

اثر حفاظت نوروئی عصاره هیدروالکلی برگ "به" بر استرس اکسیداتیو القا شده با تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین در بافت قشر مغز موش صحرایی

اکبر حاجی زاده مقدم^{۱*}، مریم مهاجرانی^۲، عصمت محمدی^۲

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران، ^۲ گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: استرس اکسیداتیو، نتیجه عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد. افزایش استرس اکسیداتیو در مغز موجب اختلال در فعالیت‌های مغزی، مرگ نوروها و بیماری‌هایی چون آلزایمر می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین‌ها، ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها به طور گسترده به عنوان عوامل درمانی بالقوه در شرایط آزمایشگاهی و در داخل بدن برای پیشگیری از بیماری‌های عصبی مورد بررسی قرار می‌گیرند. هدف از این مطالعه، بررسی اثر حفاظت نوروئی عصاره هیدروالکلی برگ درخت "به" بر استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین (STZ) در بافت قشر مغز بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۲ سر موش‌های صحرایی نر به طور تصادفی در ۶ گروه ۷ تایی شامل؛ کنترل، شم، بیمار و ۳ گروه تجربی تقسیم شدند. گروه‌های تجربی عصاره هیدروالکلی برگ به با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت شش هفته در یافت نمودند. در پایان هفته سوم به گروه‌های بیمار و تجربی از طریق جراحی با دستگاه استریوتاکسی STZ به غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون بطنی تزریق شد. در پایان هفته ششم فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به روش جنت در قشر مغز اندازه‌گیری شدند. مقدار پروتئین به روش بردفرد اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی تجزیه تحلیل شدند.

یافته‌ها: در گروه بیمار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($p < 0.001$) در حالی که پیش‌تیمار با دوزهای مختلف عصاره برگ به، به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم را نسبت به گروه بیمار افزایش داد ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که پیش‌درمان با عصاره برگ "به" به واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می‌تواند سبب کاهش استرس اکسیداتیو القا شده با استرپتوزوتوسین در قشر مغز گردد. به نظر می‌رسد تا حدودی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اثرات خود را اعمال می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، استرپتوزوتوسین، عصاره برگ "به"، استرس اکسیداتیو

* نویسنده مسئول: اکبر حاجی زاده مقدم، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه بابلسر، گروه زیست شناسی

Email: a.hajizadeh@umz.ac.ir

مقدمه

اختلالات حافظه مرتبط با سن با کاهش مکانیسم های دفاع آنتی اکسیدانی مغز و پلاسما مرتبط است. بافت مغز به خاطر سطح اکسیژن بالا، سطح پایین حفاظت از آنتی اکسیدانها و سطح بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع، مستعد ابتلا به آسیب اکسیداتیو می باشد (۲ و ۱). استرس اکسیداتیو به وسیله عدم تعادل در تولید رادیکال گونه های فعال اکسیژن و دفاع آنتی اکسیدانی شناخته شده است (۳) که هر دو نقش مهمی در فرایند انحطاط عصبی وابسته به سن و زوال شناختی دارند، شواهد گسترده ای پیشنهاد می کند که آسیب اکسایشی به واسطه گونه های فعال اکسیژن در لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک در بیماری آلزایمر رخ می دهد، که ممکن است نتیجه ای از افزایش گزنوبیوتیک های تشکیل شده از گونه های فعال اکسیژن باشد (۴ و ۵). مدارک و شواهد نشان می دهند که استرس اکسیداتیو در بیماری آلزایمر از طریق سطح بالایی از پروتئین های اکسید شده، محصولات پایانی گلیکوزیلاسیون پیشرفته، محصولات نهایی پراکسیداسیون چربی، شکل گیری گونه های سمی مانند پراکسیدها، الکلها، آلدئیدها، کربونیل های آزاد، کتون، کلسنتون و تغییرات اکسیداتیو در DNA هسته ای و میتوکندری آشکار می شود (۷-۵).

