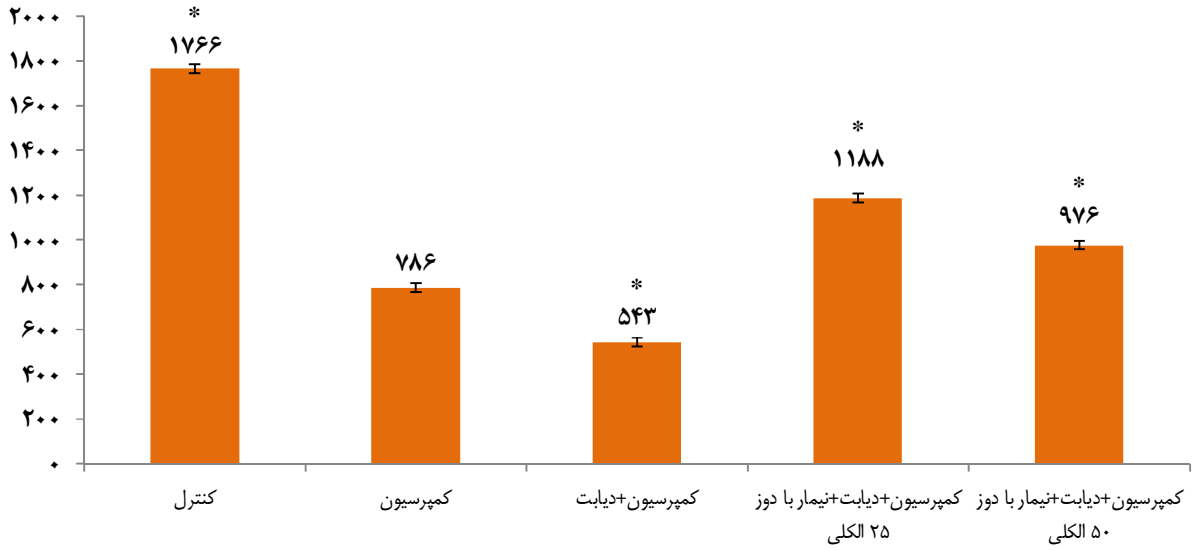
شمارش ذرات یعنی نورون‌های حرکتی آلفا از روش دایسکتور استفاده شد [۱۹]. برای آنالیز داده‌های خام به شاخص‌های مجموع نورون‌های شمارش‌شده در یک نمونه، مجموع دفعات نمونه‌برداری، حجم چارچوب نمونه‌برداری، مساحت چارچوب نمونه‌برداری و فاصله بین دو برش یا ضخامت هر برش نیاز است تا به کمک آنها چگالی تعداد محاسبه شود [۱۹]. برای به‌دست‌آوردن مساحت واقعی دایسکتور روی نمونه با مقیاس میکرون از لام میکرومتری استفاده شد.

بررسی آماری

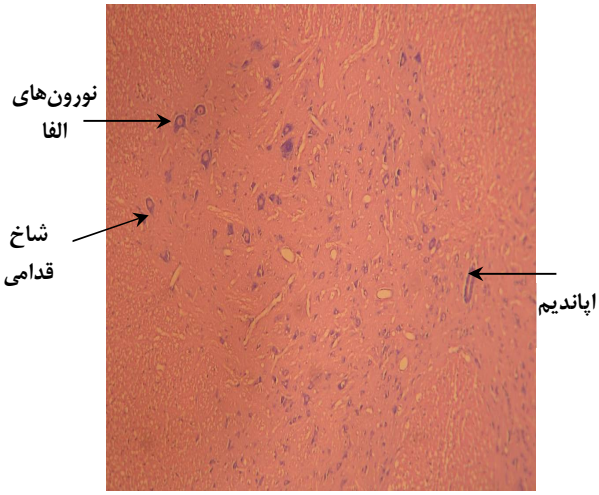
داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری Minitab 14 و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel 2003 رسم شدند.

