Research on Medicine *Original Article*

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Vol.41; No.1; 2017

Effects of aqueous extract of parsley on prevention of nerve cells peroxidation in an experimental model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxy dopamine in male rats

Seyed Ali Ziai[1*], Ali Moradganjeh[2]

1.Department of Pharmacology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran. Iran.
2.Specialized Veterinary Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University (IAU), Tehran, Iran

(Received: 2017/02/16 Accept: 2017/02/26)

Abstract

Background: *Parkinson's disease (PD) accompanies with degeneration of dopaminergic neurons of substantia nigra compacta and other regions of brainstem. Oxidative stress plays an important role in neuronal death in PD. Superoxide formation is one of the main etiologies of this disease, and angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEIs) are able to suppress superoxide formation. Petroselinum hortense Hoffm is an ACE inhibitor and in previous work improved behavioral and pathological signs in a rat model of PD. In this research the effect of Petroselinum hortense Hoffm aqueous extract was studies on lipid peroxidation and protein oxidation.*

Methods: *Male rats (n=36) were divided in 6 groups: sham, neurotoxin (injection of -6hydroxydopamine into left hemisphere SNc) Petroselinum hortense Hoffm aqueous extract (20 ,100 and 5 mg/kg), and captopril. Petroselinum and captopril groups were injected i.p. seven days before and 1 day after of -6hydroxydopamine injection. Brain protein oxidation and lipid peroxidation as well as brain ACE activity were assayed in 6 groups.*

Results: *Results showed significant inhibition of brain ACE activity in captopril and parsley groups concentration-dependently ($p<0.001$). Protein oxidation and lipid peroxidation were reduced in study groups, but these reduction were non-significant.*

Discussion and conclusion: *Prevention of cellular oxidation is not the main mechanism of aqueous extract of parsley in preventing Parkinson's disease, despite having ACE inhibitory activity.*

Keywords: *Medicinal plants, Parkinson's disease, ACE, Parsley*

**Correspondinauthor:Seyed Ali Ziai*
Email: saziai@gmail.com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-27]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور ۴۱، شماره ۱، ۱۳۹۶، صفحات ۱۷ تا ۲۳

اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه جعفری بر جلوگیری از پراکسیداسیون سلول‌های عصبی در مدل تجربی پارکینسون القا شده با ۶-هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی نر

سید علی ضیایی[۱*]، علی مراد گنجه[۲]

۱- گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله:۱۳۹۵/۱۲/۸

چکیده:

سابقه‌وهدف: بیماري پارکینسون تحلیل نورن‌های دوپامینی در ساختمان متراکم جسم سیاه *(SNc)* و دیگر نواحی ساقه مغز است. استرس اکسیداتیو نقش مهمی در مرگ نورون‌ها در بیماري پارکینسون دارد. یکي از علل ایجاد پارکینسون تولید سوپراکسایدهاست و ترکیب‌هایی که بتواند جلوي تولید این مواد را بگیرند قابلیت درمانی دارند. مهار کنندگان آنزیم *ACE* (آنزیم مبدل آنژیوتانسین) دارای چنین خاصیتي هستند. از آنجا که گیاه جعفري باعث مهار آنزیم *ACE* می‌شود و در پژوهش قبلی باعث کاهش عوارض رفتاری و پاتولوژیک در مدل تجربی پارکینسون در موش صحرایی شد. در این پژوهش اثر عصاره آبی گیاه جعفري بر پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئین‌ها بررسی شد.

روش تحقیق: در این تحقیق تجربی ۳۶ عدد موش صحرایي نر به ۶ گروه۶ تایی شاهد، تخریب با تزریق نوروتوکسین ۶- هیدروکسي دوپامین به داخل جسم سیاه نیمکره چپ، درمان با سه دوز مختلف عصاره آبی جعفري و درمان با کاپتوپریل به مدت ۸ روز (۷ روز قبل از تزریق نوروتوکسین و ۱ روز بعد آن) تقسیم شدند. موش‌ها ۲۴ ساعت بعد از تزریق سم تحت آزمایش‌های بیوشیمیایي (تعیین میزان اکسیداسیون پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها) قرار گرفتند و همچنین اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم *ACE* مغزي یک روز بعد از تزریق سم در رابطه با همه گروه‌ها انجام شد. از نرم افزار *Graphpad prism* برای محاسبات آماری و رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج: کمترین میزان فعالیت آنزیم *ACE* مربوط به درمان با کاپتوپریل است و گروه‌های عصاره جعفری نیز توانستند به میزان معنی معناداری فعالیت آنزیم *ACE* در مغز را وابسته به غلظت مهار کنند *($p<0.0001$)*. بررسی اکسیداسیون پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها حاکی از کاهش غیر معنادار اثر عصاره جعفری و کاپتوپریل نسبت به گروه نوروتوکسین بود.

نتیجه گیری: جلوگیری از پراکسیداسیون سلولی مکانیسم اصلی عصاره آبی جعفری در جلوگیری از بیماری پارکینسون با وجود دارا بودن خاصیت مهار کنندگي *ACE* نیست.

واژگان کلیدی: گیاهان دارویی، پارکینسون، *ACE*، جعفری

مقدمه:

بیماری پارکینسون (PD) با تخریب اعصاب دوپامینرژیک جسم سیاه یک اختلال نوروپاتولوژیک پیشرونده است. کاهش تعداد نورون‌های دوپامینرژیک باعث سندروم حرکتی پیچیده‌ای است که شامل برادی کینزی، خشکی عضلانی و لرزش اندام‌ها می‌شود (۱).

