

بررسی اثرات فرولا اسزوویتیسانا (Ferula szowitsiana L.) بر پارامترهای سیستم آنتی اکسیدانی در هیپوکامپ رت‌های نر به دنبال القاء بیماری مالتیپل اسکلروزیس

سمیه عبدی^۱، حمیرا حاتمی نعمتی^{*}^۱، رقیه خاکپایی^۱، غلامرضا دهقان^۱

(۱) گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده‌ی علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۷

چکیده

مقدمه: استرس اکسیداتیو، نتیجه عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی اکسیدانی بدن می‌باشد. افزایش استرس اکسیداتیو در مغز موجب اختلال در فعالیت‌های مغزی، مرگ نورون‌ها و بیماری‌هایی چون مالتیپل اسکلروزیس (MS) می‌شود. در این مطالعه، اثر حفاظتی گیاه فرولا اسزوویتیسانا در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون بطنی مغزی اتیدیوم بروماید بررسی شد.

مواد و روش‌ها: با تزریق مستقیم سم اتیدیوم بروماید (۰/۰۱٪) به ناحیه ی CA1 تشکیلات هیپوکامپی القای MS صورت گرفت. یک هفته بعد از القای MS گروه‌های تیمار عصاره‌ی الكلی فرولا اسزوویتیسانا را به صورت ریزتزریق و به مدت ۳ روز و با دو دوز ۵ و ۱۰ µg/rat دریافت کردند. در خاتمه، از هیپوکامپ نمونه برداری شد و شاخص‌های استرس اکسیداتیو سنجش شدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد.

یافته‌های پژوهش: تزریق داخل هیپوکامپی سم اتیدیوم بروماید به طور معنی‌داری موجب افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی ($P < 0.001$) و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD و کاهش فعالیت CAT ($P < 0.01$) گردید. تزریق موضعی کوتاه مدت عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسانا موجب تعدیل و کاهش قابل توجه ظرفیت تام آنتی اکسیدانی ($P < 0.001$) و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ($P < 0.01$) به میزان نرمال گردید.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تزریق موضعی سم اتیدیوم بروماید موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد. عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسانا به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی احتمالاً از طریق رویدن گونه‌های باز فعال اکسیژن و پاک‌سازی محیط سلول‌ها از رادیکال‌های آزاد، سبب تعدیل شاخص‌های استرس اکسیداتیو می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، مالتیپل اسکلروزیس، فرولا اسزوویتیسانا

* نویسنده مسئول: گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده‌ی علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

Email: homeirahatami@yahoo.com

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

مغز می‌باشد (۸). پر اکسیداسیون لیپیدهای غشا منجر به تولید فسفو لیپیدهای اکسید شده (Ox- PL) و آلدئیدهای باز فعال می‌گردد که نفوذنیزیری سد خونی - مغزی را افزایش می‌دهند (۹). استرس اکسیداتیو و ROS در تشکیل و ماندگاری فعالیت MS مشارک است دارند. تغییرات عمیق پروتئین‌های زنجیره‌ی تنفسی میتوکندریایی و حذف DNA میتوکندریایی در نورون- های ضایعات فعال MS در مراحل پیشرفته‌ی بیماری مشاهده می‌شود (۱۰، ۱۱).

نخستین سد دفاعی سلول‌های بدن در مقابل استرس اکسیداتیو، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)، و آنتی اکسیدان- های غیر آنزیمی مانند توکوفرول، اسید اوریک، بتا کاروتون و بیلی روین می‌باشند (۱۱). مطالعات اخیر نشان دادند که آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز SOD و کاتالاز CAT از طریق حفاظت متعییر در برابر گونه‌های باز فعال اکسیژن، نقش اساسی در پاتوژن MS ایفا می‌کنند (۱۲).

فرولا یکی از جنس‌های خانواده چتریان بوده که اغلب در نواحی با آب و هوای خشک رشد می‌کند. فرولا گونه‌هایی از گیاهان علفی بلند با ارتفاع ۴ - ۶ متر است که آرایش برگ‌های آن سوزنی شکل و گل- های زرد آن بر روی گل آذین‌های چتری قرار گرفته‌اند (۱۳). فرولا اسزوویتیسیانا یکی از گونه‌های این جنس است که در کشورهای ایران، ترکیه و افغانستان بومی می‌باشد. اثرات متنوعی از فعالیت‌های بیولوژیکی و فارماکولوژیکی عصاره یا ترکیبات خالص جدا شده از فرولا اسزو ویتیسیانا توسط بسیاری از محققان گزارش شده است که شامل خواص ضدسرطان، آنتی اکسیدانت، خذالت‌هایی و فعالیت‌های آنتی‌بیوتیک می‌باشد (۱۴، ۱۵، ۱۶). اسانس‌ها و عصاره‌ها، از قسمت‌های هوایی گیاه، برگ‌ها و ساقه‌های فرولا اسزو ویتیسیانا به دست آمد. از مهم ترین اجزای عصاره گیاه فرولا اسزوویتیسیانا گالبانیک اسید، اوراپتن و آمیلی پرنین می‌باشند که هر کدام خواص مربوط به خود را دارند (۱۷). اوراپتن تخلیص شده از فرولا اسزوویتیسیانا علاوه بر مهار سرطان شیمیایی می‌تواند تولید آنیون- های سوپر اکساید (۰^۲) لوکوسیت‌های التهابی را مهار

مالتیپل اسکلرrozیس MS یکی از بیماری‌های التهابی مزمن دستگاه اعصاب مرکزی CNS است که با میزان متغیری از تحلیل آکسونی و نورونی باعث ایجاد پلاک‌های کانونی دمیلینه می‌شود (۱). التهاب، دمیلیناسیون، استرس اکسیداتیو، آسیب آکسونی و مکانیسم‌های ترمیمی از جمله فرآیندهای پاتوفیزیولوژیکی این بیماری می‌باشد (۲).