نتایج

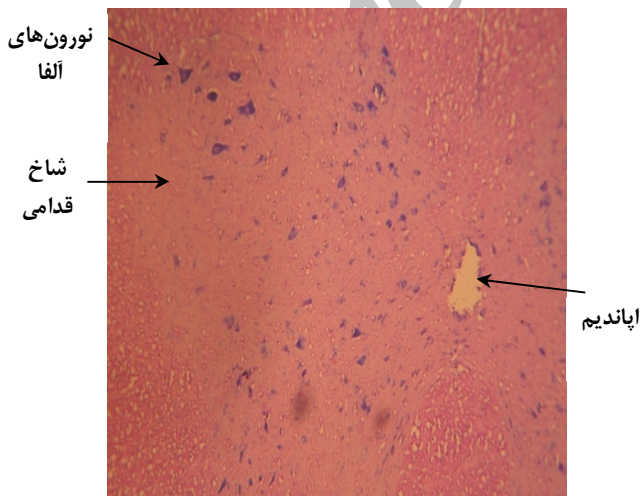
چگالی نورونی گروه "کمپرسیون" (۷۸۹±۲۸) نسبت به گروه "کنترل" (۱۷۶۶±۷۰) کاهش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). همچنین اختلاف معنی‌داری بین چگالی نورونی گروه "کمپرسیون" و گروه "کمپرسیون+دیابت" (۵۴۳±۱۴) مشاهده شد (p<۰/۰۰۱). مقایسه چگالی نورونی گروه "کمپرسیون+دیابت" با گروه‌های تیمارشده با دوز ۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی بذر شاهدانه (۱۱۸۸±۲۰) و دوز ۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم (۹۷۶±۲۴) اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۰۱)؛ به‌طوری‌که در هر دو گروه تیمار شده، چگالی نورونی نسبت به گروه "کمپرسیون" و "کمپرسیون+دیابت" افزایش داشت (نمودار ۱).



نمودار ۱) مقایسه چگالی نورونی در گروه‌های مختلف (n=۶)؛ *p<۰/۰۰۱



شکل ۱) مقطع عرضی نخاع در گروه کنترل (رنگ‌آمیزی آبی تولوئیدین و ائوزین درشت‌نمایی ۴۰۰X)



شکل ۲) مقطع عرضی نخاع در گروه کمپرسیون (رنگ‌آمیزی آبی تولوئیدین و ائوزین درشت‌نمایی ۴۰۰X)

www.SID.ir

در شکل ۱ (گروه کنترل) و شکل ۲ (گروه کمپرسیون) محل شمارش نورون‌های آلفای نیمه چپ شاخ قدامی نخاع نمایش داده شده است. در شکل نورون‌های آلفا در وضعیتی عادی با هسته‌هایی در مرکز کاملاً قابل مشاهده‌اند، درحالی‌که در شکل ۲ قابل مشاهده نیستند. در سلول‌های آسیب‌دیده عصبی، محل هسته و هستک و شکل سلول تغییر می‌کند. در نورون‌های سالم سلول تقریباً کروی و هسته در وسط سلول است که در نمونه‌های نرمال دیده می‌شود، ولی در نمونه‌های تحت کمپرسیون تغییرات ایجادشده، دژنراسیون سلول را نشان می‌دهد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ضایعه ایجادشده در اثر کمپرسیون عصب سیاتیک، باعث برگشت اثرات ناشی از ضایعه به جسم سلولی نورون‌های شاخ قدامی نخاع شده و سبب تخریب آنها می‌شود؛ به‌طوری‌که آنالیز داده‌ها کاهش معنی‌داری بین چگالی نورونی گروه کنترل و گروه کمپرسیون نشان داد. همچنین شدت این ضایعه پس از القای دیابت افزایش یافت؛ چنان‌که در گروه "کمپرسیون+دیابت"، چگالی نورونی به میزان بیشتری نسبت به گروه "کمپرسیون" که دیابتی نبودند، کاهش یافت. در گروه‌های تیمارشده با عصاره الکلی بذر شاهدانه، چگالی نورونی پس از کمپرسیون افزایش یافته بود؛ به‌طوری‌که در هر دو گروه تیمار با عصاره، این افزایش نسبت به گروه "کمپرسیون+دیابت" معنی‌دار بود. اگر چه در گروه تیمار با دوز ۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش چگالی شدیدتر بود.