مطالعه‌ها نشان داده است که التهاب، تشکیل رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو نقش مهمی در بیماری‌زایی PD دارند (۲-۴). استرس اکسیداتیو وقتی ایجاد می‌شود که گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) افزایش یا دفاع آنتی‌اکسیدان‌های سلولی کاهش یابد و نتیجه آن پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و در نهایت مرگ سلولی است. افزایش میزان استرس اکسیداتیو می‌تواند قبل از علایم دژنره شدن نورونی اتفاق بیفتد.

به علاوه شواهد مهمی مبنی بر ارتباط سیستم رنین-آنژیوتانسین (RAS)مرکزی و

نویسنده مسئول: سید علی ضیایی
پست الکترونیک: *saziai@gmail.com*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-27]

PD وجود دارد. آنژیوتانسین II یک ترکیب پیش التهابی است که می‌تواند با فعال کردن ترکیب اکسید از وابسته به NADPH ایجاد استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی کند(۵). آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین (ACE)جزء اصلی آبشار آنزیمی است که تولید آنژیوتانسین II می‌کند (۶). بنابراین مهار ACE در جلوگیری از بیماری‌زایی PD به احتمال نقش مهمی دارد. این موضوع به وسیله کاهش از دست رفتن سلول‌های دوپامینرژیک ناشی از MPTP در بخش متراکم جسم سیاه (SNc) در استریاتوم موش‌های صحرایی که با پریندوپریل درمان پیشگیرانه شده بودند، نشان داده شده است (۷). در مطالعه دیگر نتایج مشابه با کاپتوپریل به دست آمده است (۷). همچنین آثار محافظت‌کننده عصبی کاپتوپریل در مدل PD ایجاد شده توسط ۶ هیدروکسی دوپامین گزارش شده است (۸).

جعفری با نام علمی Petroselinum hortense Hoffm و اسم عمومی Parsley گیاه شناخته شده‌ای است که طعم و عطر خاصی به مواد غذایی می‌دهد. جعفری به عنوان گیاه دارویی در درمان بیماری‌های دستگاه گوارش و همچنین کلیه و انتهای مجاری ادراری استفاده می‌شود (۹). همچنین جعفری یک مدر قوی است و برای درمان اختلال‌های قاعدگی، التهاب کیسه صفرا، سوءهاضمه و میالژی به کار می‌رود.(۱۰) چندین مطالعه اشاره به آثار ضد سرطانی جعفری دارد. همچنین آثار آنتی‌اکسیدانی جعفری نیز توسط چندین مطالعه نشان داده شده است (۹). سمیت جعفری هوز مشخص نشده است اما مصرف مقادیر طبیعی (۶ گرم در روز) عوارضی به همراه نداشته است (۱۱).

ضیایی و همکاران در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که جعفری خاصیت مهارکنندگی ACE در شرایط آزمایشگاهی دارد (۱۲).

آثار ضد پارکینسونی در مدل تجربی پارکینسون ایجاد شده توسط ۶- هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی نر به وسیله ارزیابی‌های رفتاری و مطالعه‌های پاتولوژیک پیشتر موید اثربخشی جعفری بود(۱۳). بررسی اکسیداسیون پروتئین‌ها و پر اکسیداسیون لیپیدها و میزان مهار آنزیم ACE در مغز هدف این مطالعه است.

مواد و داروها: 6-hydroxy dopamine (6-OHDA), Desferrioxamine, Butylated hydroxytoluene, 2,4-dinitrophenylhydrazine hydrochlorid, SDS و BSA از شرکت Sigma خریداری، سایر مواد و ترکیب‌های شیمیایی بررسی پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها محصول شرکت Merck آلمان بودند.

حیوانات مورد آزمایش: تحقیق به روش تجربی انجام شد. در این پژوهش از ۳۶ سر موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar با محدوده وزنی ۲۵۰ g– ۲۰۰ استفاده شد، که از حیوان‌خانه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهیه شد. موش‌ها در شرایط کنترل شده از نظر دما و نور با دسترسی آزاد به آب و غذا در اتاق حیوانات نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه زیر (n =۶) تقسیم شدند:

۱- گروه شاهد (بدون ایجاد عارضه) که ۵ µl محلول نرمال سالین حاوی ۰/۱ µl اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد به داخل جسم سیاه (در ناحیه چپ) آن‌ها تزریق شد.

۲- گروه نوروتوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین که جسم سیاه آن‌ها با تجویز نوروتوکسین به داخل جسم سیاه (به صورت یک طرفه در جسم سیاه نیمکره چپ) تخریب شد و۵ میکرولیتر از محلول نرمال سالین حاوی ۸ میکروگرم نوروتوکسین و ۰/۱ میکرولیتر اسید آسکوربیک ۰/۲درصد را با سرعت ۱ µl/min دریافت کردند (۱۴).

