Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 23, No. 1, Spring 2023, Pages 26-37

The Effect of Aqueous Extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on Parkinson's Disease Induced by MPTP in Male Mice

Amani A, Hosseini Nia A, Sheikhkanloui Milan H*

Department of Physilogy, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
**** Corresponding author.*** Tel: +984533534836, Fax: +984533534836, E-mail: hshmilan@gmail.com

Received:Feb 21, 2023 Accepted: May 10, 2023

ABSTRACT

Background & objectives: Parkinson's disease is a disorder that causes progressive degeneration of neurons, and oxidative stress is increasingly implicated as a factor that contributes to its pathophysiology. Carnosic acid, a compound found in rosemary, can scavenge free radicals in the brain and decrease the risk of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's. Thus, this study explored the effect of this plant on the improvement of Parkinson's disease.

Methods: The study used 35 male mice that were randomly divided into five groups (n=7 mice each). A control group, a Parkinson's group induced by MPTP toxin, and three groups that received aqueous extracts of rosemary at doses of 100, 150 and 200 mg/kg were included in the study. Measurements were made of lipid peroxidation, superoxide dismutase activity, muscle rigidity, and grip strength. Scores were calculated based on rotational behavior tests and scoring systems.

Results: Rosemary treatment at doses of 150 and 200 mg/kg significantly changed the level of superoxide dismutase activity, muscle rigidity test and rotational behavior of animals relative to the MPTP group. Moreover, the dose of 200 mg/kg of rosemary significantly modified lipid peroxidation relative to the MPTP group, although lipid peroxidation was still significantly higher than the control group.

Conclusion: This study demonstrated that the aqueous extract of Rosemary at a dose of 200 mg/kg can alleviate the signs of Parkinson's disease and manage the disease.

Keywords: Parkinson; Rosemary; MPTP; Mus Musculus; Antioxidant

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]

[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

تاثیر عصاره آبی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر بهبود بیماری پارکینسون القا شده بوسیله MPTP در موش سوری نر

محمد امانی، علی حسینی نیا، حمید شیخکانلوی میلان*

گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۵۳۴۸۳۶ فاکس:۰۴۵۳۳۵۳۴۸۳۶ پست الکترونیک: hshmilan@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: بیماری پارکینسون یک اختلال تخریب کننده نورونی پیشرونده است و شواهد روزافزونی در تأثیر استرس اکسیداتیو به عنوان عامل پاتوژن پیشرفت بیماری پارکینسون وجود دارد. ترکیب کارنوزیک اسید موجود در گیاه رزماری میزان رادیکال‌های آزاد مغز را کاهش داده و خطرات ناشی از بیماری‌های نورودژنراتیو مغز مانند آلزایمر را کاهش می دهد. لذا پژوهش حاضر اثر گیاه فوق بر بهبود بیماری پارکینسون را مورد بررسی قرار داده است.

روش کار: در این پژوهش از ۳۵ سر موش سوری نر که به پنج گروه هفت‌تایی تقسیم شدند استفاده شد. گروه‌های مورد بررسی شامل: گروه کنترل، گروه پارکینسون القا شده توسط سم MPTP و سه گروه درمان با عصاره آبی گیاه رزماری با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. نتایج با بررسی پراکسیداسیون لیپیدها، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، سفتی عضلات و میزان نگه داشتن دست بر روی سکو بر اساس سیستم‌های امتیازدهی و تست رفتاری چرخش مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: درمان با رزماری با دوزهای ۱۵۰و۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان فعالیت سوپراکسید دسموتاز، تست سفتی عضلات و رفتار چرخشی حیوانات را بطور معنی‌داری نسبت به گروه MPTP تغییر داد. همچنین دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رزماری پراکسیداسیون لیپیدی را بطور معناداری نسبت به گروه MPTP تغییر داد هر چند پراکسیداسیون لیپیدی هنوز نسبت به گروه کنترل بصورت معنادار بالا بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره آبی رزمانی به طور وابسته به دوز در دوز ۲۰۰ mg/kg می‌تواند باعث کاهش علایم پارکینسون و کنترل بیماری شود.

کلمات کلیدی: پارکینسون، رزماری، MPTP، موش سوری، آنتی‌اکسیدان

دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲ **پذیرش:** ۱۴۰۲/۲/۲۰

مقدمه

بیماری پارکینسون یک اختلال مزمن پیشرونده و تخریب‌کنندهٔ عصبی است که در سرتاسر جهان و در تمام گروه‌های قومی و در هر دو جنس رخ می‌دهد و به عنوان دومین بیماری تخریب کنندهٔ عصبی رایج در بین افراد پس از بیماری آلزایمر می‌باشد. میزان شیوع این بیماری در افراد بالای ۵۰ سال حدوداً ۲ درصد گزارش شده است [۱]. پارکینسون پس از بیماری آلزایمر، رایج‌ترین بیماری تخریب کننده اعصاب محسوب می‌شود. در این بیماری فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه و میزان دوپامین جسم مخطط کاهش می‌یابد. علائم اصلی بیماری

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

شامل: لرزش، کندی غیر طبیعی حرکات، کم‌جنبشی، اختلال در تعادل و طرز راه رفتن است [۵-۲]. بیماری پارکینسون همراه با اختلالات حرکتی می‌باشد که می‌توان به سفتی عضلانی، لرزش در حال استراحت، آکینزیا[1] یا مشکل در شروع حرکات، کاهش حرکات خودبه خودی و برادی کینزی[2] یا آهسته بودن حرکات، ضعف در حفظ تعادل، کاهش حرکات وابسته یعنی حرکات ناخودآگاه طبیعی بدن مانند تغییر حالات چهره به هنگام صحبت کردن اشاره کرد. در اثر این بیماری ۵۰ تا ۷۰ درصد نورون‌های دوپامینرژیک ناحیهٔ متراکم جسم سیاه تخریب می‌شوند [۶]. عوامل دخیل در بیماری پارکینسون منجر به اختلال در عملکرد میتوکندریایی، استرس اکسیداتیو و فعال شدن مسیرهای آپوپتوزی می‌گردند که در نهایت باعث تخریب نورون‌های دوپامینرژیک می‌گردند. این عوامل عبارتند از: افزایش سن، عوامل محیطی و عوامل ژنتیکی [۷].