قطع عصب که روشی برای القای مرگ در نورون‌هاست، باعث ایجاد تغییرات ساختمانی و ریخت‌شناختی می‌شود که مشابه با تغییرات در نورون‌هایی است که به سوی آپوپتوزیس می‌روند [۲۰]. *بهنام* و همکاران نشان می‌دهند که کمپرسیون عصب سیاتیک در موش صحرایی سبب القای آپوپتوزیس در نورون‌های حرکتی آلفا می‌شود [۱۸]. در پژوهش حاضر نیز این مطلب تایید شد؛ به این صورت که ۲ هفته بعد از وقوع آسیب در نورون‌های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع موش صحرایی، تغییرات تجزیه‌ای و مرگ سلولی مشاهده شد که احتمال می‌رود این تغییرات ناشی از اختلال در حمل آکسونی رو به عقب (رتروگراد) باشد [۱۳].

عمده نورون‌ها پس از تولد فاقد قدرت تکثیر هستند، اما می‌توانند در مقابل درجات معینی از ضایعات مقاومت کرده، بهبود یابند [۲۱، ۲۲]. در مطالعه حاضر نیز مطابق با یافته‌های دیگر محققان، در گروه‌های تیمارشده با عصاره الکلی بذر گیاه شاهدانه، اثرات ترمیمی در نورون‌های حرکتی آلفا مشاهده شد. علاوه بر این، هایپرگلایسمی ناشی از عدم کنترل دیابت، منشا نوروپاتی شناخته می‌شود. هایپرگلایسمی در حیوانات و مدل‌های دیابتی مجموعه‌ای از مسیرهای متابولیسم گلوکزی را فعال می‌کند که دلالت بر پیشرفت نوروپاتی دارد. این مسیرها شامل انباشت سوربیتول و فروکتوز، فعال‌شدن پروتئین کیناز C، افزایش مسیر هگزوزآمین، تولید اضافی سوپراکسید و کاهش سطح آنزیم‌های کلیدی ضداکسیدانی است که نتیجه همه اینها، افزایش تنش اکسایشی سلول است. مدارک بالینی نشان می‌دهد که هایپرگلایسمی، تنش اکسایشی بیماران مستعد دیابت را تحریک می‌کند و مهار آن ممکن است شروع و پیشرفت نوروپاتی را مهار کند [۱۲]. تنش اکسایشی در بافت عصبی وقتی ایجاد می‌شود که تولید رادیکال آزاد، متجاوز از نصف ظرفیت ضداکسیدان آن باشد. ظرفیت ضداکسیدانی ناقص نسبت به حمله رادیکال آزاد، منجر به ایجاد صدمات در پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدنوکلئیک‌ها می‌شود. این آسیب‌های سلولی مسیرهای آپوپتوزیس را در سلول‌های گلیال و اعصاب راه‌اندازی می‌کند که منجر به نوروپاتی وابسته به دیابت می‌شود [۲۳].

تا این زمان، درمان ضداکسیدانی بیشترین سهم را در نزدیک‌شدن به پیشگیری از نوروپاتی دیابتی داشته است؛ اگر چه اثر آن هنوز در آزمایشگاه‌های بالینی ثابت نشده است [۲۴]. اخیراً فعالیت محافظت عصبی کانابیدیول و دیگر کانابینوئیدها در نورون‌های کورتیکال کشت‌شده، نشان داده شده است؛ ظاهراً کانابینوئیدها از طریق اثر قوی ضداکسیدانی خود این فعالیت را اعمال می‌کنند [۱۲]. به‌کارگیری HU210 (مشتق سنتتیک کانابینوئیدی)، مشکلات عصبی حیوانات دیابتی را بهبود می‌دهد. در حقیقت این ماده با توجه به خاصیت ضداکسیدانی قوی خود این اثر را اعمال می‌کند [۱۲].