ماده شیمیایی استرپتوزوتوسین (STZ)، یا گلوکز آمین- نیتروزاوره دارای اثرات سمی اختصاصی بر سلول های بتای پانکراس می باشد و جهت القای دیابت تیپ یک در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می شود (۸) و به صورت داخل بطنی در موش

رسپتورهای انسولینی نوروها را غیر حساس می کند، فعالیت آنزیم های گلیکولیتیک را کاهش می دهد که باعث اختلال در مسیرهای انتقال سیگنال انسولین در مغز (۹)، به همراه آسیب اکسیداتیو و اختلال کولینرژیک در مدل های مرتبط با زوال عقل می شود بنابراین تزریق استرپتوزوتوسین درون بطنی مغزی icv-STZ^(۱) مدل مناسبی برای مطالعه این بیماری می باشد (۱۱ و ۱۰).

در دو دهه اخیر تحقیق های گسترده ای به منظور دستیابی به روش های درمانی مناسب و بررسی علل و عوامل ایجاد کننده بیماری آلزایمر صورت گرفته است. در این راستا، روش های دارویی که چرخه نادرست استرس اکسیداتیو و انحطاط عصبی را به هم می زنند فرصت های جدید برای درمان ارائه دادند. یکی از راه های مقابله با استرس اکسیداتیو استفاده از آنتی اکسیدانها می باشد. آنتی اکسیدانها با عمل جاروب کنندگی رادیکال های آزاد باعث محافظت سلولی و بافتی از آسیب های اکسیداتیو می گردند (۱۳ و ۱۲). آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی مانند فلاونوئیدهای گیاهی در مطالعه های آزمایشگاهی و حیوانی اثرات قابل توجهی را در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین ها و مهار تولید گونه های فعال اکسیژن همچنین کاهش سمیت عصبی، آپوپتوز و مرگ سلولی از خود نشان می دهند (۱۲). ترکیب های فنولی موجود در گیاهان اثرات آنتی اکسیدانی خود را در بدن موجودات زنده،

1-Intracerebroventricular Streptozotocin

احتمالاً با تحریک سیستم دفاعی اندوژن آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌کنند. مانند پلی‌فنول‌ها که می‌توانند با القای آنزیم‌هایی چون گلوکاتیون اس ترانسفراز موجب افزایش دفع گونه‌های اکسیدان و هم‌چنین تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شوند (۱۴ و ۱۳).

بنابراین استفاده از گیاهان دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی یکی از راه‌های محافظت بدن علیه آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد است در این راستا درخت به^(۱) با نام علمی *Cydonia oblonga*^(۲) از میوه‌های دانه‌دار متعلق به تیره رزاسه (Rosaceae) مورد بررسی قرار گرفت (۱۶، ۱۵ و ۱۲). درخت "به"، در شرایط آب و هوایی گرم و به صورت خودرو در ایران و افغانستان رشد می‌کند. برگ درخت "به" دارای ترکیب‌های فنلی شامل؛ ۲-۴-۵-کافئویل کوبینیک اسید، ۲-۵-دی کافئویل کوبینیک اسید، کوئرسیتین-۲-۳-گالاکتوزید، کوئرسیتین-۲-۳-روتینوزید، کامپفرول-۲-۳-گلوکوزید و کامپفرول-۲-۳-روتینوزید و ترکیب اسید آلی آن شامل کوئینیک اسید (۷۲/۲ درصد) و سیتریک اسید (۱۳/۶ درصد) است (۱۷ و ۱۶). با توجه به آثار آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ "به"، به صورت خوراکی می‌توان سلول‌های عصبی را برای مقابله با استرس اکسایشی القا شده با تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین در نیمکره راست مغز موش‌های صحرایی نر آماده کرد و از این دو هدف این مطالعه بررسی اثر حفاظتی برگ به بر بهبود نقص‌های نورولوژی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در موش‌های بیمار بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از پژوهشکده انستیتوپاستور آمل خریداری و به اتاق حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشگاه مازندران انتقال داده شدند. حیوانات در شرایط آزمایشگاهی با درجه حرارت کنترل شده و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در حالی که به آب و غذا به جز در هنگام آزمایش‌ها به صورت نامحدود دسترسی داشتند، نگهداری می‌شدند. آزمایش‌ها یک هفته بعد از انتقال موش‌ها به مکان حیوان‌خانه به منظور سازگاری با محیط انجام شدند. همه آزمایش‌ها با پیروی از قوانین و مقررات مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت که مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه مازندران بودند.