۳- گروه‌های درمان با عصاره جعفری با غلظت‌های ۵ mg/kg, ۲۰, ۱۰۰ که ۷ روز قبل از تزریق نوروتوکسین و تا ۲۴ ساعت بعد از آن تحت درمان عصاره قرار گرفتند(۱۳). هر گروه درمان، عصاره آبی جعفری محلول در ۵ میکرولیتر نرمال سالین را ۱۴۴، ۱۲۰، ۹۶، ۷۲، ۴۸، ۲۴ و ۲ ساعت قبل و ۴ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق نوروتوکسین به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

۴- گروه کاپتوپریل نیز ۵ mg/kg کاپتوپریل (اهدایی از شرکت داروسازی اکسیر) محلول در ۵ میکرولیتر نرمال سالین را مانند گروه درمان، به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

روش تهیه عصاره آبی جعفری: جعفری خریداری شد و توسط پژوهشگاه گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی شناسایی و از سرشاخه‌های هوایی عصاره‌گیری شد.

عصاره آبی به روش خیساندن به ترتیب زیر تهیه شد:

مقدار ۲۰۰۰g سرشاخه‌های هوایی جعفری وزن شده و پس از شستن، همراه مقدار لازم آب (طوری که سطح گیاه را آب فرا گیرد) در یک بشر بزرگ ریخته شده و روی هیتر قرار گرفت تا به جوش بیاید و به مدت ۱۵ دقیقه جوشید و پس از آن ابتدا با پارچه تمیز و سپس با کاغذ صافی صاف شد. عصاره صاف شده با دستگاه فریز درایر خشک شد (۸). مقدار عصاره به دست آمده از هر ۱۰۰ گرم جعفری حدود ۱۲ گرم بود.

روش جراحی و تزریقات: ابتدا موش توزین و سپس با تزریق داخل صفاقی، مخلوطی از ۱۰۰ mg/kg کتامین و ۵ mg/kg زایلازین (خریداری شده از شرکت Merck آلمان) بیهوش شد. آنگاه موش در دستگاه استرئوتکس (Stoelting-USA) قرار گرفت و توسط قطعه دهانی و میله‌های داخل گوشی روی میز جراحی ثابت شد. بافت های پیوندی روی جمجمه به وسیله پنبه آغشته به پودر پنی سیلین زدوده شد و نقطه برگما مشخص شده، نشانگر دستگاه روی آن تنظیم شد. سپس با توجه به مختصات هسته SNc استخراج شده از اطلس Watson & Paxinos (DV ۸/۳ mm (چپ) ML2 mm، Ap- ۴/۸ mm to bregma)، از سطح استخوان جمجمه، برای ایجاد مدل حیوانی بیماری پارکینسون مشخص شد (۱۵).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم ACE در هموژن بافت مغزی: قطعات بافت در ۵ میلی‌لیتر بافر هموژناسیون (۱/۴۰۴ گرم Tris-HCl، ۰/۱۳۴ Tris – Base، ۱ گرم Trition X-100، pH=۷/۵، ۰/۲۱۴ گرم استات منیزیم، ۰/۴۴۸ گرم KCl و ۱۷/۲ گرم سوکروز در ۲۰۰ میلی‌لیتر) ریخته شد و توسط دستگاه هموژنالیزر Tomy Micro Smash (مدل۱۰۰ –MS) با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱/۵ دقیقه هموژن شد وبه مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار گرفت. روز بعد، بافت‌ها در سانتریفیوژ یخچال‌دار با شتاب ۵۵۰۰ g سانتریفیوژ شد. محلول فوقانی را جدا کرده و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰ – درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

کروماتوگرافی HPLC : دستگاه HPLC مورد استفاده متعلق به شرکت Shimadzu و شامل پمپ LC-10ADVP ، شناساگر SPD-10AV، سیستم کنترلر SCL-10AVP و ستون µBondapak به ابعاد ۲۵۰ mm × ۴۶ و قطر ذرات ۱۰ میکرون بود. در هر بار کروماتوگرافی ۲۵ µl از محصول انکوباسیون آنزیم و سوبسترا توسط سرنگ همیلتون به دستگاه تزریق شد. فاز متحرک (مخلوط ۱:۱ از KH_2PO_4 ۱۰ میلی مولار و متانول با pH=۳ که با صافی غشایی ۰/۴۵ میکرون صاف شد) با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه جریان داشت و کل زمان کروماتوگرام ۸ دقیقه بود. پیک‌ها در طول موج ۲۲۸ nm ردیابی شدند.

نحوه تعیین فعالیت آنزیم ACE: برای تعیین فعالیت آنزیم تفاوت سطح زیر منحنی تست و بلانک را در معادله خط منحنی استاندارد قرار داده و غلظت محصول (اسید هیپوریک) را از آن به دست آوردیم. واحد فعالیت آنزیم، مقدار آنزیمی است که بتواند در مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد یک میکرومول اسید هپوریک تولید کند. فعالیت آنزیم بر حسب مقدار پروتئین بافت مغز که به روش بردفورد اندازه‌گیری شد (۱۶) بیان شد.

ارزیابی اکسیداسیون پروتئین‌ها: اکسیداسیون پروتئین‌ها از طریق تعیین اجزای کربونیل پروتئین اندازه‌گیری می‌شود. اجزای کربونیل با دستگاه اسپکتروفتومتر ارزیابی شدند. قطعه‌های بافت در سه برابر حجم بافر pH =۷/۴ Na_2PO_4/KH_2PO_4 ، که با KCl ایزوتون شده و حاوی هیدروکسی تولوئن بوتیله ۲۰۰ میکرومولار و دفروکسامین ۲۰۰ میکرومولار بود ریخته شد، سپس با دستگاه هموژنایزر بادور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱/۵ دقیقه تحت عمل هموژناسیون قرار گرفت. هموژنات بافتی پس از صاف شدن به مدت ۴۰ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۱۳۰۰۰ rpm که پیشتر روی دمای ۴- درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود، سانتریفوژ شد. سپس محلول بالایی بافت‌های هموژن شده را جدا کرده دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با همان دور سانتریفیوژ شد. در نهایت محلول فوقانی جدا شد.