نتایج مطالعه حاضر نیز با پژوهش این دانشمندان سازگاری دارد و احتمالاً ترکیبات موجود در عصاره الکلی بذر شاهدانه از پیشرفت تخریب ناشی از دیابت (از طریق اثرات ضداکسیدانی و مهار تنش اکسایشی) جلوگیری می‌کند؛ به‌طوری‌که چگالی نورون‌ها در گروه‌های تیمارشده با عصاره، به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی افزایش یافته است و این بیانگر آثار مثبت تزریق عصاره الکلی بذر شاهدانه در جلوگیری از تخریب مرکزی نورون‌های آلفا (ناشی از اثر کمپرسیون و دیابت) است. افزایش چگالی نورونی در دوز پایین‌تر نسبت به دوز بالاتر را شاید این‌گونه بتوان توجیه کرد که میزان ترکیبات موجود در عصاره با دوز پایین نزدیک به کانابینوئیدهای اندوژن بدن است. لذا، اثرات محافظت عصبی بیشتری نسبت به دوز بالا دارند.

از آنجایی که این گیاه حاوی ماده موثر کانابینوئیدی است، همسو با یافته‌های دیگر دانشمندان، مشاهده فوق قابل توجیه است. با توجه به تحقیقات *خاسپکو* و همکاران، فاکتور نوتروفیک مشتق‌شده مغزی (BDNF)، میانجی ترمیم و وابسته به گیرنده‌های کانابینوئیدی است و علیه سمیّت القاشده توسط کاینیک‌اسید اثر محافظتی دارد. درصورتی‌که آنتاگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی SR141716A در کشت‌های نورونی موش باعث افزایش القای کاینات و مرگ نورونی وسیعی می‌شود، ولی اگر فاکتور BDNF به‌صورت برون‌زاد با آن همراه شود، این کشت‌های معمول از مرگ

www.SID.ir

سلولی نجات خواهند یافت. بنابراین، BDNF اهمیت سیستم کانابینوئیدی درون‌زاد را در حفاظت نورونی نشان می‌دهد [۲۵].

آثار حفاظتی کانابینوئیدها از طریق خصوصیات ضداکسیدانی از طریق حضور گروه فنلی صورت می‌گیرد. بعد از صدمات مغزی یا مرگ مغزی، سطوحی از آناندامید مانند 2-EA، AEA در مغز موش‌های صحرایی آزاد می‌شود که نقش اولیه در محدودکردن صدمات مغزی دارد. هنوز مکانیسم‌هایی که نشان دهد چگونه کانابینوئیدها صدمات ناشی از سمیّت و آسیب‌های شدید را کاهش می‌دهند، کاملاً مشخص نشده است. بعضی کانابینوئیدها با آثار ضداکسیدانی قوی، اثرات محافظت عصبی خود را اعمال می‌کنند [۲۶]. از دیگر عوامل آسیب نورونی رادیکال‌های آزاد (گونه‌های غیرفعال اکسیژن) هستند که به‌طور طبیعی از طریق متابولیسم بدن یا از ترکیبات اکسیژن‌دار تولید می‌شوند. تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد سبب آسیب به عملکرد سلول‌ها می‌شود [۹]. تیمار سلول‌ها با کانابینوئیدول از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد، باعث افزایش علایمی در سلول‌های باقی‌مانده می‌شود و فاکتورهایی از قبیل تولید رادیکال‌های آزاد، پروکسیداسیون لیپید، کاسپاز ۳، قطعه‌قطعه‌شدن DNA و افزایش کلسیم داخل سلولی را کاهش می‌دهد [۲۶، ۲۷]. علاوه بر این، کانابینوئیدها دارای اثرات ضدآپوپتوزی هستند که این اثرات را از طریق جمع‌کردن رادیکال‌های آزاد پروکسی و هیدروپروکسی و کاهش عمل فاکتور نکروزی تومور و جمع‌آوری سیتوکین التهاب‌آور α انجام می‌دهند [۲۸، ۲۹].

