

## اثرات محافظتی عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی بر سطوح MANF ساقه مغز در برابر سم ۶- هیدروکسی دوپامین در رت

\***دکتر ضیاء فلاح محمدی:** دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران (\*نویسنده مسئول). ziafalm@yahoo.com  
**محمد آقاسی:** کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران. mohammad.aghasi65@gmail.com  
**مرجان احمدی کردآسیایی:** کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات مازندران، ایران. ahmadi.marjan3@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۱۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** استرس اکسایشی در آشکار منتهی به تحلیل نوروپ دوپامینی در بیماری پارکینسون، مشارکت دارد. عصاره هیدروالکی گل گیاه ازگیل ژاپنی غنی از ترکیبات فنولی است. این مطالعه با هدف بررسی اثر محافظتی عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی در برابر کاهش سطوح عامل نوروتروفیک مزانسفالی مشتق از آستروسیت (MANF) Mesencephalic Astrocyte-derived Neurotrophic Factor) ساقه مغز ناشی از ضایعه القاء شده با تزریق درون بطنی ۶- هیدروکسی دوپامین در موش های صحرایی نر انجام شد.

**روش کار:** در این مطالعه آزمایشگاهی تجربی سه گروه: پایه، کنترل و گروه عصاره + پارکینسون قرار داشتند که پس از اتمام دوره پژوهش، گروه کنترل و گروه عصاره + پارکینسون سم عصبی ۶- هیدروکسی دوپامین را دریافت و استرس را تجربه کردند. گروه مصرف عصاره به مدت دوازده هفته و در هر هفته سه بار عصاره را به صورت درون صفاقی و به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. سطح MANF ساقه مغز با روش الایزا اندازه گیری گردید.

**یافته‌ها:** داده‌ها به روش آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شد. نتایج نشان داد که سطح MANF ساقه مغز در موش‌های پارکینسونی در گروه مصرف کننده عصاره نسبت به گروه پایه تفاوت معنادار نداشته است ( $p=0/223$ )، اما با گروه کنترل تفاوت معنادار دارد ( $p=0/042$ ).  
**نتیجه‌گیری:** نتایج این پژوهش نشان داد که پیش درمان با مصرف مزمن عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی می‌تواند سبب محافظت از سطح MANF در برابر ضایعه ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین شود و احتمالاً می‌تواند نقش حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون داشته باشد.

**کلیدواژه‌ها:** عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی، ۶- هیدروکسی دوپامین، MANF، موش صحرایی

### مقدمه

مصرف آنتی اکسیدانت های طبیعی، نقش مثبتی در حفظ وضعیت سلامت بدن انسان ایفا می کند و باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن می شود. استرس اکسایشی که ناشی از عدم توازن میان تولید گونه های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) و خنثی شدن آنها توسط سیستم های آنتی اکسیدانتی آنزیمی و غیر آنزیمی می باشد، عامل ایجاد برخی از اختلالات تخریب نورونی از قبیل آلزایمر و پارکینسون است (۱ و ۲). بنابراین استفاده از آنتی اکسیدانت های طبیعی در جهت جلوگیری از فرایندهای آسیب زای ناشی از تولید بیش از حد گونه های اکسیژن فعال و پیشگیری از ابتلا به بیماری های فوق مهم

و حیاتی است. ظرفیت آنتی اکسیدانتی به عنوان پارامتری جهت سنجش ارزش مواد غذایی مختلف از جمله گیاهان و ترکیبات آنها به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد. اخیراً و پس از اثبات سرطان زا بودن آنتی اکسیدانت های سنتزی، جستجو برای یافتن آنتی اکسیدانت های طبیعی اهمیت فوق العاده ای یافته است. بخش فنولی و فلاونوئیدی گیاهان، آنتی اکسیدانت های قوی در محیط های طبیعی و آزمایشگاهی محسوب می شوند (۳). عصاره گل گیاه ازگیل ژاپنی دارای عناصر مختلفی است که فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را نشان می دهند، که از جمله آن ها اسید کافئیک، اسید کلروژنیک، اسید اولنولیک، اسید اورسولیک و آمیگدالین