یک قسمت از هموژن را برای رسوب اسید نوکلئیک با یک قسمت استرپتوماسین ۱۰درصد مجاور کرده، سپس در دور ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-27]

شد. محلول فوقانی همراه با تری کلرواستیک اسید یک مولار به مدت ۲۰ دقیقه با دستگاه سونیکاتور مخلوط شد. در مرحله بعد کمتر از ۵ دقیقه آن را سانتریفیوژ کرده، قسمت رسوب داده شده را با ۲۰۰ میکرولیتر NaOH ۰/۵ مولار ۳ دقیقه ورتکس کرده تا حل شد. ۴، ۲- دی نیتروفنیل هیدرازین ۱۰ میلی مولار در HCl ۲ مولار حل شده و حجم به ۸۰۰ میکرولیتر رسانده شد، در مرحله بعد به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت. سپس محلول با ۲۰۰ میکرولیتر تیو باربیتوریک اسید یک مولار به مدت ۲ دقیقه مجاور و بعد سانتریفیوژ شد. رسوب با محلول اتیل استات : اتانول (۱:۱ ۹V/V شست‌وشو داده شد. گوانیدین ۶ مولار را با KH_2PO_4 ۲۰ میلی مولار pH= ۲/۳ مخلوط کرده از این مخلوط ۸۰۰ میکرولیتر به هر لوله حاوی رسوب اضافه کرده پس از حل شدن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول ۳۷۰ nm خوانده شد.

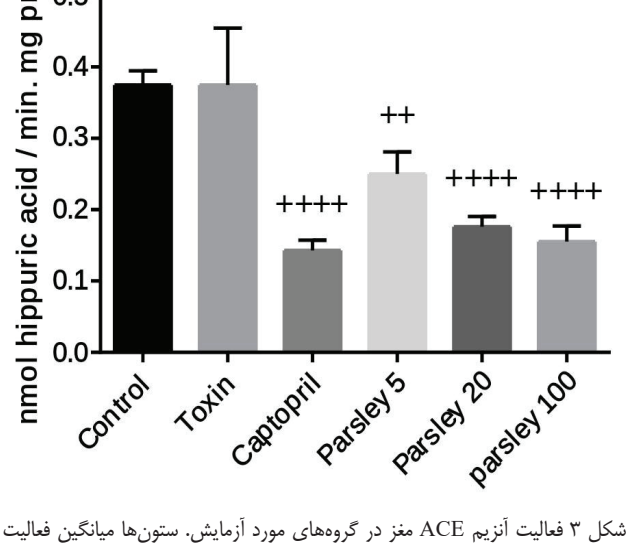
ارزیابی میزان پروتئین: از روش بردفورد استفاده شده و با دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۶۰۰ nm جذب‌ها خوانده شد. پس از رسم منحنی استاندارد با استفاده از BSA (آلبومین سرم گاوی) غلظت پروتئین‌ها تعیین شد.

تعیین پراکسیداسیون لیپیدها: اندازه‌گیری میزان مالون دی الدهید (MDA) از راه‌هایی است که با آن می‌توان استرس اکسیداتیو را بررسی کرد. مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی بر اساس تشکیل کمپلکس مالون دی‌آلدهید ایجاد شده با تیو باربیتوریک اسید (TBARS) سنجیده می شود. تعیین (TBARS) به طریق دستگاه اسپکتروفوتومتری انجام می‌شود (۶). ۲۰۰ میکرولیتر از محلول هموژنایز شده را برداشته با ۲۰۰ میکرولیتر محلول SDS (سدیم دو دسیل سولفات) ۸درصد و ۷۵۰ میکرو لیتر اسید استیک ۲۰درصد به مدت یک دقیقه در ورتکس قرار داده شد. در مرحله بعد با ۷۵۰ میکرولیتر تیوباربیوتوریک اسید ۰/۸درصد در ۹۵ درجه به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شد. بعد از خنک شدن مخلوط با ۳ میلی‌لیتر ان – بوتانول مخلوط و به شدت تکان داده شد و در سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله آخر، جذب نوری لایه مایع فوقانی جدا شده (لایه نارنجی رنگ) در اسپکتروفوتومتر با طول موج ۵۳۲ nm خوانده شد. همه گروه‌ها تحت این بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها:

بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها: میزان پراکسیداسیون لیپیدها در تمام گروه‌های ذکر شده اندازه‌گیری شد. در گروه توکسین ۴/۱ برابر بیشتر از گروه شاهد بوده که این اختلاف معنادار است (۰،۰۵) (شکل ۱).

کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها در تمامی گروه‌های درمان دیده شده و کمترین میزان آن مربوط به گروه درمان با کاپتوپریل بود.