عصاره‌گیری به شیوه خیساندن انجام شد، برگ درخت به پس از خشک شدن دور از نور مستقیم خورشید به وسیله آسیاب مکانیکی به پودر تبدیل شد. مقدار ۲۰ گرم از پودر خشک گیاه با ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد در ارلن ریخته شده و به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۶۰ قرار داده شد. پس از این مدت محلول به وسیله کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) صاف گردید. محلول صاف شده جهت حذف حلال

1-Quince
2-Cydonia Oblonga Miller

بطن طرف راست به آهستگی به مدت پنج دقیقه تزریق شد (۲۱).

آنزیم کاتاز قادر به تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و آکسیژن می‌باشد. طبق روش جنت و همکاران (۲۰۰۲) با اضافه کردن ۰/۷۶ میلی‌لیتر محلول مخصوص سنجش فعالیت کاتالاز (۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات در ۰/۰۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن) به ۰/۰۶ میلی‌لیتر سوپرناتانت بافت مغز، تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در طی ۲ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر حسب میلی‌گرم بر پروتئین مشخص شد.

بررسی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بر اساس روش جنت و همکاران (۲۰۰۲) تعیین شد. ۰/۷۶ میلی‌لیتر محلول مخصوص سنجش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز که شامل بافر سدیم فسفات (۵۰ میلی‌لیتر، ۵۰ میلی‌مولار) و اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (۱/۱ میلی‌مولار) و پیروگالول (۰/۴۸ میلی‌مولار) می‌باشد به ۰/۰۶ میلی‌لیتر سوپرناتانت بافت مغز اضافه شد و تغییرات جذب به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر تعیین شد و بر حسب میلی‌گرم بر پروتئین گزارش گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از دریافت عصاره برگ "به" بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز به شرح زیر بود.

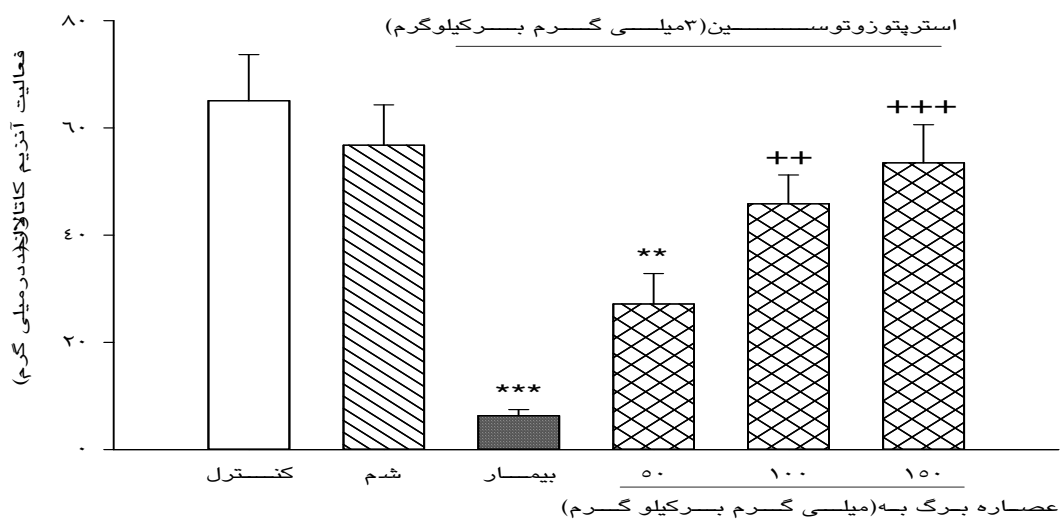
در دستگاه روتاری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس عصاره غلیظ شده در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا به عصاره خشک تبدیل گردد. وزن عصاره خشک به دست آمده در این آزمایش ۶ گرم بود. عصاره خشک با آب مقطر به صورت غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه شد. استرپتوزوتوسین با محلول سالین به غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه گردید (۱۹).