یکی از راه‌های درمان و بهبود علایم بیماری‌هایی که با افزایش رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شود استفاده از گیاهان می‌باشد. شواهد روزافزونی از تأثیر استرس اکسیداتیو به عنوان عامل پاتوژن پیشرفت بیماری پارکینسون وجود دارد. یکی از گیاهان دارویی که توانسته است در محیط درون سلولی باعث خنثی سازی رادیکال‌های آزاد شود، گیاه رزماری می‌باشد. مطالعات گذشته نشان می‌دهند که ترکیب کارنوزیک اسید موجود در رزماری میزان رادیکال‌های آزاد مغز را کاهش داده و خطرات ناشی از سکته و دیگر بیماری‌های نورودژنراتیو مغز مانند آلزایمر و اسکلروز مغزی را کاهش می‌دهد. این گیاه همچنین دارای خواص ضد التهابی نیز می‌باشد. کارنوزیک اسید دارای خواص ضد سرطانی نیز می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که رزماری دارای توانایی تقویت حافظه نیز می‌باشد [۴،۵]. انتخاب این گیاه در درمان برخی بیماری‌ها به دلیل داشتن ترکیبات بیولوژیک بالقوه به‌ویژه کارنوزیک اسید، رزمارینیک اسید، کامفور، کافئیک اسید، اوروسلیک اسید، بتولیک اسید و رزمانول می‌باشد. بیماری‌های تحلیل برندهٔ عصبی علایم مختلفی را با خود به همراه دارند که بر بخش‌های مختلفی از مغز اثر گذاشته و دلایل مختلفی هم دارند که هنوز هم به طور کامل شناخته نشده است. مواردی که در این بیماری‌ها اتفاق می‌افتد شامل: تغییر عملکرد میتوکندری، آسیب به واسطهٔ استرس اکسیداتیو، وجود تجمع غیر طبیعی پروتئین‌ها و پروتئوزوم‌ها، تغییر متابولیسم آهن و از کنترل خارج شدن فرایند التهاب و سمّیت همراه با تهییج مرگ نورون‌ها توسط برخی آمینواسیدهای تحریکی در مغز می‌باشد [۸]. ترکیبات طبیعی رزماری از طریق مهار فعالیت میکروگلیال، مهار عوامل پیش التهابی و یا رده دیسموتازها، اثرات ضد بیماری خود را اعمال می‌کنند. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که سطح فعالیت آنزیم‌های استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ گروه‌های تیمار شده با دوزهای مختلف عصاره برگ رزماری کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های آسیب و کنترل داشته است و مصرف عصاره رزماری در بهبود اختلال حافظه و استرس اکسیداتیو بیماری پارکینسون نقش دارد و به نظر می‌رسد بخشی از نقش محافظتی این عصاره مربوط به اثر آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد [۱۱-۹]. با توجه به اثرات بالقوه گیاه رزماری، پژوهش حاضر اثر این گیاه را در بهبود بیماری پارکینسون در مدل شناخته شده القاء شده با (MPTP[3]) [۱۲] مورد مطالعه قرار داد.

روش کار

تحقیق تجربی حاضر از نوع مداخله‌ای[4] بود که با کد اخلاق IR.ARUMS.REC1396.138 در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل ثبت شده است. در این پژوهش

[1] Akinesia
[2] Bradykinesia
[3] 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine
[4] Experimental

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

از ۳۵ سر موش سوری نر ۲ ماهه با وزن تقریبی ۵۰-۳۰ گرم استفاده شد. موش‌ها را در ۵ گروه ۷ تایی تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۳±۲۱ درجه سانتی‌گراد که حیوان‌ها آزادانه به آب و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس) دسترسی داشتند و حداقل ۱۰ روز قبل از بررسی جهت سازگاری با محیط به حیوان خانه منتقل شده بودند بررسی شد.

روش عصاره‌گیری

برگ و سرشاخه‌های تازه گیاه رزماری در محیطی خنک و به دور از نور آفتاب خشک گردید. سپس حدود ۵۰۰ گرم برگ خشک رزماری آسیاب و غربال شد تا پودر یک دستی حاصل شود. ۱۰۰ گرم از پودر در ظرف مناسبی ریخته شده و حدود ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و به مدت ۲٤ ساعت بر روی شیکر با دمای ٤۰ تا ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. مخلوط به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی صاف و عصاره به دست آمده در یک ظرف درب‌دار شیشه‌ای ریخته شده و در جایی دور از نور نگهداری شد. این کار دوبار انجام شد و عصاره آبی در دمای ٤۰ تا ٤۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا حلال آن کاملاً تبخیر شده و رسوب خشکی برجای بماند. سپس غلظت‌های مورد نیاز عصاره با حل کردن پودر در سرم نرمال سالین ۰/۹٪ بدست آمد و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. عصاره گیاه رزماری به صورت وابسته به دوز برای مدت ۱٤ روز به روش داخل صفاقی برای درمان استفاده شد. برای ایجاد مدل پارکینسون در حیوانات، برای مدت ۵ روز توکسین MPTP به صورت داخل صفاقی با دوز کلی ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان تزریق گردید و ۲٤ ساعت بعد از آخرین دوز القا (روز پنجم) تست‌های رفتاری انجام شد [۱۳،۱٤].