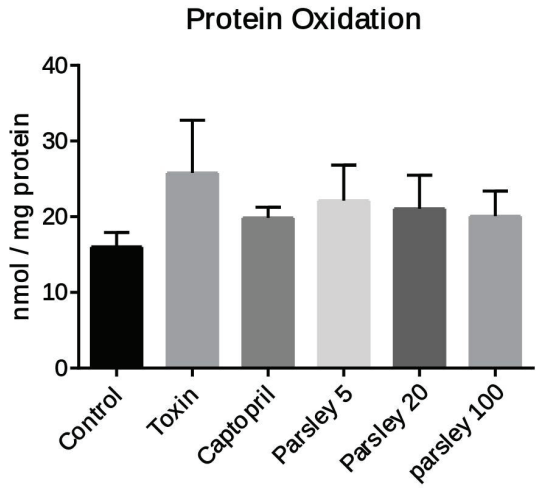


شکل ۱ پراکسیداسیون لیپیدها در گروه‌های مورد مطالعه. هر ستون میانگین مالون دی آلدهید تولید شده در ۶ موش است. انحراف معیار روی آن‌ها نشان داده شده است.

** $P<0.01$ تفاوت با گروه توکسین بر اساس تست Dunnett's

بررسی اکسیداسیون پروتئین‌ها: در این بخش نتایج حاصل از ارزیابی اکسیداسیون پروتئین‌ها در گروه‌های شاهد، نوروتوکسین، درمان با کاپتوپریل و۳ گروه درمان با ۳ دوز مختلف عصاره آبی جعفری بررسی شد.

نتایج به‌دست آمده نشان داد: غلظت اجزای کربونیل پروتئین در گروه شاهد به طور میانگین ۱۶ و در گروه تخریب با نورتوکسین ۲۵/۷ بوده است، ولی از نظر آماری تفاوتی ندارد.



شکل ۲ غلظت اجزای کربونیل پروتئین در گروه‌های مورد آزمایش. ستون‌ها میانگین میزان کربونیل را در ۶ موش نشان می‌دهند و انحراف معیار روی آن‌ها نشان داده شده است.

فعالیت ACE مغز: اندازه‌گیری فعالیت ACE در بافت مغز نشان می‌دهد که با وجود اینکه اختلافی بین گروه‌های شاهد و توکسین وجود ندارد، اما در سه گروه عصاره کاهش فعالیت ACE مغز رابطه مستقیم و وابسته به افزایش دوز عصاره آبی جعفری مشاهده می‌شود. در گروه درمان با کاپتوپریل کمترین میزان فعالیت ACE مشاهده شد.

شکل ۳ فعالیت آنزیم ACE مغز در گروه‌های مورد آزمایش. ستون‌ها میانگین فعالیت آنزیم را در ۶ موش نشان می‌دهند و انحراف معیار روی آن‌ها نشان داده شده است.

++ $P<0.01$ تفاوت با گروه توکسین بر اساس تست Dunnett's

++++ $p<0.0001$ تفاوت با گروه توکسین بر اساس تست Dunnett's

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-27]

بحث:

این تحقیق نشان داد که سه دوز مختلف از عصاره آبی جعفری و کاپتوپریل باعث کاهش فعالیت آنزیم ACE در مغز موش‌های صحرایی نر در مدل تجربی بیماری پارکینسون با استفاده از نوروتوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین شد. موثر بودن عصاره آبی جعفری، اسفند، سیر، زرشک، کاپتوپریل و لوزارتان در جلوگیری از دژنره شدن نورون‌های دوپامینرژیک توسط ۶-هیدروکسی دوپامین در SNc موش‌های صحرایی پیشتر نشان داده شده است (۱۳, ۱۷-۱۹). ۶-هیدروکسی دوپامین با ایجاد استرس اکسیداتیو، سبب بروز بیماری پارکینسون می‌شود. ۶-هیدروکسی دوپامین سمی است که با تولید رادیکال‌های آزاد باعث تخریب اختصاصی سلول‌های دوپامینی در مغز می‌شود. ۶-هیدروکسی دوپامین یک نوروتوکسین کاتکولامینرژیک است که به صورت گسترده برای تحقیق‌ها و بررسی در رابطه با پیشرفت بیماری پارکینسون و پاتوژنز آن به کار می‌رود. سمیت این نوروتوکسین، به جذب و تجمع از طریق یک مکانیزم انتقالی خاص در مورد نورون‌های کاتکولامینرژیک بستگی دارد. نتایج محققان ثابت کرده که نوروتوکسین۶-هیدروکسی دوپامین ارتباط زیادی با رادیکال‌های آزاد دارد، چون مالون دی آلدهید به طور بارزی در گروه ۶-هیدروکسی دوپامین افزایش می‌یابد (۲۰).

استفاده پزشکی جعفری مربوط به فلاونوئیدها و روغن‌های فرار آن است. آپیین، لوتئولین و آپیجنین از فلاونوئیدهای مهم جعفری هستند (۲۱, ۲۲). برخی مطالعه‌ها خواص آنتی‌اکسیدانی جعفری را نشان داده است. برای مثال ترکیب‌های فنولیک جعفری خواص آنتی‌اکسیدان دارد(۲۱, ۲۳). جعفری قادر است رادیکال‌های اکسیژن که به وسیله استرس اکسیداتیو در فرآیند التهاب ایجاد می‌شوند را غیر فعال کند (۲۴). Vora و همکاران نشان دادند که عصاره جعفری خاصیت محافظت‌کننده در برابر استرس اکسیداتیو توسط D-galactose در مغز موش را دارد(۲۵).