حیوانات به طور تصادفی به شش گروه هفت تایی شامل گروه‌های کنترل، شم، بیمار شده با استرپتوزوتوسین و سه گروه تیمار شده با عصاره هیدرو الکلی برگ درخت "به" تقسیم شدند. گروه‌های شم و بیمار، حلال عصاره را و سه گروه تیمار به روش گاواژ به مدت شش هفته روزانه عصاره برگ "به" را به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند (۲۰). سه هفته بعد از تیمار با عصاره، تمامی گروه‌ها به غیر از گروه کنترل، با استفاده از کتامین ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند و با کمک دستگاه استرئوتاکس و اطلس پاکسینوس و واتستون جراحی شدند. کانول گذاری در بطن نیمکره راست مغز با مختصات (۸/۰ میلی‌متر از برگما، ۱/۴ میلی‌متر از شیار میانی به طرف بطن جانبی راست و ۳/۶ میلی‌متر از سطح جمجمه به عمق) انجام شد.

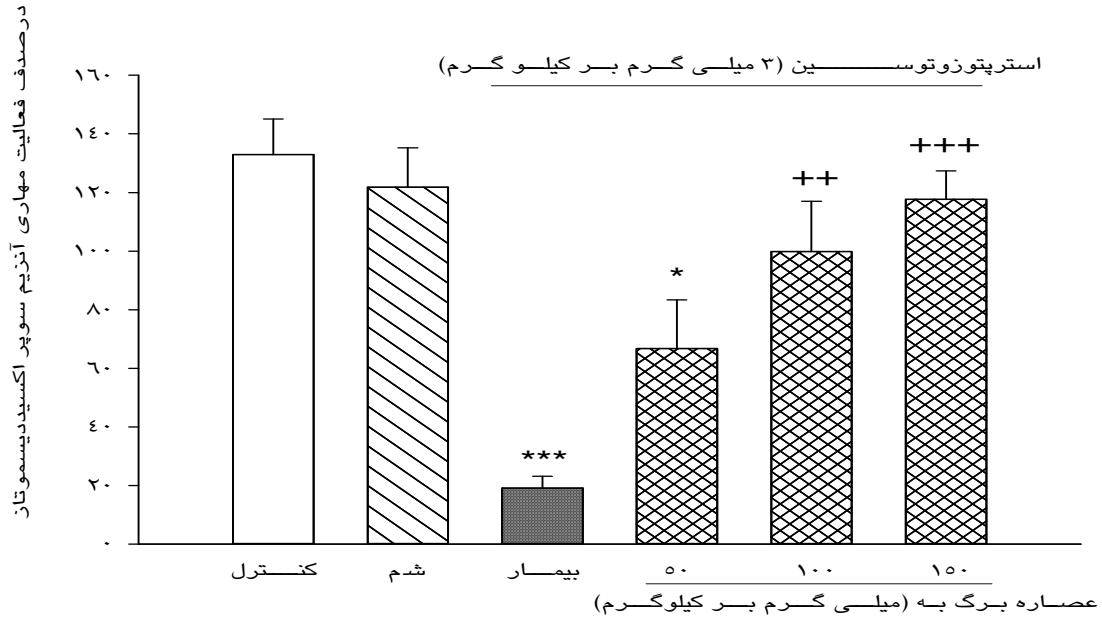
تزریق درون بطن به کمک سرنگ همیلتون ۱۰ میکرولیتری از طریق کانول تزریقی شماره ۲۷ انجام می‌شد. محلول استرپتوزوتوسین با غلظت سه میلی‌گرم بر کیلوگرم در سالین در

نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گروه شم نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری را نشان نداد و در موش‌هایی که علاوه بر تزریق استرپتوزوتوسین تحت تیمار عصاره برگ "به" قرار گرفته‌اند در مقایسه با گروهی که استرپتوزوتوسین به تنهایی دریافت کردند، افزایش یافته است. از طرف دیگر سطح فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است ($p < 0.001$). فعالیت آنزیم در گروه‌های دریافت کننده عصاره برگ "به" در دوزهای ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ($p < 0.01$) و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ($p < 0.001$) نسبت به گروه بیمار افزایش را نشان داد، ولی دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی داری با گروه بیمار نداشت، ولی این اختلاف در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.05$) (شکل ۲).