نتیجه‌گیری

هایپرگلیسمی ایجادشده به‌علت دیابت اثرات تخریبی حاصل از کمپرسیون عصب سیاتیک بر سیستم عصبی مرکزی را شدت می‌بخشد که به‌عنوان نوروپاتی دیابتی یکی از مشکلات عمده افراد دیابتی است. از آنجا که نورون‌ها سلول‌های تجدیدنشدنی هستند، تخریب سیستم عصبی مرکزی ضایعات جبران‌ناپذیری به دنبال دارد. برای جلوگیری از پیشرفت ضایعات سیستم عصبی ناشی از هایپرگلایسمی، استفاده از عصاره الکلی بذر شاهدانه به‌عنوان ماده محافظ عصبی مفید است و می‌تواند از ضایعات بعدی جلوگیری کند. در گروه‌های تیمارشده با عصاره بذر شاهدانه اثرات رتروگراد کمپرسیون به جسم سلولی نورون‌ها بسیار کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی: این مقاله منتج از پایان‌نامه دانشجویی در مقطع کارشناسی‌ارشد است که در گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد صورت گرفت. از تمام همکاران گروه زیست‌شناسی، مدیریت محترم گروه سرکار خانم دکتر *محمودزاده* و ریاست محترم دانشکده علوم جناب آقای دکتر *هروی* برای همکاری‌های بی‌دریغ تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1- Arvanitakis Z, Wilson RS, Bienias JL, Evans DA, Bennett DA. Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. Arch Neurol. 2005;62(2):330-7.
2- Ristow M. Neurodegenerative disorders associated with diabetes mellitus. Mol Med. 2004;82(8):510-29.
3- Boulton A. Management of diabetic peripheral neuropathy. Clin Diabetes. 2005;23(1):9-15.
4- Berger L, Hakim AM. The association of hyperglycemia with cerebral edema in Stroke. Stroke. 1986;17(5):865-71.
5- Fishman Rachelle HB. Cannabinoid derivative protects neurons. Cannabis Sci. 1996;348(23):90-3.
6- Portera-Calliau C, Price DL, Martin LJ. Non-NMDA and NMDA receptor-mediated excitotoxic neuronal deaths in adult brain are morphologically distinct: Further evidence for an apoptosis-necrosis continuum. J Comp Neurol. 1997;378(1):88-104.
7- Shen M, Thayer SA. Cannabinoid receptor agonists protect cultured rat hippocampal neurons from axcitotoxicity. Mol Pharmacol. 1998;54(3):459-62.
8- Giuseppe E, Alessia L, Angelo AL, Tiziana B, Menotti R, Massimo DR, et al. The endocannabinoid system protects rat glioma cell against HIV-1 Tat protein-induced cytotoxicity. J Biol Chem. 2002;277(52):50345-8.
9- Hampson AJ, Grimahdi M, Axelrod J, Wink D, Rosenthal R. Neuroprotective antioxidants from marijuana. Ann N Y Acad Sci. 2000;899:274-82.
10- Abood ME, Rizvi G, Sallapudi N, McAllister SD. Activation of the CB1 cannabinoid receptor protects cultured mouse spinal neurons against excitotoxicity. Neurosci Lett. 2001;309(3):197-201.
11- Fernandez-Ruiz J, Pazos MR, Garcia-Arencibia M, Sagredo O, Ramos JA. Role of CB2 receptors in neuroprotective effects of cannabinoids. Mol Cell Endocrinol. 2008;2086(1-2):91-6.
12- Dagon Y, Avraham Y, Link G, Zolotarey O, Mechoulam R, Berry Elliot M. The synthetic cannabinoid HU-210 attenuates neural damage in diabetic mice and hyperglycemic pheochromocycytoma PC12 cells. Neurobiol Dis. 2007;27(2):174-81.
13- Koliatos V, Price W, Pardo C, Price D. Ventral root avulsion: an experimental model of death of adult motor neurons. J Camp Neural. 1994;342(1):35-44.
14- Cicchetti E, Chaintreau A. Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural vanilla flavors. J Sep Sci. 2009;32(11):1957-64.
15- Mosavi Z, Tehranipour M. Anti inflammation effect of cannabis sativa leaves alcoholic extract on neuroglia density after sciatic nerve injury in rats. Pharmacology. 2011;1:842-50.
16- Calvo R, Morreale de Escobar G, Escobar del Rey F, Obregon MJ. Maternal nonthyroidal illness and fetal thyroid hormone status, as studied in the streptozotocin-induced diabetes mellitus rat model. Endocrinology. 1997;138(3):1159-69.
17- Tehranipour M, Khayyatzade J, Ghorbani Z. Maternal diabetes induced hydrocephaly in newborn rats. J Biol Sci. 2009;9:625-8.
18- Behnam-Rasouli M, Nikravesh M, Mahdavi-Shahri N, Ttehranipour M. Post-operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alpha motoneurons, using a stereological counting method. Iran Biomed J. 2000;4:45-9.
19- Gundersen HJG, Bendtsen TF. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. APMIS. 1988;96(5):379-94.