خاصیت محافظت‌کننده نورونی مهار کننده‌های ACE در مدل‌های حیوانی بیماری پارکینسون نیز با چندین بررسی نشان داده شده است (۲۶-۲۹). در حالی که تجویز آنژیوتانسین II به تنهایی اثری روی تعداد سلول‌های دوپامینرژیک در بدن ندارد؛ تجویز آنژیوتانسین II باعث افزایش آثار سمیت عصبی 6-OHDA می‌شود (۳۰). اثر سینرژیستی ROS مشتق شده از NADPH نورونی از طریق گیرنده‌های AT_1 عصبی ایجاد می‌شود و ROS مشتق شده از اتواکسیداسیون 6-OHDA داخل عصبی، می‌تواند باعث افزایش سمیت عصبی 6-OHDAشود. به هر حال فعالیت اکسیداز NAPDH میکروگلیال و تولید سوپراکسید باعث افزایش سطوح خارج سلولی ROS و افزایش آزادسازی فاکتورهای پیش‌التهابی و لازم برای افزایش مرگ سلولی القا شده توسط 6-OHDA با آنژیوتانسین II می‌شود (۳۱). این مشاهده‌ها ممکن است توضیح دهد که چرا ترکیب‌هایی که باعث کاهش تولید آنژیوتانسین II می‌شوند مانند مهارکننده‌های ACE در مدل‌های حیوانی PD، محافظت‌کننده نورونی بوده‌اند. توضیح مکانیسم ممکن این اثر جعفری جلوگیری از فعالیت گیرنده‌های AT1 تحریک شده به وسیله آنژیوتانسین II است. تحریک گیرنده های AT1 باعث آزاد شدن ROS به وسیله تحریک ترکیب NADPH می‌شود (۳۱, ۳۲). ROS تولید شده توسط سوپراکسید دسموتاز به H_2O_2 تبدیل می‌شود و ترکیب شدن آن با نیتریک اکساید، پروکسی نیتریت تولید می‌کند که باعث اکسیداسیون پروتئین ها و پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت باعث استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی می‌شود (۳۳, ۳۴). نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آبی جعفری با مهار وابسته به غلظت آنزیم ACE در مغز میزان پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئینی را به همان نسبت کاهش داد ولی این کاهش معنادار نبود.

ضیایی و همکاران پیشتر نشان دادند که جعفری خاصیت مهارکنندگی ACE در محیط برون تنی دارد (۱۲). در مطالعه پیشین آثار مفید عصاره‌های جعفری روی کاهش سفتی عضلانی و چرخش موش‌ها واضح بود و نتایج پاتولوژی هم موید این نکته بود (۱۳). قدرت بالای مهارکنندگی ACE جعفری پیشنهاد می‌کرد که این اثر ضد پارکینسونی جعفری مانند کاپتوپریل با مهار تولید ROS ناشی از مهار سیستم RAS باشد(۲۹) و به احتمال عصاره آبی جعفری از طریق مهار آنزیم ACE و کاهش آنژیوتانسین II سبب بهبود علایم در موش‌های پارکینسونی می‌شود. اگر چه آثار عصاره جعفری در مهار نشانگرهای استرس اکسیداتیو به خوبی کاپتوپریل نبود، ولی در بالین آثار ضد پارکینسونی خوبی داشت. دلیل این امر به احتمال این است که کاپتوپریل در مراحل اولیه پس از القای استرس اکسیداتیو اثر بهتری دارد، ولی عصاره جعفری در درازمدت (در مطالعه‌های رفتاری) اثر بهتری از خودنشان داده است (۱۳). یک توضیح ممکن در مورد مکانیسم آثار مفید مهار کننده‌های ACE در مدل‌های حیوانی می‌تواند این باشد که آن‌ها سیگنال مزمن یا سمی آنژیوتانسین II را از طریق فعالیت گیرنده AT1 مهار می‌کنند. از این لحاظ، گیرنده‌های AT1 کمپلکس اکسیداز NADPH را فعال می‌کنند که منبع اصلی داخل سلولی ROS (آنیون سوپراکسید اصلی) در میتوکندری است. آنیون سوپراکسید تولید شده توسط سوپراکسید دسموتاز به H_2O_2 تبدیل می‌شود و نیتریک اکساید برای تولید پروکسی نیتریت ترکیب می‌شود. بنابراین باعث کاهش فعالیت بیولوژیک نیتریک اکساید و تحریک اکسیداسیون لیپید و پروتئین می‌شود. وقتی که ROS به عنوان پیامبر دوم به‌کار می‌رود، تنظیم تعادل دقیقی بین تولید و غیرفعال شدن آن مورد نیاز است . تنظیم نبودن ROS در نتیجه افزایش تولید، یا کاهش غیرفعال شدن آن، می‌تواند باعث آسیب جدی به ساختارهای زیستی اطراف شود که به عنوان استرس اکسیداتیو تعریف می‌شود، به عبارتی، جهش DNA، پراکسیداسیون لیپید، آسیب پروتئین و سرانجام مرگ سلولی از طریق مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و نکروز اتفاق می‌افتد (۲۷, ۳۵). دوم اینکه، فعالیت گیرنده AT1 منتهی به مسیر انتقال سیگنال NFκB، و در نتیجه افزایش بیان و تولید کموکاینی، سایتوکاینی و مولکول‌های چسبنده (adhesion molecules) که در مهاجرت سلول‌های التهابی به بافت آسیب دیده دخالت دارند می‌شود (۳۶). علاوه بر این اثر غیرمستقیم، آنژیوتانسینII می‌تواند به طور مستقیم روی سلول‌های التهابی اثر کند (۳۷-۳۹). تحریک گیرنده‌های AT1 روی نوتروفیل‌ها و منوسیت‌ها و لمفوسیت‌ها به وسیله آنژیوتانسین II باعث پاسخ التهابی و آزادسازی مقادیر زیادی از ROS به طور عمده به واسطه فعالیت کمپلکس NADPH می‌شود (۳۷-۳۹). در پایان، آثار مفید مشاهده شده از مهار کننده‌های ACE در مدل‌های حیوانی PD به احتمال به تداخل اثر بین این ترکیب‌ها و سیستم دوپامینرژیک مرتبط است. در واقع همان‌گونه که ذکر شد درمان طولانی‌مدت با مهار کننده‌های ACE، محتوی دوپامین استریاتوم در رت و موش‌های درمان شده با MPTP را افزایش می‌دهد. به علاوه، تجویز کوتاه‌مدت آنژیوتانسین II باعث افزایش آزادسازی دوپامین استریاتوم از طریق گیرندهای AT1 می‌شود. نمی‌توان نادیده گرفت که ACE و آنژیوتانسین II در آثار محافظتی مهار کننده‌های ACE دخیل‌اند. این موضوع به احتمال به این دلیل است که ACE همراه با سوبستراهایش مانند انکفالین با ماده P و بتا اندورفین در پایانه‌های استریاتال موجود است. این مواد در تنظیم سوخت و ساز دوپامین هم دخالت دارند (۴۰, ۴۱).