اثر عصاره هیدروالکی برگ "به" در غلظت‌های مختلف بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه شم نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری را نشان نداد و در موش‌هایی که علاوه بر تزریق استرپتوزوتوسین تحت تیمار عصاره برگ "به" قرار گرفته‌اند در مقایسه با گروه بیمار افزایش یافته است. از طرف دیگر سطح فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است ($p < 0.001$). فعالیت آنزیم در گروه‌های دریافت کننده عصاره برگ "به" در دوزهای ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ($p < 0.01$) و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ($p < 0.001$) نسبت به گروه بیمار افزایش را نشان داد ولی دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی داری با گروه بیمار نداشت، ولی این اختلاف در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.01$) (شکل ۱).
اثر عصاره هیدروالکی برگ "به" را در غلظت های مختلف بر فعالیت سوپراکسیددیسموتاز



شکل ۱: بررسی اثر عصاره برگ "به" در غلظت های مختلف بر فعالیت آنزیم کاتالاز در نیمکره مغز، نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار از میانگین بیان شده است. اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($p < 0.001$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.05$) اختلاف معنی دار با گروه دریافت کننده STZ ($p < 0.001$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.05$)



شکل ۲: بررسی اثر عصاره برگ به در غلظت های مختلف بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموگناز در نیمکره مغز، نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار از میانگین بیان شده است. اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($p < 0.001$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.05$) اختلاف معنی دار با گروه دریافت کننده STZ ($p < 0.001$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.05$)

بحث

تزریق استرپتوزوتوسین در مغز رت‌ها باعث کاهش سطح گلوکوتاتیون و افزایش سطح مالون دی آلدئید می‌گردد به طوری که می‌تواند به عنوان مدل حیوانی مناسبی برای بررسی آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماری تحلیل نرونی از جمله آلزایمر نیز در نظر گرفته شود (۲۷). ساکوویچ و همکاران نشان دادند که تیمار با استرپتوزوتوسین موجب تولید گونه اکسیژن فعال می‌شود و منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و رها شدن نیترات اکساید (NO) در مغز موش می‌گردد (۲۸). کومار و همکاران سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مالون دی آلدئید را در رت‌های دریافت کننده

بررسی نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق STZ به ناحیه بطن مغز موجب القاء استرس اکسیداتیو شده و دریافت غلظت‌های مختلف عصاره برگ به، به واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، استرس اکسیداتیو ناشی از سم استرپتوزوتوسین را به صورت معنی داری کاهش داد. این نتایج در راستای مطالعه‌های پیشین است. مطالعه‌های قبلی نشان داد که تزریق icv-STZ منجر به القاء استرس اکسیداتیو و اختلال در متابولیسم گلوکز و رفتار می‌شود (۲۴-۲۶). در مطالعه‌های دیگر شارما و همکاران گزارش دادند که

فنلی شامل؛ مشتقات کافئوایل کوئینیک اسید، کوئرسیتین ۳-ا-گالاکتوزید، کوئرسیتین ۳-ا-روتینوزید (روتین)، کامپفرول ۳-ا-گلوکوزید و کامپفرول ۳-ا-روتینوزید می‌باشد و ترکیب‌های فنلی عصاره متانولی برگ "به" بیشتر از میوه آن بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن وابسته به غلظت و مشابه عصاره چای سبز می‌باشد همچنین گزارش نمودند که عصاره برگ "به" دارای خاصیت ضد رادیکالی و پروکسیدی و جاروب کننده رادیکال بیشتری درمقایسه با قسمت‌های مختلف گیاه "به" می‌باشد (۱۲). یکی از آسیب‌های مطرح شده در آلزایمر که با از دست دادن حافظه مرتبط است، نقص در سیستم کولینرژیک و کاهش استیل کولین می‌باشد. اسید کلروژنیک موجود در برگ "به" می‌تواند مدت زمان ماندگاری و اثر استیل کولین را در شکاف سیناپسی افزایش دهد (۳۲). کودا و همکاران گزارش دادند که روتین به عنوان یک رنگدانه طبیعی، پایدار کننده و نگهدارنده مواد غذایی در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب، فعالیت‌های بیوزیستی گوناگونی از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی دارد (۳۳). سلوا و همکاران گزارش کردند که اثر آنتی‌اکسیدانی اسید کافئوایل کوئینیک می‌تواند به وسیله حضور گروه‌های کتکول که به وسیله جا به جایی الکترون به رادیکال‌های فنوکسیل ثبات می‌دهد توضیح داده شود. به علاوه پیوند دوگانه در زنجیره جانبی گروه کاتکول احتمالاً نقش مهمی در ثبات رادیکال فنوکسیل بالقوه داشته و بنابر این در تشدید فعالیت آنتی‌رادیکال نقش دارد (۳۴). ساگدیک و