تست رفتاری چرخش

تست رفتار چرخشی القاءِ شده پس از تزریق MPTP در هفته‌های ۲، ٤، ۶ و ۸ در زمان مشابه در همه گروه‌ها، به منظور فهمیدن تمامیت عملکردی سیستم دوپامینرژیک انجام شد. همه حیوانات ابتدا به صورت جداگانه به مدت ۵ دقیقه در استوانه ای به قطر ۲۸ cm و ارتفاع ۳۸ cm قرار گرفتند تا با شرایط سازگار شوند، سپس برای مدت ۵ روز توکسین MPTP به صورت داخل صفاقی با دوز کلی ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان تزریق شد. سپس حیوانات در استوانه قرار داده شدند و تعداد چرخش‌ها در مدت ۶۰ دقیقه شمرده شد [۱۶،۱۵].

تست سفتی عضلانی[1]

در این آزمایش حیوان بر روی میز قرار داده شد و اگر چنانچه طرز ایستادن و راه رفتن حیوان طبیعی بود نمره‌ای دریافت نمی‌کرد (نمره صفر). در صورتی که حیوان روی میز قرار می‌گرفت و در اثر سفتی عضلات بی‌حرکت باقی می‌ماند و یا با زحمت با حرکت دست‌ها و پاها شروع به حرکت می‌کرد به حیوان نمره ۰/۵ تعلق می گرفت. دست راست حیوان روی سکوی چوبی به ارتفاع ۳ سانتی‌متر قرار داده می‌شد و اگر چنانچه حیوان حداقل ۱۰ ثانیه دست خود را از روی سکو بر نمی‌داشت نمره ۰/۵ دریافت می‌کرد. برای دست چپ نیز به همین ترتیب آزمایش صورت گرفت و اگر حیوان دست خود را برای مدت ۱۰ ثانیه بر نمی‌داشت نمره ۰/۵ می‌گرفت. این مرحله در مجموع ۱ نمره داشت. دست راست حیوان بر روی سکوی ۹ سانتی‌متری قرار داده می‌شد. در صورت نگه‌داشتن دست خود، نمره ۱ را می‌گرفت و برای دست چپ نیز به همین شکل تست انجام شد. این مرحله در مجموع ۲ نمره داشت. حیوان پارکینسونی کامل، نمره ۳/۵ و حیوان سالم نمره صفر را دریافت می‌کرد. تمام گروه‌ها توسط این تست رفتارسنجی شدند [۱۷].

[1] Murprogo's Test

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

تعیین پراکسیداسیون لیپیدها

پراکسیداسیون لیپیدها بوسیله تعیین غلظت مواد واکنش پذیر تیوباربیتوریک اسید (TBARS) ارزیابی شد. تعیین TBARS از طریق اسپکتروفوتومتری صورت گرفت. برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدی نیز میزان مالون دی آلدهید و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز سرم بر اساس دستورالعمل کیت و با استفاده از اسپکتروفتومتر مورد سنجش کمی قرار گرفت. در این خصوص، برای سوپراکسید دیسموتاز هموژنه بافتی ۱۰ درصد از بافت قسمت فرونتال و ساقه مغز موش سوری در محلول سالین فیزیولوژیک ۰/۹٪ تهیه شد. سپس در دور g ۵۰۰۰ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. سوپرناتانت جدا شده درمحیط سرد محلول استخراج شامل اتانول کلروفرم به آن اضافه شده و در دور g ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد و سپس لایه مایع فوقانی جدا شده و فعالیت آنزیم با استفاده از کیت مربوطه مورد سنجش قرار گرفت [۱۸].

گروه‌های آزمایش عبارت بودند از گروه کنترل، گروه تخریب با نوروتوکسین (MPTP) ۳۰mg/kg/day برای ایجاد مدل پارکینسون و گروه تخریب پیش درمان با عصاره رزماری شامل ۳ زیرگروه که ۳ دوز مختلف ۱۰۰ mg/kg، mg/kg ۱۵۰، ۲۰۰ mg/kg عصاره را دریافت کردند. هر گروه شامل ۷ سر موش سوری نر بود که به صورت تصادفی در بین گروه‌ها تقسیم شده بود.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

یافته‌های بدست آمده از تست‌ها و بافت‌ها در گروه‌های مختلف بر حسب میانگین ± خطای استاندارد میانگین بیان گردیدند و با توجه به اینکه تعداد نمونه‌ها کمتر از ۳۰ می‌باشد از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف جهت نشان دادن توزیع نرمال برای هر پارامتر استفاده شد. چنانچه توزیع داده‌ها نرمال بود ازآزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن آزمون توکی[1] استفاده شد. در تمامی حالات پس از آنالیز $p< ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید. اطلاعات توسط نرم افزار SPSS-18 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