اطلاعات فارماکولوژیک این تحقیق، فرضیه مفید بودن عصاره جعفری به عنوان دارو یا فرآورده خوراکی در درمان بیماری پارکینسون را با مکانیسم‌های متفاوت تقویت می‌کند.

منابع:

1. Berardelli A, Rothwell JC, Thompson PD, Hallett M. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. Brain. 2001;124(Pt 11):2131-46.

2. Shastry BS. Parkinson disease: etiology, pathogenesis and future of gene therapy. Neurosci Res. 2001;41(1):5-12.

3. Dexter DT, Carter CJ, Wells FR, Javoy-Agid F, Agid Y, Lees A, et al. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. J Neurochem. 1989;52(2):381-9.

4. Maguire-Zeiss KA, Short DW, Federoff HJ. Synuclein, dopamine and oxidative stress: co-conspirators in Parkinson's disease? Brain

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-27]

Res Mol Brain Res. 2005;134(1):18-23.
5. Landmesser U, Drexler H. Oxidative stress, the renin-angiotensin system, and atherosclerosis. European heart journal supplements. 2003;5(A):A3-A7.
6. Smith MP, Cass WA. GDNF reduces oxidative stress in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. Neurosci Lett. 2007;412(3):259-63.
Mertens B, Vanderheyden P, Michotte Y, 7. Sarre S. The role of the central renin-angiotensin system in Parkinson's disease. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2010;11(1):49-56.
8. Unger T, Badoer E, Ganten D, Lang RE, Rettig R. Brain angiotensin: pathways and pharmacology. Circulation. 1988;77(6 Pt 2):I40-54.
9. Popovic M, Kaurinovic B, Jakovljevic V, Mimica-Dukic N, Bursac M. Effect of parsley (Petroselinum crispum (Mill.) Nym. ex A.W. Hill, Apiaceae) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with CCl(4). Phytother Res. 2007;21(8):717-23.
10. Zheng GQ, Kenney PM, Zhang J, Lam LK. Chemoprevention of benzo[a]pyrene-induced forestomach cancer in mice by natural phthalides from celery seed oil. Nutr Cancer. 1993;19(1):77-86.
11. Rodriguez-Pallares J, Rey P, Parga JA, Munoz A, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Brain angiotensin enhances dopaminergic cell death via microglial activation and NADPH-derived ROS. Neurobiol Dis. 2008;31(1):58-73.
12. Ziai S, Rezazadeh S, Dastpak A, Shabestari A, Taghizadeh M, Naghdibadi H, et al. Study of the ACE inhibitory effect of medicinal plants used in Iranian folk-medicine as antihypertensive remedy. Journal of Medicinal Plants. 2006;4(20):53-74.
13. MORADGANJEH A, ZIAI S, SOHRABI HI, ROGHANI M. PROTECTIVE EFFECT OF PETROSELINUM HORTENSE HOFFM ON EXPERIMENTAL MODEL OF PARKINSON'S DISEASE IN RATS: BEHAVIORAL AND HISTOPATHOLOGICAL EVIDENCES. 2011.
14. Lopez-Real A, Rey P, Soto-Otero R, Mendez-Alvarez E, Labandeira-Garcia JL. Angiotensin-converting enzyme inhibition reduces oxidative stress and protects dopaminergic neurons in a 6-hydroxydopamine rat model of Parkinsonism. J Neurosci Res. 2005;81(6):865-73.
15. Paxinos G, Watson CR, Emson PC. AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates. J Neurosci Methods. 1980;3(2):129-49.
16. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry. 1976;72(1-2):248-54.
17. Moradganjeh A, Ziai SA, Roghani M. Losartan pretreatment reduces neurodegeneration and behavioural symptoms in 6-hydroxydopamine induced unilateral rat model of Parkinson's disease. Pathophysiology. 2013;20(4):243-8.
18. Rezaei M, Nasri S, Roughani M, Niknami Z, Ziai SA. Peganum Harmala L. Extract Reduces Oxidative Stress and Improves Symptoms in 6-Hydroxydopamine-Induced Parkinson's Disease in Rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR. 2016;15(1):275.
19. Salar F, Ziai S, Nasri S, Roghani M, Kamalinejad M. Neuroprotective Effect of Aqueous Extract of Berberis vulgaris L. in a Model of Parkinson's Disease in Rat. Journal of medicinal plants. 2010;4(36):24-33.
20. Glinka Y, Gassen M, Youdim M. Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity. Advances in Research on Neurodegeneration: Springer; 1997. p. 55-66.