استرپتوزوتوسین و عصاره آبی گیاه (*Gentella asiatica*) بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که رت‌های با تزریق درون بطنی STZ دچار اختلالات شناختی و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده و درحالی که رت‌های دریافت کننده عصاره گیاه (*Gentella asiatica*) کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز وابسته به دوز نشان دادند (۲۹). جاود و همکاران گزارش دادند که تزریق استرپتوزوتوسین باعث کاهش سطح گلو‌تاتیون و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و گلو‌تاتیون رودکتاز و مارکرهای التهابی در مغز رت‌ها می‌گردد و پیش درمان با فلاونوئید روتین باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مارکرهای التهابی می‌شود (۳۰). نقی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر حفاظتی کروسیتین را برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین در ناحیه استریاتوم مغز رت، بررسی کردند و گزارش نمودند که افزایش معنی‌داری در سطح مالون‌دی‌آلدئید و کاهش در فعالیت گلو‌تاتیون پراکسیداز در رت‌های دریافت کننده STZ در مقایسه با گروه درمان شده با کروسیتین مشاهده شده است (۳۱). نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر مهار استرس اکسیداتیو و بهبود سطح ATP به وسیله عصاره برگ "به" در موش‌های گروه بیمار دریافت کننده عصاره برگ است. مطالعه‌های متعددی بیانگر خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد استرس اکسیداتیو ترکیب‌های فنلی هستند. به طوری که کاستا و همکاران گزارش دادند که عصاره برگ درخت "به" دارای ترکیب‌های

همکاران نشان دادند ترکیب‌های فلاونوئیدی روتین، کوئرستین و کامپفرول خواص دارویی، ضدباکتری و ضداکسیداسیونی دارند. اثرات آنتی‌اکسیدانی کوئرستین ناشی از شلاته کردن فلزات، مهار کردن رادیکال‌ها، بازدارندگی آنزیمی و تحریک بیان آنزیم‌های محافظتی است (۳۵). براساس مطالعه‌های پیشین، عصاره برگ "به" غنی از ترکیب‌های پلی‌فنلی می‌باشد و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های خوراکی می‌تواند اثر محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو داشته باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان داد که تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن مغز موجب القا استرس اکسیداتیو می‌شود و مصرف عصاره برگ "به" به واسطه افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در ناحیه قشر مغز باعث تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد دانشگاه مازندران می‌باشد، که با حمایت‌های مالی و معنوی معاونت پژوهشی و آزمایشگاه بیوشیمی و فیزیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران انجام شد.

REFERENCES:

1. Perrig WJ, Perrig P, Stähelin H. The relation between antioxidants and memory performance in the old and very old. *Journal of the American Geriatrics Society* 1997; 45(6): 718-24.
2. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan R. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology* 2009; 7(1): 65.
3. Davies KJ. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB life* 2000; 5(4-5): 279- 89.
4. Imosemi I, IMOSEMI I. The role of antioxidants in cerebellar development. a review of literature. *Int J Morphol* 2013; 31(1): 203-10.
5. Gella A, Durany N. Oxidative stress in alzheimer disease. *Cell Adhesion & Migration* 2009; 3(1): 88-93.
6. Miranda S, Opazo C, Larrondo LF, Muñoz FJ, Ruiz F, Leighton F, et al. The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid β -peptide in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology* 2000; 62(6): 633-48.
7. Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A. Oxidative stress in alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014; 5: 2014.
8. Correia SC, Santos RX, Perry G, Zhu X, Moreira PI, Smith MA. Insulin-resistant brain state: the culprit in sporadic Alzheimer's disease?. *Ageing Research Reviews* 2011; 10(2): 264-73.
9. Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, de la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2006; 9(1): 13-33.
10. Deshmukh R, Sharma V, Mehan S, Sharma N, Bedi K. Amelioration of intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive dysfunction and oxidative stress by vinpocetine—a PDE1 inhibitor. *European Journal of Pharmacology* 2009; 620(1): 49-56.
11. Grünblatt E, Salkovic-Petrisic M, Osmanovic J, Riederer P, Hoyer S. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *Journal of Neurochemistry* 2007; 101(3): 757-70.
12. Costa RM, Magalhães AS, Pereira JA, Andrade PB, Valentão P, Carvalho M, et al. Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47(4): 860-5.
13. Williams RJ, Spencer JP. Flavonoids, cognition, and dementia: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. *Free Radical Biology and Medicine* 2012; 52(1): 35-45.
14. Ramassamy C. Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *European Journal of Pharmacology* 2006; 545(1): 51-64.
15. Khoubnasabjafari M, Jouyban A. A review of phytochemistry and bioactivity of quince (*Cydonia oblonga* Mill.). *Journal of Medicinal Plants Research [online]* 2011; 6: 110.
16. Oliveira AP, Costa RM, Magalhães AS, Pereira JA, Carvalho M, Valentão P, et al. Targeted metabolites and biological activities of cydonia oblonga Miller leaves. *Food Research International* 2012; 46(2): 496-504.