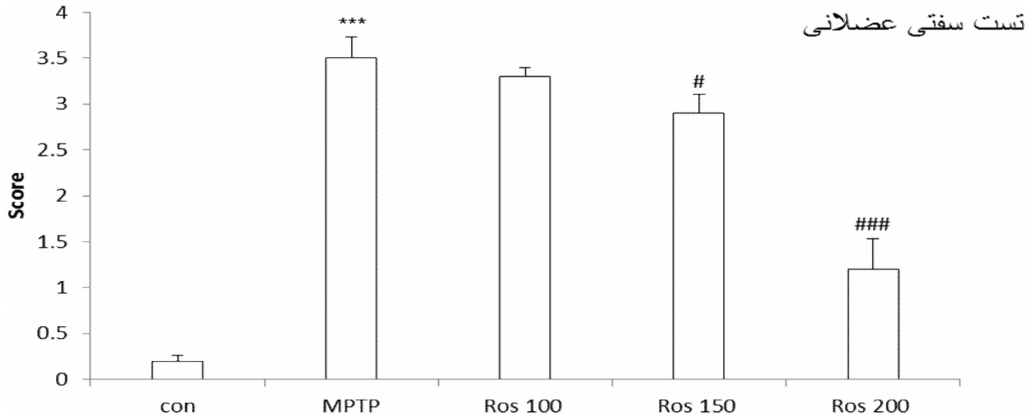
یافته‌ها

تست سفتی عضلانی

ارزیابی سفتی عضلانی به‌عنوان علامت مشخص بیماری پارکینسون به روش مورپروگو انجام گرفت که روش امتیازدهی آن پیش‌تر در قسمت روش‌ها توضیح داده شده است. تست سفتی عضلانی موش‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج بصورت میانگین± خطای استاندارد میانگین (SEM) بیان شد که در آن امتیاز گروه کنترل ۰/۲±۰/۰۶ و گروه MPTP ۳/۵±۰/۲۳ بود. در گروه‌های رزماری با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم امتیاز گروه‌ها به ترتیب ۳/۳±۰/۱، ۲/۹±۰/۲ و ۱/۲±۰/۳۳ بود (نمودار ٤-۱). در این مطالعه نتایج قابل ملاحظه و معنی‌داری بدست آمد که از نظر آماری نیز p بدست‌آمده کمتر از ۰/۰۵ و ۰/۰۰۱ بود ($p<۰/۰۰۱$) و ۶۹/٤۷=(F(٤/۶۹).

[1] Tukey HSD

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]



نمودار ۱. میانگین تست سفتی عضلانی بین گروه‌های مورد مطالعه و گروه کنترل

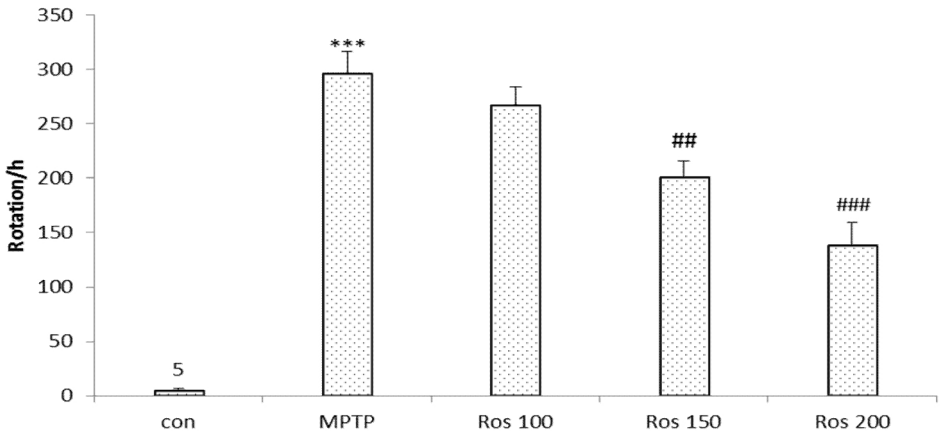
ستون‌ها نشان دهنده (میانگین ± خطای معیار میانگین) (Mean± SEM) است.

*** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل # نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰۵) در مقایسه با گروه MPTP

نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه MPTP

تست چرخش

تست رفتار چرخشی القاءِ شده پس از تزریق MPTP نیز با روشی که پیش‌تر در قسمت روش کار توضیح داده شده مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج بصورت میانگین± خطای استاندارد میانگین (SEM) بیان شد که در گروه کنترل Rotation/h ۵±۱/۵ و گروه MPTP، Rotation/h ۲۹۶±۲۰/۲۳ بود. در گروه‌های رزماری با دوزهای ۱۰۰،۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نتایج تست چرخش به ترتیب ۲۶۷±۱۷/۱ Rotation/h، ۲۰۱±۱۵ و۱۳۸±۲۱/۴۳ Rotation/h بود (p<۰/۰۰۱ و F(۴/۶۰)=۴۸/۲۹).



نمودار ۲. تست چرخش

ستون‌ها نشان دهنده (میانگین ± خطای معیار میانگین) (Mean± SEM) است.

*** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار(p< ۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل ## نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰۱) در مقایسه با گروه MPTP

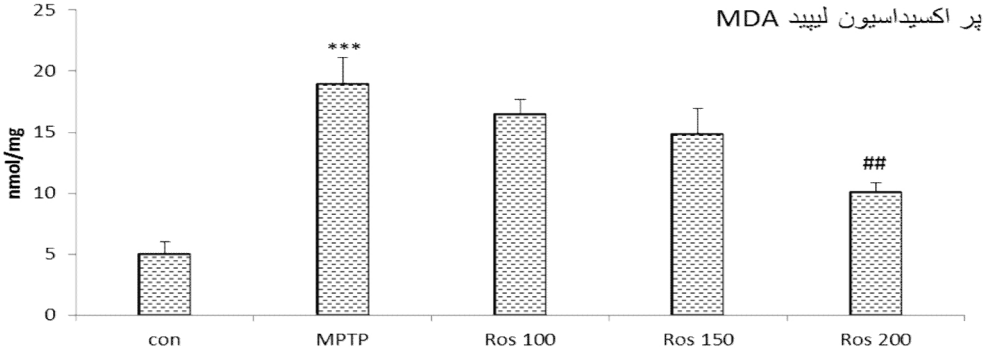
نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه MPTP