ماکروفازهای مستقر در CNS سلول‌های میکروگلیا هستند که در پاسخ‌های ایمنی و التهابی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. این سلول‌ها در شرایط نوروباتولوژیک برای حفظ همواستاز سیستم اعصاب مرکزی فعال می- شوند. میکروگلیاهای فعال شده با آزادسازی فاکتورهای پیش التهابی و سیتوکسیک نظیر فاکتور نکروز دهنده تومور‌آلفا (TNF- α)، اینترلوکین ۱ - بتا (IL-1 β)، اینترلوکین ۶ (IL-6)، نیتریک اکساید (NO) و گونه‌های باز فعال اکسیژن (ROS) منجر به آسیب نورون‌ها می- شوند (۳). افزایش سایتوکاین‌های التهابی همچون TNF- α ، موجب افزایش ROS شده و شرایط ایجاد استرس اکسیداتیو را فراهم می‌آورد (۴). بیماری MS نه تنها توسط واکنش‌های التهابی با واسطه‌ی سیستم ایمنی، بلکه توسط فرآیندهای تحلیل برنده‌ی عصبی نیز مشخص می‌شود. مطالعات انجام شده نشان داد، که استرس اکسیداتیو نقش مهمی در این فرآیندها ایفا می‌کند (۲).

استرس اکسیداتیو، نتیجه‌ی عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی اکسیدانی بدن است (۵). رادیکال‌های آزاد مانند گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر ROS موجب تغییرات اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شوند (۶). افزایش سطح ROS منجر به آسیب به ماکرومولکول‌های داخل سلول مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA و آسیب‌های پاتولوژیکی می‌شود (۷). بافت عصبی به دلیل داشتن مقدار زیادی فسفو لیپید و اسید چرب اشباع نشده و میزان بالای متابولیسم، به آسیب ایجاد شده توسط استرس اکسیداتیو بسیار حساس است و به نظر می‌رسد که افزایش استرس اکسیداتیو از عوامل مهم تأثیرگذار در تغییر ساختار و عملکرد صحیح

اخلاقی و ثبت شده بین المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

گروه‌بندی:

رتهای به طور تصادفی به پنج گروه شش‌تایی ذیل تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل سالم، ۲- گروه شاهد (سالین)، ۳- گروه اتیدیوم بروماید (0.01%) + سالین، ۴- گروه اتیدیوم بروماید (0.01%) + عصاره‌ی الکلی فرولا اسزوویتسیانا با دوز $5\text{ }\mu\text{g/rat}$ ، ۵- گروه اتیدیوم بروماید (0.01%) + عصاره‌ی الکلی فرولا اسزوویتسیانا با دوز $10\text{ }\mu\text{g/rat}$.

جراحی و تزریقات:

در گروه کنترل هیچ گونه تزریقی انجام نشد. در گروه شاهد، رتهای به صورت عمیق با تزریق داخل صفاتی کتامین (100 mg/kg) و زایلازین (5 mg/kg) بیهوده و در دستگاه استرئوتاکس (Stoelting, USA) در موقعیت جمجمه مسطح مستقر و سپس جراحی شدند ($20, 21$). بعد از دوره بیهودی تزریق دو طرفه‌ی حلال (سالین) به مدت سه روز انجام شد. در گروه سوم به منظور القای MS، بعد از انجام جراحی و طی دوره‌ی بیهودی، دمیلیناسیون با تزریق دو طرفه‌ی سم اتیدیوم بروماید (محلول 10 mg/ml در سالین 0.9% استریل) در حجم 1 ml و با سرعت 1 میکرولیتر در دقیقه به داخل ناحیه‌ی CA₁ تشکیلات هیپوکامپی، بر اساس مختصات ذکر شده دراطلس پاکسینوس القاء شد ($AP=-3/8$; $ML=\pm 2/2$; $DV=+2/7$) و به عنوان مدل‌های تجربی MS مورد مطالعه قرار گرفتند ($20, 22$).

رتهای گروه‌های تیمار با فرولا اسزوویتسیانا (گروه‌های 4 و 5)، بعد از انجام جراحی و گذراندن دوره بیهودی، یک هفته بعد از القای مدل تجربی MS، عصاره‌ی فرولا اسزوویتسیانا را با دوزهای $5\text{ }\mu\text{g/rat}$ و $10\text{ }\mu\text{g/rat}$ به مدت 3 روز و به صورت ریزتریق دریافت نمودند. عصاره‌ی الکلی فرولا اسزوویتسیانا به صورت محلول در سالین 0.9% استریل و در حجم 3 ml میکرولیتر در دقیقه به صورت دو طرفه به تشکیلات هیپوکامپ (ناحیه‌ی CA₁) تزریق شد. تمام تزریق‌ها در فاصله قبل از ظهر انجام می‌شد ($21, 23, 24$).

کند (18). همچنین در مطالعاتی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اوراپتن و آمبیلیپرنین گزارش شده است ($14, 18$).

حاصل مجموع تحقیقات انجام شده این است که فرولا اسزوویتسیانا به عنوان یک ماده‌ی آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی از طریق تعديل شاخص‌های استرس اکسیدانتیو، آسیب‌های ناشی از بار اکسیدانتیو افزایش یافته را بهبود می‌بخشد. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی تأثیر ریزتریق کوتاه‌مدت عصاره‌ی الکلی فرولا اسزوویتسیانا بر شاخص ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل SOD و CAT در هیپوکامپ مدل‌های تجربی MS می‌باشد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری:

فرولا اسزوویتسیانا مورد استفاده در این مطالعه از استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری شد. برای تهیه عصاره ابتدا ریشه‌ی فرولا اسزوویتسیانا با استفاده از آسیاب مکانیکی پودر گردید. سپس با استفاده از حلال اتانولی فرولا، عصاره‌گیری به روش سوکسله انجام شد. در این روش عصاره‌گیری، 10 g پودر ریشه فرولا در $300\text{ میلی لیتر اتانول}$ 80% به مدت سه روز خیسانده شد. پس از صاف کردن محلول به دست آمده با صافی، حلال توسط دستگاه اوپوراتور تحت خلاء و در دمای $60-50^\circ\text{C}$ حذف شد. عصاره به دست آمده تا زمان انجام آزمایش در دمای زیر صفر درجه نگه داری شد (19).