- 17.Oliveira AP, Pereira JA, Andrade PB, Valentão P, Seabra RM, Silva BM. Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaves. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 2007; 55(19): 7926-30.
- 18.Carvalho M, Silva BM, Silva R, Valentao P, Andrade PB, Bastos ML. First report on *cydonia oblonga* Miller anticancer potential: differential antiproliferative effect against human kidney and colon cancer cells. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 2010; 58(6): 3366-70.
- 19.Khademi F. The efficacy of quince leave extract on atherosclerotic plaques induced by atherogenic diet in coronary and aorta, hyperlipidemia and liver in rabbit. *Iran: Tabriz University of Medical Sciences*; 2009; 66.
- 20.González-Correa J, Muñoz-Marín J, Arrebola M, Guerrero A, Narbona F, López-Villodres J, et al. Dietary virgin olive oil reduces oxidative stress and cellular damage in rat brain slices subjected to hypoxia-reoxygenation. *Lipids* 2007; 42(10): 921-9.
- 21.Shrivastava P, Vaibhav K, Tabassum R, Khan A, Ishrat T, Khan MM, et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effect of piperine on 6-OHDA induced Parkinson's rat model. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2013; 24(4): 680-7.
- 22.Harrod S, Flint R, Riccio DC. MK-801 induced retrieval ,but not acquisition, deficits for passive avoidance conditioning. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2001; 69(3): 585-93.
- 23.Bigdeli MR, Rasoulilian B, Meratan AA. In vivo normobaric hyperoxia preconditioning induces different degrees of antioxidant enzymes activities in rat brain tissue. *European Journal of Pharmacology* 2009; 611(1): 22-9.
- 24.Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Behavioural Brain Research* 2006; 171(1): 9-16.
- 25.Hoyer S, Lannert H. Long-term effects of corticosterone on behavior, oxidative and energy metabolism of parietotemporal cerebral cortex and hippocampus of rats: comparison to intracerebroventricular streptozotocin. *Journal of Neural Transmission* 2008; 115(9): 1241-9.
- 26.Salkovic-Petrisic M, Osmanovic-Barilar J, Brückner MK, Hoyer S, Arendt T, Riederer P. Cerebral amyloid angiopathy in streptozotocin rat model of sporadic Alzheimer's disease: a long-term follow up study. *Journal of Neural Transmission* 2011; 118(5): 765-72..
- 27.Sharma M, Gupta Y. Intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats produces both oxidative stress in the brain and cognitive impairment. *Life Sciences* 2001; 68(9): 1021-9.
- 28.Salkovic-Petrisic M, Knezovic A, Hoyer S, Riederer P. What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer's disease, about the therapeutic strategies in Alzheimer's research. *Journal of Neural Transmission* 2013; 120(1): 233-52.
- 29.Veerendra Kumar M, Gupta Y. Effect of *Centella asiatica* on cognition and oxidative stress in an intracerebroventricular streptozotocin model of Alzheimer's disease in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2003; 30(5-6): 336-42.
- 30.Javed H, Khan M, Ahmad A, Vaibhav K, Ahmad M, Khan A, et al. Rutin prevents cognitive impairments by ameliorating oxidative stress and neuroinflammation in rat model of sporadic dementia of Alzheimer type. *Neuroscience* 2012; 210: 340-52.
- 31.Naghizadeh B, Mansouri MT, Ghorbanzadeh B. Protective effects of crocin against streptozotocin-induced oxidative damage in rat striatum. *Acta Medica Iranica* 2014; 52(2): 101-5.
- 32.Kovacsova M, Barta A, Parohova J, Vrankova S, Pechanova O. Neuroprotective mechanisms of natural polyphenolic compounds. *Act Nerv Super Rediviva*. 2010; 52(3): 181-6.