پراکسیداسیون لیپید MDA

برای بررسی پراکسیداسیون لیپید به منظور ارزیابی استرس اکسیداتیو از اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید تولیدشده در فرآیند پراکسیداسیون لیپید استفاده شد. در مورد پراکسیداسیون لیپید MDA موش‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند و نتایج بصورت

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

میانگین ± خطای استاندارد میانگین (SEM) نشان داده شده است که در گروه کنترل ۱/۰۲±۵ nmol/mg و گروه MPTP، ۲/۱۲±۱۹ mol/mg می‌باشد. در گروه‌های رزماری با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم این میزان به ترتیب ۱/۲±۱۶/۵، ۲/۰۵±۱۴/۹ و ۰/۷۵±۱۰/۰۹ nmol/mg بود ($p< ۰/۰۰۱$ و $F(۴/۶۰)=۱۳/۲۰$).



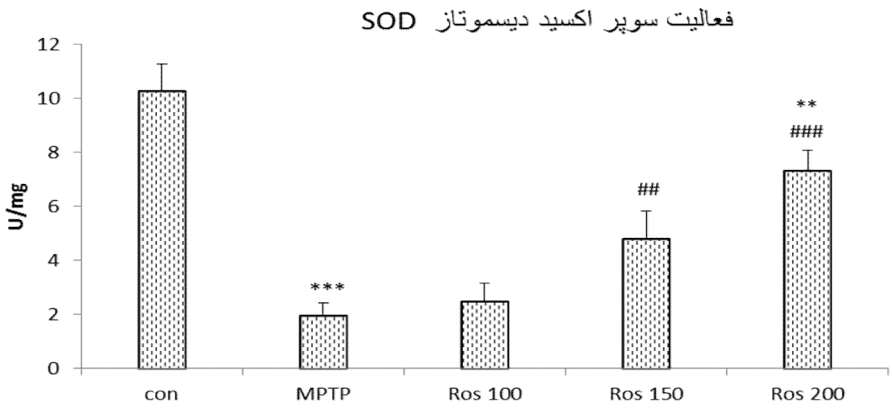
نمودار ۳. پراکسیداسیون لیپید MDA

ستون‌ها نشان دهنده (میانگین ± خطای معیار میانگین) (Mean± SEM) است

*** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p< ۰/۰۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل ## نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p< ۰/۰۱$) در مقایسه با گروه MPTP

فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز

میزان فعالیت آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز در بافت قشر مخ گروه ضایعه دیده با MPTP، در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p< ۰/۰۰۱$). همچنین تزریق عصاره در گروه‌های رزماری با دوزهای ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت معنی‌داری از کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز جلوگیری کرد (به ترتیب $p<۰/۰۱$ و $p< ۰/۰۰۱$). فعالیت سوپراکسید دسموتاز موش‌ها در گروه کنترل ۱/۰۲±۱۰/۲۴ U/mg و گروه MPTP، ۰/۵۲±۱/۹۳ U/mg بود. در گروه‌های رزماری با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم این میزان به ترتیب ۰/۷±۲/۴۷، ۱/۰۴±۴/۷۸ و ۰/۷۵±۷/۳۲ U/mg بود ($p<۰/۰۰۱$ و $F(۴/۶۰)=۱۷/۴۴$).



نمودار ۴. فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز

مقایسه میانگین فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز ما بین گروه های تجربی و گروه کنترل

ستون‌ها نشان دهنده (میانگین ± خطای معیار میانگین)(Mean± SEM) است

*** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p< ۰/۰۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل ** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p< ۰/۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل

نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p< ۰/۰۱$) در مقایسه با گروه MPTP ### نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p< ۰/۰۰۱$) در مقایسه با گروه MPTP

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

بحث

این مطالعه با توجه به ماهیت بیماری پارکینسون که در اثر کاهش فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه و میزان دوپامین جسم مخطط ایجاد شده و تاثیر استرس اکسیداتیو در بروز این مهم که به عنوان عامل پاتوژن در پیشرفت بیماری مشخص شده است [۸] و همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی خصوصاً رزماری بصورت مشخص به بررسی علمی اثرات درمانی عصاره آبی گیاه رزماری در موش‌های سوری که بوسیله سم MPTP به پارکینسون مبتلا شده بودند پرداخته است [٤].

آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی با خنثی سازی رادیکال‌های آزاد، اثر محافظتی بر بدن دارند. نظر به اینکه گیاهان منبع غنی از ترکیبات فنولی و از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند، تحقیقات در این زمینه رو به افزایش است. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد گیاهان دارویی مختلفی از جمله زرشک، ماریتیغال، زعفران، ازگیل ژاپنی، رازیانه، زردچوبه و جینسینگ می‌توانند در درمان بیماران مبتلا به پارکینسون مؤثر باشند. این گیاهان می‌توانند موجب توقف تخریب سلولی در جسم سیاه شوند و اختلالات حرکتی ایجاد شده در این بیماری را کاهش دهند. ترکیبات مؤثره موجود در گیاهان نام برده به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی با گرفتن رادیکال‌های آزاد، اثرات حفاظتی خود را بر سیستم اعصاب مرکزی اعمال می‌کنند [۵].