حیوانات:

در مطالعه‌ی حاضر، تعداد 30 سررت نر نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی ($250 \pm 50\text{ g}$) از حیوان خانه پاستور تهران خریداری شد و به آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده‌ی علوم دانشگاه تبریز منتقل شدند. رتهای به مدت دو هفته برای رسیدن به حالت پایه و رفع استرس در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش، دمای محل نگهداری رتهای برابر با 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد بود و همچنین رتهای در شرایط سیکل روشنایی- تاریکی 12 ساعته ($7\text{ آفتاب} / 7\text{ شب}$) در حالی که دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند، نگهداری می‌شدند. کلیه آزمایشات روی حیوانات با رعایت اصول

نمونه برداری:

بدین منظور، از بافر تریس- هیدروکلرید ۴۵ میلی مولار با $8/2$ میلی مولار و EDTA $1/2$ میلی مولار استفاده گردید. ۱ میلی لیتر از بافر تریس- هیدروکلرید حاوی EDTA با 50 میکرولیتر سوپرناتانت مخلوط شده و در داخل دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار گرفت و جذب دستگاه در طول موج 420 نانومتر صفر گردید، سپس 50 میکرولیتر محلول پیروگالول به محلول فوق اضافه شده و سریعاً جذب تا دو دقیقه هر 15 ثانیه در طول موج 420 نانومتر خوانده شد. برای اندازه‌گیری اتواسیداسیون پیروگالول به تنهایی، به جای سوپرناتانت، 50 میکرولیتر آب مقطّر اضافه گردید و به ترتیب فوق، جذب در طول موج 420 نانومتر خوانده شد و با استفاده از اعداد به دست آمده درصد فعالیت آنزیم محاسبه شد. میزان فعالیت آنزیم SOD به صورت درصد مهارکنندگی آنزیم بیان شده است (۲۷).

فعالیت کاتالاز بر اساس توانایی آن در تجزیه H_2O_2 به روش Obinger و همکاران تعیین گردید. تجزیه H_2O_2 با کاهش جذب در طیف جذبی 240 نانومتر قابل بررسی است. محلول سنجش محتوی 3 میلی لیتر بافر سیترات- فسفات- بورات ($PH = 7$)، 26 میکرولیتر هیدروژن پراکسید ($11/8$ mM) و 50 میکرولیتر از عصاره (محلول هموژنات هیپوکامپ) بود. هر واحد از فعالیت کاتالاز نشان دهنده یک میکرومول از هیدروژن پراکسید تجزیه شده در هر دقیقه می‌باشد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب $/ mg protein / min$ μmol بیان شده است (۲۸).

در بررسی حاضر، داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین ($Mean \pm S.E.M.$) ارائه شده‌اند. جهت مقایسه‌ی گروه‌ها با یکدیگر و تشخیص معنی‌دار بودن تفاوت بین گروه‌های مورد آزمایش، از روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و با آزمون تعقیبی Student-newman keuls تفاوت میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. تمامی آنالیزهای آماری، توسط نرم افزار Instat3 صورت پذیرفت.

یک هفته پس از اتمام دوره تیمار، تمامی رت‌ها با تزریق داخل صفاقی کتابمین (100mg/kg) و زیالازین (5mg/kg) بیهوش شدند (۲۰). سپس سر توسط گیوتین جدا شد و بلافارسله مغز و هیپوکامپ خارج گردیده و توسط سالین $9/0$ ٪ استریل سرد شست و شو داده شد. هیپوکامپ جدا شده بلافارسله در نیتروژن مایع فریز گردید و در پایان کار به فریزر -80 درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شده و تا زمان تهیه هموژن در آن نگهداری شد (۲۵، ۲۰). به منظور تهیه هموژن روی هر یک از نمونه‌ها محلول سرد $KCl 1/15\%$ با نسبت $(w/v) 1:10$ اضافه گردید. سپس با استفاده از هموژن‌نایزر مکانیکی هموژن بافت‌های هیپوکامپ تهیه گردید و بعد از سانتریفوژ کردن در دور $g 20000$ به مدت 10 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، محلول روی استخراج شد تا برای آنالیز بیوشیمیابی مورد استفاده قرار گیرد (۲۵). میزان پروتئین کل در محلول‌های رویی توسط روش برادفورد و با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (۲۵).

سنچش آنزیمی:

اندازه‌گیری فعالیت کل آنتی‌اکسیدانی با استفاده از FRAP، بر اساس متد Benzie & Strain (1999) و با کمی تغییرات انجام گرفت. اساس این روش، توانایی ماده‌ی مورد نظر در احیای بیون‌های فریک (Fe^{3+}) به فرو (Fe^{2+}) با استفاده از معرفی به نام TPTZ می‌باشد. در حضور آنتی‌اکسیدان بیون‌های TPTZ فریک به فرو احیا می‌شود و در حضور معرف FRAP محلول به رنگ بنفش در می‌آید. محلول FRAP از بافر سریم استات $3/6$ مولار با $PH = 3/6$ ، محلول TPTZ $0/01$ مولار در اسید کلریدریک $0/04$ مولار و کلرید آهن $0/02$ مولار با نسبت‌های حجمی $1:1:1$ تشکیل شده است. $1/5$ میلی لیتر از محلول FRAP با 50 میکرولیتر از سوپرناتانت مخلوط گردید و جذب نوری آن در طول موج 593 نانومتر تعیین شد. مقدار FRAP بر حسب $Fe^{2+} / L mmol$ بیان شده است (۲۶).

برای سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسیدیسموتاز (SOD) از روش اتواسیداسیون پیروگالول استفاده شد.

مذکور مشاهده نشد. همچنین آزمون آماری نشان داد که در مقادیر FRAP، بین گروههای کنترل سالم (C) و (Sham) و گروههای تحت تیمار با عصاره فرولا اسزوویتیسیانا (ER3R+D10F) و (ER3R+D5F) تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.001$) (نمودار ۱). میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز SOD در هیپوکامپ حیوانات گروههای آزمایشی در نمودار ۲ نشان داده شده است. این نمودار نتایج سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برای ارزیابی میزان فعالیت آکسیدانی این آنزیم در هیپوکامپ رت‌های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید و رت‌های دمیلینه شده تحت تیمار کوتاه مدت عصاره فرولا اسزوویتیسیانا قرار گرفته‌اند، را نشان می‌دهد. گروههای آزمایشی شامل: C: گروه کنترل، Sham: گروه شاهد، ER3R: گروه اتیدیوم بروماید+ سالین، ER3R+D5F: گروه اتیدیوم بروماید+ عصاره کلی فرولا اسزوویتیسیانا با دوز $10\text{ }\mu\text{g/rat}$ نشان داده شده اند. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین بیان شده (در هر گروه $n=6$) و اختلاف معنی دار بین گروههای آزمایشی با علامت *، #، & و \$ نشان داده شده است. علامت \\$ اختلاف معنی دار بین گروههای C و Sham با ER3R را نشان می‌دهد. علامت * اختلاف معنی دار بین گروه ER3R و گروه ER3R+D5F را نشان می‌دهد. علامت # اختلاف معنی دار بین گروههای ER3R و گروه ER3R+D10F را نشان می‌دهد ($P < 0.001$). علامت & اختلاف معنی دار بین گروههای ER3R+D5F و ER3R+D10F را نشان می‌دهد. علامت MS اکسیدانی SOD در مدل‌های تجربی (گروه MS) در مقایسه با گروههای کنترل سالم (گروههای ER3R و Sham) به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.01$). تزریق داخل هیپوکامپی عصاره فرولا اسزوویتیسیانا با دو دوز $5\text{ }\mu\text{g/rat}$ و $10\text{ }\mu\text{g/rat}$ فعالیت آنزیم SOD را به صورت وابسته به دوز به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0.001$). این آنزیم در گروه ۵ (ER3R+D10F) کاهش بیشتری را نسبت به گروه ۴ (ER3R+D5F) نشان داد (داد $P < 0.05$). همچنین