33. Koda T, Kuroda Y, Imai H. Protective effect of rutin against spatial memory impairment induced by trimethyltin in rats. *Nutrition Research* 2008; 28(9): 629-34.
34. Silva B, Valentão P, Seabra R, Andrade P, Papadopoulos K. Quince (*Cydonia oblonga* Miller): an interesting dietary source of bioactive compounds. *Food Chemistry Research Developments* 2008: 243-66.
35. Sagdiç O, Baydar N, Baydar H. Note: Antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascena* flower extracts. *Food Science and Technology International* 2004; 10(4): 277-81.

The Neuroprotective Effect of Quince Leaf Hydroalcoholic Extract on Intracerebroventricular Streptozotocin-induced Oxidative Stress in the Cortical Tissue of Rat Brain

Hajizadeh Moghaddam A^{1*}, Mohadjerani M², Mohammadi takasi E²

¹ Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran, ²Department of Cellular and Molecular, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Received: 28 Jan 2015

Accepted: 12 Oct 2015

Abstract

Background & aim: Oxidative stress is a result of the imbalance between free radicals and the antioxidant system of the body. Increased oxidative stress in brain causes dysfunction of brain activities, destruction of neurons, and disease such as Alzheimer. Antioxidants, for example vitamins, phenolic compounds and flavonoids have been extensively investigated as potential therapeutic agents in vitro and in vivo for prevention of neurodegenerative diseases. In the present experimental study, the neuro-protective effect of quince leaf hydroalcoholic extract (QLHE) on intracerebroventricular streptozotocin (icv-STZ)-induced oxidative stress in cortical tissue of rat brain was examined.

Methods: In the present experimental research, forty-two Wistar rats were randomly divided into control, sham, icv-STZ and icv-STZ treated with QLHE groups. The ICV-STZ group rats were injected unilaterally with ICV-STZ (3 mg/kg) using a stereotactic device and QLHE (50, 100 and 150 mg/kg/day) were administered for 6 weeks starting from 3 weeks before of ICV-STZ injection. The rats were killed at the end of the study and their brain cortical tissue superoxide dismutase and catalase activity were measured. The assay of catalase and superoxide dismutase was performed by following the Genet method. The amount of protein was determined according to the Bradford method. The statistical analysis was performed using one way ANOVA. Data were expressed as mean±SD and P<0.05 was considered significant.

Results: The present study indicated that in the ICV-STZ group showed significant decrease (P<0.001) in enzymatic antioxidants superoxide dismutase and catalase in the cortical tissue of the brain. Treatment of different doses of QLHE significantly increased superoxide dismutase and catalase activity compared to icv-STZ group (P<0.001) in cortical tissue of the brain.

Conclusion: The study demonstrated the effectiveness of quince leaf hydroalcoholic extract as a powerful antioxidant in preventing the oxidative damage by increasing the catalase and superoxide dismutase activity caused by ICV-STZ in cortical tissue of rat brain. Although further studies are needed to clarify the mechanisms of neuroprotective effect of quince leaf, the hydroalcoholic extract seems to partly exert their effects via increasing the antioxidant enzymes activities.

Keyword: Antioxidant, Alzheimer, streptozotocin, Cydonia oblonga leaf extract, Oxidative Stress.

Corresponding author: Hajizadeh Moghaddam A, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Email: a.hajizadeh@umz.ac.ir

Please cite this article as follows:

Hajizadeh Moghaddam A, Mohadjerani M, Mohammadi takasi E. The Neuroprotective Effect of Quince Leaf Hydroalcoholic Extract on Intracerebroventricular Streptozotocin-induced Oxidative Stress in the Cortical Tissue of Rat Brain. Armaghane-danesh 2015; 20 (9): 756-767.