توضیحات در مورد بیماری پارکینسون و گیاه رزماری به تفصیل داده شده است و در مورد سم MPTP نیز لازم به ذکر است که ایده مشارکت عوامل محیطی در بروز بیماری پارکینسون از کشف سم MPTP ناشی شده است که به صورت انتخابی در مدل‌های حیوانی باعث مرگ نورون‌های جسم سیاه می‌شود [۱۲]. در مورد فیزیوپاتولوژی بیماری پارکینسون اختلال عملکرد میتوکندریایی، استرس اکسیداتیو که در اثر عدم تعادل بین تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و توانایی غیرسمی‌کردن متابولیت‌های فعال تولید شده و ترمیم آسیب‌های بافتی ایجاد شده ایجاد می‌گردد و همچنین فعال شدن مسیرهای آپوپتزی از پاتولوژی‌های مهم بیماری هستند. از گیاه رزماری علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی خواص ضد میکروبی، ضد درد و همچنین ضد سرطانی نیز به اثبات رسیده است [۷].

یوکوتا[1] و همکاران فعالیت پاکسازی ROS را توسط عصاره دانه گل گیاه ازگیل ژاپنی گزارش کرده‌اند. پاکسازی H_2O_2 توسط عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی ممکن است به ترکیب‌های فنولی آن‌ها نسبت داده شود (گالیک اسید) که می‌تواند یک الکترون به H_{30} داده و آن را به H_2O و O_2 تبدیل کند. در این مطالعه نیز فعالیت رادیکال‌های آزاد با استفاده از محاسبه پراکسیداسیون لیپیدها القا شده بوسیله NADPH بررسی شده است که با مطالعه حاضر تطابق دارد در این مطالعه رابطه مثبت مقدار ترکیب‌های فلاونوئیدی موجود در عصاره‌های گیاهی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأیید شده است [۱۹]. گیاه دارویی رزماری غنی از ترکیبات پلی‌فنولیک مثل کارنوزیک اسید و کارنوزول می‌باشد. در مطالعه حاضر عصاره آبی گیاه رزماری باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها که احتملا در اثر فعالیت NADPH بوده است شده است و با توجه به تطابق **قابل** ملاحظه نتایج هر دو مطالعه به نظر می‌آید که می‌توان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه رزماری را نیز به ترکیبات پلی‌فنولی آن نسبت داد که نیازمند انجام تحقیقات بیشتر و همچنین جداسازی هر کدام از اجزای عصاره رزماری و مخصوصاً پلی‌فنول‌های آن و انجام تحقیقات مستقل روی هر کدام است. در مطالعه سالمون[2] و همکاران نیز مشخص شد که دیترپن‌های فنولیک آبیتان موجود در

[1] Yokota
[2] Solomon

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

گیاه رزماری در محیط آزمایشگاهی و *in-vivo* باعث مهار مرگ سلول‌های عصبی می‌شود [۲۰].

پرومال[1] و همکاران گزارش کردند که پیش‌درمان با ویتامین E خوراکی، اثر سمی 6-OHDA را بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز موجود در تنه مغزی و هسته سابتالامیک کاهش می‌دهد. عصاره گیاه ماریتیغال نیز که غنی از آنتی‌اکسیدان سیلیمارین است، موجب بقای نورون‌های نیگرواستریاتال[2] در بخش متراکم جسم سیاه حتی پس از نورودژنراسیون القا شده به وسیله نوروتوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین می‌شود. همچنین گزارش شده که اثرات پیش درمانی عصاره ازگیل ژاپنی به طور معنی‌داری به واسطه کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت SOD باعث بهبود اختلالات رفتاری و کاهش استرس اکسیداتیو القا شده با آمیلوییدبتا می‌گردد [۲۱]. در مطالعه ما نیز فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز توسط کیت‌های مخصوص در بافت فورنتال و سافه مغز موش‌های سوری بررسی شد که نتایج مشابه تحقیقات فوق بدست آمد و عصاره آبی گیاه رزماری باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز شده است.

در مطالعه کازونوری[3] و همکاران نیز که اثرات ضدافسردگی رزماری را مورد بررسی قرار داده‌اند افزایش قابل توجه در مسیرهای دوپامینرژیک و سروتونرژیک و همچنین اثرات محافظتی این گیاه در مقابل کورتیکواسترون به اثبات رسیده است. کورتیکواسترون نیز یکی از عواملی است که باعث استرس اکسیداتیو با پرکسیداسیون لیپیدها می‌شود. تحلیل پروتئومیکس سلول‌های PC12 که توسط پلی‌فنول‌های فعال گیاه رزماری مانند لوتئین، اسیدکارنوزیک و اسیدرزماریک، مورد درمان قرار گرفته بودند، نشان دهنده افزایش قابل توجهی در تیروزین هیدروکسیلاز (TH) و پیرووات کربوکسیلاز (PC) دو ژن اصلی درگیر در تنظیم مسیر دوپامینرژیک، سروتونرژیک و GABAergic است. علاوه بر این، اثر محافظتی پلی‌فنول‌های گیاه رزماری از سلول‌های عصبی در برابر سمیت ناشی از کورتیکواسترون نشان داده شد [۲۲]. این مطالعه که پراکسیداسیون لیپیدها بوسیله کورتیکواسترون جهت بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنول‌های گیاه رزماری مورد مطالعه قرار گرفته و کاهش معنی‌داری را نیز نشان داده بودند دارد، در مطالعه ما نیز عصاره آبی گیاه رزماری باعث کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدها و پیرو آن استرس اکسیداتیو شده است که نشان‌دهنده تطابق هر دو مطالعه می‌باشد.