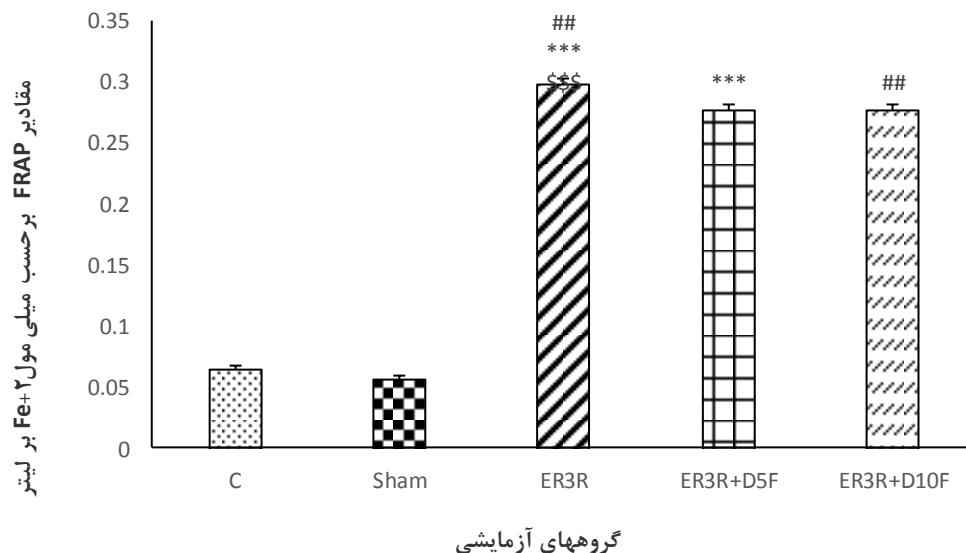
یافته‌های پژوهش

القای دمیلیناسیون تجربی توسط سم اتیدیوم بروماید شاخص‌های استرس اکسیدانیو از جمله ظرفیت آنتی-اکسیدانی تام و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز را تحت تأثیر قرار داد. اثر تزریق داخل هیپوکامپی سم اتیدیوم بروماید بر ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در نمودار ۱ مشخص است. این نمودار نتایج سنجش میزان FRAP برای ارزیابی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در هیپوکامپ رت‌های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید و رت‌های دمیلینه شده-ای که تحت تیمار کوتاه مدت عصاره فرولا اسزوویتیسیانا قرار گرفته‌اند، را نشان می‌دهد در این نمودار گروههای آزمایشی شامل: C: گروه کنترل، Sham: گروه شاهد، ER3R: گروه اتیدیوم بروماید+ سالین، ER3R+D5F: گروه اتیدیوم بروماید+ عصاره کلی فرولا اسزوویتیسیانا با دوز $5\text{ }\mu\text{g/rat}$ ، ER3R+D10F: گروه اتیدیوم بروماید+ عصاره کلی فرولا اسزوویتیسیانا با دوز $10\text{ }\mu\text{g/rat}$ نشان داده شده است. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین بیان شده (در هر گروه $n=6$) و اختلاف معنی دار بین گروههای آزمایشی با علامت *، # و \$ نشان داده شده است. علامت \\$ اختلاف معنی دار بین گروه‌های C و Sham با ER3R را نشان می‌دهد. علامت * اختلاف معنی دار بین گروههای ER3R و ER3R+D5F را نشان می‌دهد. علامت # اختلاف معنی دار بین گروههای ER3R و ER3R+D10F را نشان می‌دهد. همانگونه که در نمودار ۱ نشان داده شده است؛ ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در مدل‌های کنترل (گروه ER3R) در مقایسه با گروههای MS سالم (گروههای C و Sham) به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.001$). ریز تزریق عصاره کلی فرولا اسزوویتیسیانا با دو دوز $5\text{ }\mu\text{g/rat}$ و $10\text{ }\mu\text{g/rat}$ ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی را به طور معنی داری به میزان طبیعی آنها نزدیک کرد (گروههای ER3R+D10F و ER3R+D5F) ($P < 0.01$). پارامتر FRAP در گروه ۴ (ER3R+D5F) کاهش بیشتری را نسبت به گروه ۵ (ER3R+D10F) نشان داد اما به لحاظ آماری تفاوت معنی داری بین دو گروه

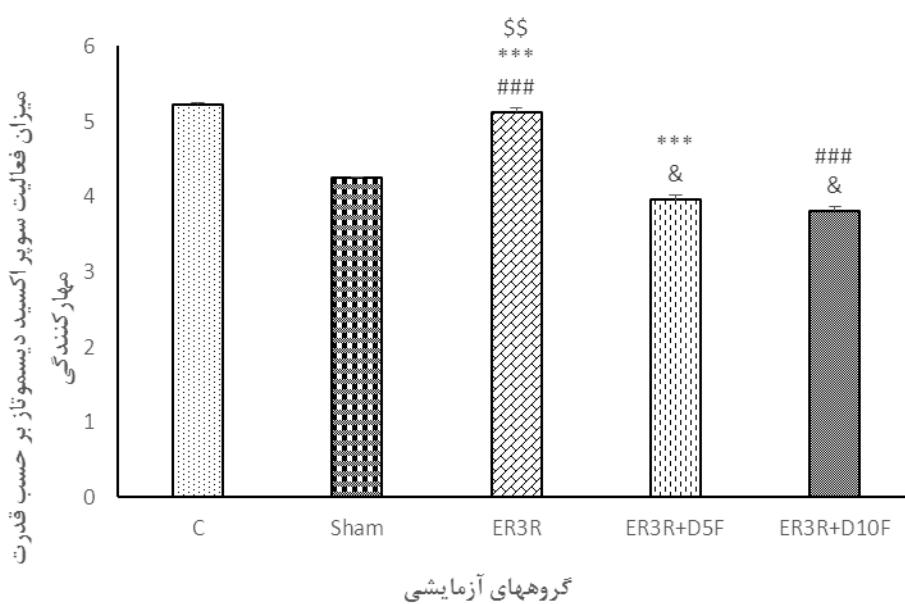
بررسی اثرات فرولا اسزوویتسیانا (*Ferula szowitsiana* L.) بر پارامترهای ... سمیه عبدی و همکاران

سالم (C) و Sham (نمدار ۲).