Archive of SID
www.SID.ir

20- Mitchell SW. Injuries of nerves. Stroke. 1872;30:1472-7.
21- Martin LG, Chen K, Liu Z. Adult motor neuron apoptosis is mediated by nitric oxide and Fas death receptor linked by DNA damage and p53 activation. J Neuroscience. 2005;25(27):6449-59.
22- Hasenjager A, Gillissen B, Muller A, Normand G, Hemmati PG, Schuler M, et al. Smac induces cytochrome c release and apoptosis independently from Bax/Bcl-x(L) in a strictly caspase-3-dependent manner in human carcinoma cells. Oncogene. 2004;23(26):4523-35.
23- Pagano C, Pilon C, Calcagno A, Urbanet R, Rossato M, Milan G, et al. Regulation, function and dysregulation endocannabinoids in models of adipose and β-panceratic cells and in obesity and hyperglycemia. J Clin Endocrinol Metabol. 2007;92(6):4810-9.
24- Zhang F, Hong Sh, Stone V, Smith P. Expression of cannabinoid CB1 receptors in models of diabetic neuropathy. J Pharmacol Exp Ther. 2007;323(2):508-15.
25- Khaspekov LG, Brenz Verca MS, Frumkina LE, Hermann H, Marsicano G, Lutz B. Involvement of brain-derived neurotrophic factor in cannabinoid receptor-dependent protection against excitotoxicity. Eur J Neurosci. 2004;19(7):169-8.
26- Panikashvili D, Simeonidou C, Ben-Shabat S, Hanus L, Breuer A, Mechoulam R, et al. An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. Nature. 2001;413(6855):527-31.
27- Teresa I, Giuseppe E, Massimo DR. Neuroprotective effect of cannabidiol: A non-psychoactive component from Cannabis sativa, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells. J Neurochem. 2004;89(1):134-41.
28- Foster AC, Gill R, Woodruff GN. Neuroprotective effects of MK-801 in vivo: Selectivity and evidence for delayed degeneration mediated by NMDA receptor activation. G Neurosci. 1998;8(12):4745-54.
29- Weiss I, Zeira M, Reich Sh, Slavin S, Raz I, Mechoulam R, Gallily R. Cannabidiol arrests onset of autoimmune diabetese in NOD Mice. Neuropharmacology. 2008;54(1):244-9.

Archive of SID

www.SID.ir