در مطالعه پارک[4] و همکاران نیز به اثبات رسید که اثرات سمی ناشی از H_2O_2 در سلولهای SH-SY5Y به‌دنبال درمان با رزماری سرکوب شده است و رزماری در کاهش توانایی غشای میتوکندریایی و مرگ سلولی آپوپتوتیک ناشی از H_2O_2 بسیار موثر است [۲۳]. همانطور که پیشتر نیز گفته شد مرگ سلولی آپوپتوتیک و فروپاشیدن غشای میتوکندری ناشی از H_2O_2 و استرس اکسیداتیواز فیزیوپاتولوژی‌های بیماری پارکینسون نیز هستند. در مطالعه فوق نیز ثابت شده است که اثرات سمی ناشی از پراکسید هیدروژن بوسیله عصاره گیاه رزماری خنثی می‌شوند که با مطالعات ما که کاهش استرس اکسیداتید در اثر تزریق عصاره آبی گیاه رزماری بوسیله سنجش پراکسیداسیون لیپیدها و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نشان داده شده است مطابقت قابل توجهی دارد.

در مطالعه حاضر اثرات درمانی عصاره آبی گیاه رزماری را در درمان پارکینسون بوسیله تست سفتی عضلانی، تست چرخش، اندازه‌گیری پراکسیداسیون

[1] Perumal
[2] Nigrostriatal
[3] Kazunori
[4] Park

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

لیپیدی MDA و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بررسی شد و نتایج مثبت قابل ملاحظه‌ای هر چند وابسته به دوز و نه به صورت پاسخ کامل به درمان دست یافته شد. استرس اکسیداتیو شرایطی است که در آن تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن و نیتروژن (RONS) دفاع آنتی‌اکسیدانی موجود در بدن را از بین برده و ممکن است موجب اکسیداسیون و تخریب سلول‌ها شود. به طوری که تولید بیش از حد RONS منجر به اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و تغییر در عملکرد طبیعی سلولی می‌شود به طور معمول استرس اکسیداتیو همراه با التهاب مزمن با پاتولوژی بیماری‌ها همراه است. البته بافت‌هایی که به مدت طولانی در معرض استرس اکسایشی قرار می‌گیرند، دچار تطابق در سیستم اکسیدانی/ آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی از طریق تحریک فعالیت آنزیماتیک می‌شوند که شامل افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و سوپراکسید دیسموتاز(SOD) است. این آنزیم‌ها به همراه کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون S ترانسفراز اولین خط دفاعی در برابر حمله انواع رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌باشند [۸].

بیماری پارکینسون، شایع‌ترین اختلال نوروپاتوژنیک است که در نتیجه دژنراسیون نورون های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه مغز و پایانه‌های آن در استراتیوم به وجود می‌آید [۲٤]. عواملی از قبیل استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش سطح گلوتاتیون، تخریب DNA و تجمع آهن از مهمترین علل دژنراسیون نورون های دوپامینرژیکی هستند[۲۵]. استرس اکسیداتیو، نه تنها نورون‌های دوپامینرژیکی را تخریب می‌کند، بلکه با ایجاد اختلال در فرایند فسفریلاسیون اکسیداتیو و کاهش تولید انرژی، منجر به مرگ سلول‌ها می‌شود. فاکتورهای نوروتروفیک پروتئین‌های ترشحی هستند که با اتصال به گیرنده‌های هدف خود مانع از کاهش سلول‌های عصبی می‌شوند. درمان‌های آنتی‌اکسیداتیو در مراحل اولیه بیماری پارکینسون امروزه در کلینیک مطرح است. یکی از روش‌های درمانی برای کاهش‌دادن اثرات استرس اکسیداتیو و محافظت نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. آنتی‌اکسیدان‌های بیولوژیکی نقش حیاتی در محافظت از سلول‌ها در برابر فشار اکسایشی ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کنند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و ضد اکسایش‌های غیرآنزیمی شامل ویتامین E، C، A، فلاونوئیدها، اسید اوریک، بیلی‌روبین[1]، فریتین، تیول‌ها مانند گلوتاتیون (GSH)، یوبیکویین و ریز مغذی‌هایی مانند آهن، مس، روی، سلنیوم و منگنز هستند [۶] استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و گیاهی در جهت جلوگیری از فرایندهای آسیب‌زای ناشی از تولید بیش از حد RONS و پیشگیری از ابتلا به بیماری پارکینسون مهم و حیاتی است، به طوری که جستجو برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اهمیت فوق العاده‌ای دارد [۵].

نتیجه‌گیری

بیماری پارکینسون یک بیماری تخریب کننده عصبی است که به واسطه مشکلات متعدد حرکتی که ایجاد می‌کند شناخته شده است. نتایج به دست آمده از بررسی‌های سال های اخیر و همچنین شناسایی ژن‌های درگیر در این بیماری منجر به ارائه راهکارهای جدید درمانی شده است. به دلیل گستردگی مسیرها و مکانیسم‌های مولکولی PD، استفاده ترکیبی از مدل‌های ذکر شده در بالا می‌توانند سبب افزایش بینش ما از بیماری‌زایی PD شود. با این وجود در حال حاضر مدل MPTP به دلیل

[1] Bilirubin

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

عبور از سد خونی مغزی و عدم نیاز به جراحی و مدل OHDA-6 بـه دلیـل درگیرکـردن سیسـتم اسـترس اکسیداتیو بیشتر از سایر مدل‌ها مورد استفاده محققان قرار می‌گیرد. این مطالعه نشان داد کـه عصـاره آبـی رزماری به طور وابسته به دوز مخصوصاً در دوزهـای ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلـوگرم مـی‌توانـد باعـث کـاهش علایم پارکینسون و کنترل بیماری شود.