بررسی آماری نشان داد که فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی SOD در مدل های تجربی MS دریافت کنندهی عصاره فرولا اسزوویتسیانا با دوز $5\mu\text{g}/\text{rat}$ (گروه ER3R+D5F) تفاوت معنی داری با گروه های کنترل



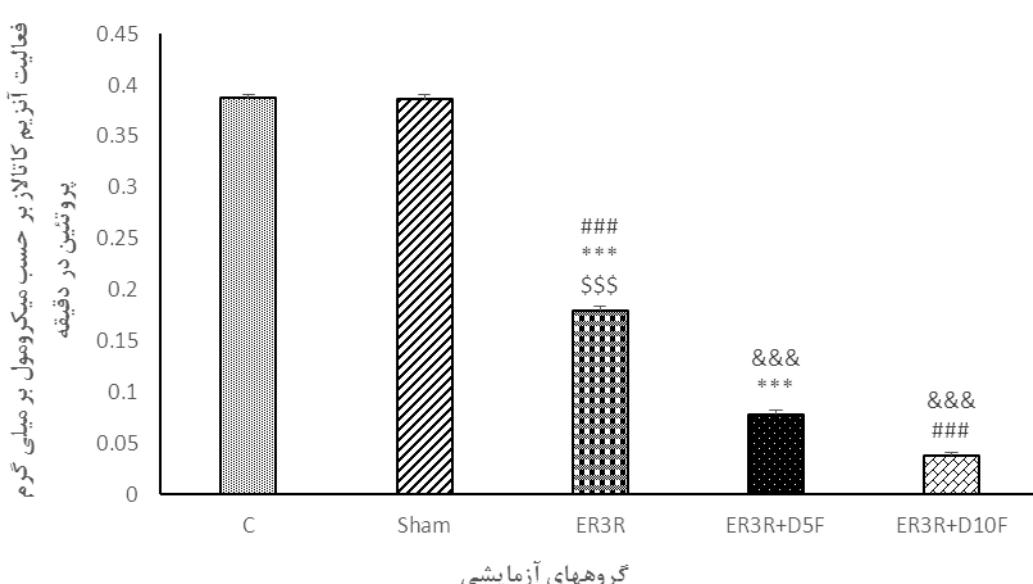
نمودار ۱. نتایج سنجش میزان FRAP برای ارزیابی ظرفیت تمام آنتی اکسیدانی در هیپوکامپ رت های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید و رت های دمیلینه شده ای که تحت تیمار کوتاه مدت عصاره فرولا اسزوویتسیانا قرار گرفته اند.



نمودار ۲. نتایج سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی این آنزیم در هیپوکامپ رت های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید و رت های دمیلینه شده ای که تحت تیمار کوتاه مدت عصاره فرولا اسزوویتسیانا قرار گرفته اند.

& اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های ER3R+D5F و ER3R+D10F را نشان می‌دهد. فعالیت آنزیم آنتی-اکسیدانی کاتالاز در مدل‌های تجربی MS (گروه (ER3R) در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم (گروه‌های Sham C و Sham) به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.001$). تزریق داخل هیپوکامپ عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا با دو دوز $5 \mu\text{g}/\text{rat}$ و $10 \mu\text{g}/\text{rat}$ میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را به صورت وابسته به دوز به طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.001$). این آنزیم در گروه ۵ (ER3R+D10F) کاهش بیشتری را نسبت به گروه ۴ (ER3R+D5F) نشان داد ($P < 0.001$). همچنین بررسی آماری تفاوت معنی‌داری را در فعالیت آنزیم آنتی-اکسیدانی کاتالاز در مدل‌های تجربی MS دریافت کننده‌ی عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا با دوز $5 \mu\text{g}/\text{rat}$ و $10 \mu\text{g}/\text{rat}$ با گروه‌های کنترل سالم (Sham C و Sham) نشان داد ($P < 0.001$) (نمودار ۳). این نتایج بیان می‌کنند که ریزتزریق عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا به مدت سه روز، از طریق تعديل شاخص‌های بیوشیمیابی استرس اکسیداتیو، آسیب اکسیداتیو القاء شده توسط سم اتیدیوم بروماید را در مدل‌های تجربی MS بهبود بخشید.

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هیپوکامپ حیوانات گروه‌های آزمایشی در نمودار ۳ نشان داده شده است. این نمودار نتایج سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی این آنزیم در هیپوکامپ رت‌های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید و رت‌های دمیلینه شده‌ای که تحت تیمار کوتاه مدت عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا قرار گرفته‌اند، را نشان داده است. گروه‌های آزمایشی شامل: C : گروه کنترل، Sham : گروه شاهد، ER3R : گروه اتیدیوم بروماید+ سالین، ER3R+D5F : گروه اتیدیوم بروماید+ عصاره‌ی الكلی فرولا اسزوویتیسیانا با دوز $5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ER3R+D10F : گروه اتیدیوم بروماید + عصاره‌ی الكلی فرولا اسزوویتیسیانا با دوز $10 \mu\text{g}/\text{rat}$ نشان داده شده‌اند. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین بیان شده (در هر گروه $n=6$) و اختلاف معنی-دار بین گروه‌های آزمایشی با علامت *، #، & و \\$ نشان داده شده است. علامت \\$ اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های C و Sham با ER3R را نشان می‌دهد. علامت * اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های ER3R و ER3R+D5F را نشان می‌دهد. علامت # اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های ER3R و گروه ER3R+D10F را نشان می‌دهد ($P < 0.001$). علامت && و &&& نمودار ۳. نتایج سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی این آنزیم در هیپوکامپ رت‌های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید و رت‌های دمیلینه شده‌ای که تحت تیمار کوتاه مدت عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا قرار گرفته‌اند.