21. Fejes S, Blazovics A, Lemberkovics E, Petri G, Sz''oke E, Kery A. Free radical scavenging and membrane protective effects of methanol extracts from Anthriscus cerefolium L. (Hoffm.) and Petroselinum crispum(Mill.) nym. ex A.W. Hill. Phytother Res. 2000;14(5):362-5.
22. Nielsen SE, Young JF, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Sandstrom B, et al. Effect of parsley (Petroselinum crispum) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects. Br J Nutr. 1999;81(6):447-55.
23. Afanas'ev IB, Dorozhko AI, Brodskii AV, Kostyuk VA, Potapovitch AI. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. Biochem Pharmacol. 1989;38(11):1763-9.
24. Dartsch PC. The potential of Asparagus-P to inactivate reactive oxygen radicals. Phytother Res. 2008;22(2):217-22.
25. Vora SR, Patil RB, Pillai MM. Protective effects of Petroselinum crispum (Mill) Nyman ex A. W. Hill leaf extract on D-galactose-induced oxidative stress in mouse brain. Indian J Exp Biol. 2009;47(5):338-42.
26. Sonsalla PK, Coleman C, Wong L-Y, Harris SL, Richardson JR, Gadad BS, et al. The angiotensin converting enzyme inhibitor captopril protects nigrostriatal dopamine neurons in animal models of parkinsonism. Experimental neurology. 2013;250:376-83.
27. Jenkins TA, Wong JY, Howells DW, Mendelsohn FA, Chai SY. Effect of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition on striatal dopamine content in the MPTP-treated mouse. J Neurochem. 1999;73(1):214-9.
28. Kurosaki R, Muramatsu Y, Kato H, Watanabe Y, Imai Y, Itoyama Y, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor perindopril on interneurons in MPTP-treated mice. Eur Neuropsychopharmacol. 2005;15(1):57-67.
29. Labandeira-Garcia JL, Rodriguez-Pallares J, Dominguez-Meijide A, Valenzuela R, Villar-Cheda B, Rodríguez-Perez AI. Dopamine-Angiotensin interactions in the basal ganglia and their relevance for Parkinson's disease. Movement Disorders. 2013;28(10):1337-42.
30. Grendling K, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD (P) H oxidase: Role in cardiovascular biology and diseases. Circ Res. 2000;86:494-501.
31. Babior BM. NADPH oxidase: an update. Blood. 1999;93(5):1464-76.
32. Babior BM. NADPH oxidase. Curr Opin Immunol. 2004;16(1):42-7.
33. Münzel T, Keaney JF. Are ACE inhibitors a "magic bullet" against oxidative stress? Circulation. 2001;104(13):1571-4.
34. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1990;87(4):1620-4.
35. Chabrashvili T, Kitiyakara C, Blau J, Karber A, Aslam S, Welch WJ, et al. Effects of ANG II type 1 and 2 receptors on oxidative stress, renal NADPH oxidase, and SOD expression. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2003;285(1):R117-R24.
36. Blum D, Torch S, Nissou M-F, Verna J-M. 6-Hydroxydopamine-induced nuclear factor-kappaB activation in PC12 cells. Biochemical pharmacology. 2001;62(4):473-81.
37. Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Gomez-Guerrero C, Tomino Y, Egido J. Angiotensin II, the immune system and renal diseases: another road for RAS? Nephrology Dialysis Transplantation. 2003;18(8):1423-6.
38. Yanagitani Y, Rakugi H, Okamura A, Moriguchi K, Takiuchi S, Ohishi M, et al. Angiotensin II type 1 receptor–mediated peroxide

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-27]

production in human macrophages. Hypertension. 1999;33(1):335-9.
39. Qin L, Liu Y, Wang T, Wei S-J, Block ML, Wilson B, et al. NADPH oxidase mediates lipopolysaccharide-induced neurotoxicity and proinflammatory gene expression in activated microglia. Journal of Biological Chemistry. 2004;279(2):1415-21.
40. Blais C, Marc–Aurèle J, Simmons WH, Loute G, Thibault P, Skidgel RA, et al. Des-Arg 9-bradykinin metabolism in patients who presented hypersensitivity reactions during hemodialysis: role of serum ACE and aminopeptidase P. Peptides. 1999;20(4):421-30.
41. Jenkins TA, Mendelsohn FA, Chai SY. Angiotensin-Converting Enzyme Modulates Dopamine Turnover in the Striatum. Journal of neurochemistry. 1997;68(3):1304-11.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-27]