محدودیت‌های تحقیق

ایـن مطالعـه بـا محـدودیت‌هـایی در تهیـه، گرانـی و یافت‌نشدن کیت و سایر لوازم مورد نیاز جهـت انجـام این مطالعه و سایر مطالعاتی که صرفاً جهت پیشـرفت علم و خدمت به بشریت انجام می‌شوند روبرو بود.

References

1- Veldman BA, Wijn AM, Knoers N, Praamstra P, Horstink MW. Genetic and environmental risk factors in Parkinson's disease. J Clin Neurosci. 1998; 100(1):15-26.

2- Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Nabeshima T. A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by Abeta(25-35). Behav Brain Res. 2007; 180(2):139-145.

3- Fujita M, Nishino H, Kumazaki M, Shimada S, Tohyama M, Nishimura T. Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. Mol Brain Res. 1996; 39(1-2):127-136.

4- Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD (P) H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. Circ Res. 2000; 86(5):494.

5- Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease. Ann Neurol. 2003; 53(suppl 3):S26-S38.

6- Elbaz A, Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Peterson BJ, Ahlskog JE, et al. Risk tables for parkinsonism and Parkinson's disease. J Clin Epidemiol. 2002; 55(1):25-31.

7- Lin T-K, Liou C-W, Chen S-D, Chuang Y-C, Tiao M-M, Wang P-W, et al. Mitochondrial dysfunction and biogenesis in the pathogenesis of Parkinson's disease. Chang Gung Med J. 2009; 32(6):589-99.

8- Morris G, Arkadir D, Nevet A, Vaadia E & Bergman H. Coincident but distinct messages of midbrain dopamine and striatal tonically active neurons. Neuron. 2004; 43(1):133-143.

9- Soto-Otero R, Mendez-Alvarez E, Hermida-Ameijeiras A, Lopez-Real AM, Labandeira-Garcia JL. Effects of (-)-nicotine and (-)-cotinine on 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress and neurotoxicity: relevance for Parkinson's disease. Biochem Pharmacol. 2002; 64(1):125-135.

10- Yamada H, Matsumoto N & Kimura M. Tonically active neurons in the primate caudate nucleus and putamen differentially encode instructed motivational outcomes of action. J Neurosci. 2004; 24(14):350-10.

11- Yelnik J, Francis C, Percheron G, Tandéa D. Morphological taxonomy of the neurons of the primate striatum. J Comp Neurol. 1991; 313(2):273-294.

12- Ahmadi M, Sharifi MS. Treatments of Parkinson's disease, epilepsy and obsessive compulsive disorder with deep brain stimulation. Neurosci J Shefaye Khatam. 2014; 2(1):95-100. [Full text in Persian]

13- Hantraye P, Brouillet E, Ferrante R, Palfi S, Dolan R, Matthews RT, et al. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase prevents MPTP-induced parkinsonism in baboons. Nat Med. 1996; 2(9):1017-21.

14- Bandara MS, Tanino KK, Acharya SN. Rosemary (Rosmarinus officinalis L.): a medicinal plant species. J Med Plant Res. 2007; 173-94.

15- Fujita M, Nishino H, Kumazaki M, Shimada S, Tohyama M, Nishimura T. Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. Brain Res Mol Brain Res. 1996;39(1-2):127-36.

16- Ganong WF, Ganong W. Review of medical physiology, Appleton & Lange Norwalk, CT, 1995; 67(3):364-25.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]

17- Ziai SA, Niknami Z, Nasri S, Roghani M. Protective effects of water extract of Morus nigra L. on 6-hydroxydopamine induced Parkinson's disease in male rats. Nov Biomed. 2018; 6(1):43-50.
18- Espinosa-Mansilla A, Salinas F, Leal AR. Determination of malondialdehyde in human plasma: elimination of spectral interferences in the 2-thiobarbituric acid reaction. Analyst. 1993; 118(1):89-95.
19- Yokota J, Takuma D, Hamada A, Onogawa M, Yoshioka S, Kusunose M, et al. Scavenging of reactive oxygen species by Eriobotrya japonica seed extract. Biol Pharm Bull. 2006; 29(3):467-71.
20- Habtemariam S. The therapeutic potential of rosemary (Rosmarinus officinalis) diterpenes for Alzheimer's disease. J Evid Based Complementary Altern Med. 2016; 18(5):194-67.
21- Perumal AS, Gopal VB, Tordzro WK, Cooper TB, Cadet JL. Vitamin E attenuates the toxic effects of 6-hydroxydopamine on free radical scavenging systems in rat. Brain Res Bull. 1992; 29(5):699-701.
22- Sasaki K, El Omri A, Kondo S, Han J, Isoda H. Rosmarinus officinalis polyphenols produce anti-depressant like effect through monoaminergic and cholinergic functions modulation. Behav Brain Res. 2013;238: 86-94.
23- Park SE, Kim S, Sapkota K, Kim SJ. Neuroprotective effect of Rosmarinus officinalis extract on human dopaminergic cell line, SH-SY5Y. Cell Mol Neurobiol. 2010; 30(5):759-67.
24- Sauer H, Oertel WH. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. Neurosci. 1994; 59(2):401-415.
25- De Souza Silva MA, Mattern C, Häcker R, Nogueira PJ, Huston JP, Schwarting RKW. Intranasal administration of the dopaminergic agonists L-DOPA, amphetamine, and cocaine increases dopamine activity in the neostriatum: a microdialysis study in the rat. J Neurochem. 1997; 68(1):233-9.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1402.23.1.5.7]
[DOI: 10.61186/jarums.23.1.26]