نمودار ۳. نتایج سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی این آنزیم در هیپوکامپ رت‌های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید و رت‌های دمیلینه شده‌ای که تحت تیمار کوتاه مدت عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا قرار گرفته‌اند.

بحث و نتیجه گیری

در این بررسی تأثیر تزریق داخل هیپوکامپی گلیوتوكسین اتیدیوم بروماید و نیز تأثیر ریز تزریق کوتاه مدت عصاره الکلی فرولا اسزوویتسیانا با دو دوز متفاوت، روی تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو در نمونه‌های تجربی مالتیپل اسکلروزیس مطالعه و بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق موضعی سم اتیدیوم بروماید به تشکیلات هیپوکامپی (CA1)، باعث افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز در مدل‌های تجربی MS گردید (نمودار ۱، ۲، گروه ۳). تزریق مستقیم سم اتیدیوم بروماید به تشکیلات هیپوکامپی باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در مدل‌های تجربی MS گردید (نمودار ۳، گروه ۴). بر اساس یافته‌ها و نتایج تحقیق حاضر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره الکلی فرولا اسزوویتسیانا شاخص‌های افزایش یافته‌ی استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق موضعی اتیدیوم بروماید را تعدیل نمود. همچنین تیمار فرولا اسزوویتسیانا موجب کاهش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی کاتالاز در مدل‌های تجربی MS گردید.

در مطالعه عبدالسلام و همکاران، تزریق موضعی سم اتیدیوم بروماید موجب کاهش معنی‌دار ظرفیت کل آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گردید (۲۹). کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در پلاسمای رت‌های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید نیز گزارش شده است. نتایج بدست آمده مطالعه حاضر از ظرفیت کل آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز با نتایج تحقیقات دیگر محققان همخوانی ندارد. تفاوت در جنس و گونه حیوانات مورد بررسی، مدت زمان آزمایش و حجم دوز اتیدیوم بروماید تزریقی از جمله علل احتمالی تناقض موجود بین نتایج مطالعه‌ی حاضر با یافته‌های بررسی‌های فوق می‌باشد. تزریق داخل مغزی و یا داخل نخاعی سم اتیدیوم بروماید به طور گستره‌های برای القای دمیلیناسیون سمی در جوندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ که می‌توان از آن برای مطالعه‌ی مکانیسم‌های پاتوژنیک دخیل در تخریب میلین و نیز ارزیابی مداخلات درمانی احتمالی بهره برد (۳۰). با این که

مکانیسم‌های متفاوتی در دمیلیناسیون و نورودژنراسیون بیماری MS رخ می‌دهند؛ اخیراً مشخص شده است که آسیب میتوکندریایی و متعاقب آن کمبود انزیمی، یکی از فاکتورهای مهم زمینه ساز آسیب بافتی است (۱). همان‌طور که در بخش مقدمه ذکر گردید؛ مطالعاتی که بر روی لیژن‌های فعل MS انجام شده است، حاکی از تغییرات اساسی پروتئین‌های زنجیره‌ی تنفسی میتوکندریایی و حذف DNA میتوکندریایی در نورون‌ها، به ویژه در مراحل پیشرفته‌ی بیماری می‌باشد. پروتئین‌ها و DNA میتوکندریایی نسبت به آسیب اکسیداتیو به شدت حساس می‌باشند (۱۰، ۱۱). لذا به نظر می‌رسد تغییرات میتوکندریایی ناشی از آسیب اکسیداتیو منجر به افزایش تولید اندوژن گونه‌های باز فعل اکسیژن (ROS) می‌شود که این روند خود- تقویتی ممکن است به پیشبرد فرآیند نورودژنراسیون در MS کمک کند (۳۱). ROS نقش فیزیولوژیک مهمی را در بیشتر فرآیندهای تنظیمی سلولی ایفا می‌کند. با این حال زمانی که سرعت تولید رادیکال‌های آزاد از ظرفیت آنتی اکسیدانی سلولی تجاوز می‌کند، استرس اکسیداتیو اتفاق می‌افتد که متعاقباً منجر به آسیب القایی با ROS به ماکرومولکول‌ها نظیر لیپیدهای غشاء‌ی، پروتئین‌های ضروری و نوکلئوتیدها می‌شود (۳۱، ۱۰).

در استرس اکسیداتیو نوعی مکانیسم سازشی فعلی شود که به حفاظت سلول‌ها در برابر سمیت با واسطه‌ی ROS و حفظ تعادل اکسایشی بافت کمک می‌کند. این پاسخ به استرس به دلیل افزایش بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اندوژن می‌باشد. در واقع، مطالعات اخیر نشان می‌دهند که بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در لیژن‌های التهابی و دمیلینه‌ی MS، به شدت افزایش پیدا می‌کند (۳۱، ۱۰).

رونویسی از ژن بیشتر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از طریق یک فاکتور رونویسی موسوم به فاکتور هسته‌ای وابسته به E2 (Nrf2) و عناصر پاسخگر آنتی اکسیدانی (ARE)، در ژن‌های کد کننده‌ی این آنزیم‌ها تنظیم می‌شود. تحت شرایط فیزیولوژیک، Nrf2 به صورت چسیده به پروتئینی موسوم به Keap1 که خود به اکتین متصل است، در سیتوپلاسم جای دارد؛ ولی در شرایط استرس اکسیداتیو Nrf2 از Keap1 جدا شده و

اکسیژن می‌شود که آن نیز به نوبه‌ی خود نیاز به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را کاهش می‌دهد. نکته‌ی مهمی که باید به آن اشاره نمود این است که در مطالعه‌ی حاضر، زمانی که مدل‌های تحریبی MS تحت تیمار با عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا قرار گرفتند، تغییرات به وجود آمده در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خنثی گردید و حتی از مقادیر طبیعی آنها که در گروه‌ها ری کنترل و سالم رؤیت می‌گردید، کمتر شد.

نقش استرس اکسیداتیو و اختلال در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تشکیل ضایعات و پلاک‌های دمیلینه شده در بیماری MS شناخته شده است. در مطالعه‌ی حاضر استرس اکسیداتیو القاء شده با اتیدیوم بروماید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت تام آنتی‌اکسیدانی منعکس گردید که نشان‌دهنده‌ی درگیری مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی با گونه‌های باز فعال اکسیژن می‌باشد. همچنین تزریق داخل هیپوکامپی و کوتاه مدت عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا موجب تعديل و کاهش شاخص‌های فوق به کمتر از مقادیر طبیعی گردید. مطالعه حاضر برای اولین بار است که اثر عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا را بر روی سیستم عصبی مورد بررسی قرار می‌دهد ولی با توجه به مطالعاتی که قبل از این سایر سیستم‌ها و بافت‌ها صورت گرفته و خواصی که از این گیاه می‌تواند به عنوان یک نظر می‌رسد عصاره‌ی این گیاه می‌تواند به کاهش آنتی‌اکسیدان قوی با اصلاح شاخص‌های استرس اکسیداتیو از بروز عوارض MS جلوگیری کند. با توجه به نتایج حاصل، بررسی تأثیر این آنتی‌اکسیدان در نمونه‌های انسانی پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

مقاله‌ی حاضر مستخرج از پایان‌نامه‌ی دوره کارشناس ارشد می‌باشد. بدین وسیله از زحمات حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز قدردانی می‌شود.

به هسته انتقال می‌یابد و در آنجا رونویسی هماهنگ ژن‌ها با واسطه‌ی ARE را فعال می‌کند. تا کنون بیش از ۲۰۰ ژن تحت کنترل Nrf2-ARE شناسایی شده است که در سمزدایی و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی مشارکت دارند که از ان جمله می‌توان به ژن‌های کننده‌ی سوپر اکسید دیسموتاز، همواکسیژناز، گلوتاتیون پروکسیداز و کاتالاز اشاره کرد (۱۰). در مطالعه‌ی حاضر نیز به نظر می‌رسد تزریق مستقیم گلیوتوكسین اتیدیوم بروماید به هیپوکامپ، با القای استرس اکسیداتیو و از طریق مکانیسم‌هایی که در بالا به آن اشاره شد منجر به افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز و همچنین افزایش فعالیت کل آنتی‌اکسیدانی می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ریز تزریق عصاره‌ی الكلی فرولا اسزوویتیسیانا اختلالات به وجود آمده در شاخص‌های استرس اکسیداتیو را بهبود بخشدید. تزریق کوتاه مدت عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا به تشکیلات هیپوکامپی، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی را به نزدیک مقادیر طبیعی آن‌ها کاهش داد (نمودار ۱). عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا با دوز $5 \mu\text{g/rat}$ میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT را نیز به طور معنی‌داری کاهش داد (نمودار ۲ و ۳).

جالب توجه است که اوراپتن و آمبلیپرنین موجود در عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد. همچنین سنتر NO و بیان سیکلو اکسیژناز-۲ در سلول‌های التهابی محرک لیپوپلی ساکارید را تحریک می‌کند (۱۴، ۱۸).

آنژیم‌های آنتی‌اکسیدانی به عنوان اولین خط دفاعی علیه گونه‌های باز فعال اکسیژن در تمامی بخش‌های سلولی و نیز خارج سلولی عمل می‌کنند (۲۲). یافته‌های ما نشان داد که تزریق موضعی کوتاه مدت عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا قادر به کاهش فعالیت این آنزیم‌ها می‌باشد. این نتایج می‌تواند ناشی از این حقیقت باشد که عصاره‌ی فرولا اسزوویتیسیانا و ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدانی درون آن، منجر به کاهش گونه‌های باز فعال

References

1. Haider L, Fischer MT, Frischer JM, Bauer J, Hoftberger R, Botond G, et al. Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Brain* 2011; 134: 1914-24.
2. Miller E, Mrowicka M, Salukjuszczak J, Ireneusz M. The level of isoprostanes as a non-invasive marker for in vivo lipid peroxidation in secondary progressive multiple sclerosis. *Neurochem Res* 2011; 36:1012-6.
- 3.Nam KN, Park YM, Jung HJ, Lee JY, Min BD, Park SU, et al. Anti-inflammatory effects of crocin and crocetin in rat brain microglial cells. *Eur J Pharmacol* 2010; 648: 110-6.
- 4.Kim DY, Hao J, Liu R, Turner G, Shi FD, Rho JM. Inflammation mediated memory dysfunction and effects of a ketogenic diet in a murine model of multiple sclerosis. *PLoS One* 2012;7:35476.
- 5.Riceevans CA, Miller NJ, Paganga G. Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med* 1996; 20: 933-56.
- 6.Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J, Glutathione. oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem* 2000; 267: 4904-11.
- 7.Kiruthiga PV, Shafreen RB, Pandian SK, Arun S, Govindu S, Devi KP. Protective effect of silymarin on erythrocyte haemolysate against benzo pyrene and exogenous reactive oxygen species (H₂O₂) induced oxidative stress. *Chemosphere* 2007; 68: 1511-8.
- 8.Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Sandiego Academic Publication. 1986;P.162.
- 9.Tasset I, Aguera E, Sanchezlopez F, Feijoo M, Giraldo AI, Cruz AH, et al. Peripheral oxidative stress in relapsing remitting multiple sclerosis. *Clin Biochem* 2012;45:440-4.
- 10.Schreiber G, Horssen J, Rossum S, Dijkstra CD, Drukarch B, Vries HE. Therapeutic potential and biological role of endogenous antioxidant enzymes in multiple sclerosis pathology. *Brain Res Rev* 2007; 56: 322-30.
- 11.Scandalios J. Oxidative stress molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 995-1014.
- 12.Chi I, Lee S, Denney D, Lynch S. Lower levels of glutathione in the brains of secondary progressive multiple sclerosis patients measured by ¹H magnetic resonance chemical shift imaging at 3 T. *J Mult Scler* 2011; 17: 289-96.
13. Chen B, Teranishi R, Kawazoe K, Takaishi Y, Honda G et al. Sesquiterpenoids from Ferula kuhistanica. *Phytochemistry* 2000; 54:717-22.
- 14.Barthomeuf C, Lim S, Iranshahi M, Chollet P. Umbelliprenin from Ferula szowitsiana inhibits the growth of human M4Beu metastatic pigmented malignant melanoma cells through cell cycle arrest in G1 and induction of caspase dependent apoptosis. *Phyt Med* 2008;15:103-11.
- 15.Kohno S, Murata T, Sugiura A, Ito C, Iranshahi M, Hikita K. Methyl galbanate a novel inhibitor of nitric oxide production in mouse macrophage RAW264.7cells. *J Nat Med* 2011; 65: 353-9.
- 16.Bazzaz BSF, Du AR, Iranshahi M, Naderinasab M, Karamodin MK. [Evaluating the potentialing effect of Galbanic acid from Ferula szowitsiana on three common antibiotics against resistant hospital of *Staphylococcus aureus*]. *J Pharmacol*2009; 8: 217- 21. (Persian)
- 17.Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics. *J CA Cancer Clin* 1999; 49: 8-31.
- 18.Murakami A, Nakamura Y, Tanaka T, Kawabata K, Takahashi D, Koshimizu K, Ohigashi H. Suppression by citrus auraptene of phorbol ester and endotoxin induced inflammatory responses role of attenuation of leukocyte activation. *Carcinogenesis* 2000; 21:184350.
- 19.Mousavi SH, Tavakkolafshari J, Brook A, Jafarianarkooli I. [Role of caspases and bax protein in saffron induced apoptosis in MCF-7 cells]. *Food Chem Toxicol*2009; 47:1909-13. (Persian)
- 20.Khalili M, Hamzeh F. Effects of active constituents of crocus Sativus L., crocin on Streptozocin induced model of sporadic Alzheimers disease in male Rats. *J Iran Biomed* 2010; 14:59-65.
- 21.Goudarzvand M, Javan M, Mirnajafizadeh J, Mozafari S, Tiraihi T. [Vitamins E and D₃ attenuate demyelination and potentiate remyelination

- processes of hippocampal formation of rats following local injection of ethidium bromide]. Cell Mole Neurobiol2010;30:289-99. (Persian)
- 22.Ghaffary SH, Hataminemati H, Dehghan Gh. [Protective effects of short term administration of saffron extraction on improvement of cognitive deficits and decrement of lipid peroxidation induced by Ethidium Bromide in experimental models of MS]. J Physiol Pharmacol2013; 17:315-27. (Persian)
- 23.DiCarlo G, Wilcock D, Henderson D, Gordon M, Morgan D. Intrahippocampal LPS injections reduce A β load in APP+ PS1 transgenic mice. Neurobiol Aging 2001; 22: 1007-12.
- 24.Hooshmandi Z, Rohani AH, Eidi A, Fatahi Z, Golmanesh L, Sahraei H. [Reduction of metabolic and behavioral signs of acute stress in male Wistar Rats by saffron water extract and its constituent safranal]. Pharm Biol 2011; 49:947-54]. (Persian)
- 25.Ghadirroost B, Vafaei AA, Rashidpour A, Hajisoltani R, Bandegi AR, Motamedi F, et al. [Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in Rats]. Eur J Pharmacol 2011; 667: 222-9. (Persian)
- 26.Dehghan G, Khoshkam Z. [Tin (II)-quercetin complex synthesis spectral characterisation and antioxidant activity]. Food Chem 2012; 131: 422-6. (Persian)
- 27.Gao R, Yuan Z, Zhao Z, Gao X. Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. Bioelectrochem Bioenerg 1998;45: 41-5.
- 28.Obinger C, Maj M, Nicholls P, Loewen P. Activity, peroxide compound formation and heme d synthesis in Escherichia coli HPII catalase. Arch Biochem Biophys 1997; 342: 58-67.
- 29.Abdelsalam OM, Khadrawy YA, Salem NA, Sleem AA. [Oxidative stress in a model of toxic demyelination in rat brain the effect of piracetam and vinpocetine]. Neurochem Res2011;36: 1062-72. (Persian)
- 30.Abdelsalam OM, Khadrawy YA, Mohammed NA, Youness ER. [The effect of gabapentin on oxidative stress in a model of toxic demyelination in Rat brain]. J Basic Clin Physiol Pharmacol2012; 23:61-8. (Persian)
- 31.Horssen J, Schreibelt G, Drexhage J, Hazes T, Dijkstra C, Valk P, Vries HE. Severe oxidative damage in multiple sclerosis lesions coincides with enhanced antioxidant enzyme expression. Free Rad Biol Med 2008; 45: 1729-37.
- 32.Elbeshbishi HA, Hassan MH, Aly HA, Doghish AS, Alghaithy AA. [Crocin saffron protects against beryllium chloride toxicity in rats through diminution of oxidative stress and enhancing gene expression of antioxidant enzymes]. Ecotoxicol Environ Safe 2012; 83: 47-54. (Persian)

Investigating the Effects of Ferula Szowitsiana (Ferula szowitsiana L.) on Antioxidant System Parameters in the Hippocampus of Male Rats to Follow Inducemultiple Sclerosis Disease

Abdi S¹, Hataminemati H¹*, Khakpay R³, Dehghan G¹

(Received: November 28, 2015 Accepted: January 18, 2016)

Abstract

Introduction: Oxidative stress is resulting from the imbalance between free radicals and antioxidant system of the body. Increased oxidative stress in the brain causes impaired brain activity, neuronal death, and diseases such as multiple sclerosis (MS). In this study, the protective effect of Ferula szowitsiana plant against oxidative stress caused by cerebral ventricular injection of ethidium bromide was evaluated.

Materials & methods: With direct single injection of 0.01 % ethidium bromide (EB) into the Cornu ammonis (CA₁) of hippocampal formation the induction of MS was done. One week after MS induction, animals received intrahippocampal (5 µg/rat and 10 µg/rat) administration of the extract for 3 consecutive days. At the end, the bilateral hippocampi was dissected and used for the measurement of oxidative stress markers. Statistical analysis of the

obtained data was performed using one-way ANOVA.

Findings: Hippocampal injection of EB caused significant increment of total antioxidant capacity ($p < 0.001$) and activity of antioxidant enzymes SOD and decrease activity of CAT ($p < 0.01$). Short-term local injection of Ferula szowitsiana extract significantly reduced the total antioxidant capacity ($p < 0.001$) and activity of CAT and SOD enzymes ($p < 0.001$) to the normal levels.

Discussion & conclusions: The results of the present study show that local injection of EB cause increasing production of the free radicals. The Ferula szowitsiana extract as a potent antioxidant modulates oxidative stress markers, probably through scavenging of reactive oxygen species (ROS)and clearing of free radicals from the cellular milieu.

Keywords: Oxidative stress, Multiple sclerosis, Ferula szowitsiana

1. Dept. of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran
*Correspondin author Email: homeirahatami@yahoo.com