بیان سیکلواکسیناژ ۲ و آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید القاء می‌گردد (۱۴). اسماعیلی و همکاران در تحقیقی اثر محافظتی آنتی اکسیدان های عصاره هیدروالکلی گل گیاه ازگیل ژاپنی بر مسمومیت کبدی القاء شده با کلرید جیوه در موش را گزارش کردند (۱۵). ارکیسلی و همکاران وجود ترکیبات فنولی در ازگیل را ثابت و اثرات ضد اکسایشی این عصاره را تایید کردند (۱۶). همچنین لو و همکاران گزارش کردند که دوز ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره گیاه ازگیل ژاپنی موجب کاهش معنی دار در غلظت گلوکوز پلاسما، کلسترول تام و تری گلسیرید و افزایش معنی دار در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و سطح انسولین سرم در موش های دیابتی شد (۱۷). یوکاتا و همکاران فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ی دانه‌ی این گیاه را ناشی از ترکیبات زیاد بتاسیتواسترویل دانستند و فعالیت مهاری آنرا بر پراکسیداسیون لیپیدی گزارش نمودند (۱۸). ساقه‌ی مغز یا تنه‌ی مغزی بخش بسیار مهمی از مغز است که از بالا به نیمکره‌های مخ و از پایین به نخاع محدود می‌شود. ساقه‌ی مغز یک قطعه‌ی بسیار مهم بدن است که بسیاری از عملکردهای ضروری بدن شامل: تنفس، فشارخون، ضربان قلب، هضم، برانگیختگی و هوشیاری تحت کنترل آن می‌باشد. ساقه‌ی مغز مرکز ارتباطی برای عبور سیگنالها از طریق مغز به بقیه بدن است و منشأ بسیاری از اعصاب جمجمه-ای است که کنترل مژه، حرکات صورت، حرکات چشم، بلع و حرکات روده را بر عهده دارد. نتایج مطالعات کالبدشناسی ساقه‌ی مغز نشان داد که تجمع پروتئین نوکلئین در ساقه‌ی مغز مقدم بر تخریب نورون های دوپامینرژیک است و باعث تحلیل نورونی در جسم سیاه بیماران پارکینسونی می‌شود. هر چند مکانیسم های سلولی و مولکولی ای که باعث این رویداد می‌شوند ناشناخته است (۸). فاکتورهای نروتروفیک مانند فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز و فاکتور نروتروفیک مشتق از سلول های گلیال نقشی مخالف پروتئین آلفا ایفا می‌کنند و دارای نقشی سودمند در مقابل تجمع پروتئین آلفا و متعاقب آن تخریب نورونی

می‌باشند (۵ و ۴). عصاره‌ی میوه، برگ و دانه‌ی گیاه ازگیل ژاپنی حاوی مقادیر زیادی ترکیبات فلاونوئیدی و فنولیک هستند و رابطه‌ی مثبت مقدار ترکیبات فلاونوئیدی و فنولیک در این عصاره‌های گیاهی با ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها تایید شده است (۶). عامل نروتروفیک مزانسفالی مشتق از آستروسیت (Mesencephalic Astrocyte-derived Neurotrophic Factor (MANF) یک فاکتور نروتروفیکی تازه کشف شده با وزن مولکولی ۱۸ کیلو دالتون و دارای ۱۸۵ اسیدآمینه است که در ابتدا در مغز میانی موش ها کشف شد (۷). در شرایط آزمایشگاهی MANF بقاء سلول های عصبی دوپامینرژیکی مغز میانی جنینی را حمایت می‌کند. حضور mRNA پروتئین MANF در مغز میانی موش های جنینی نشان داده است که امکان دارد نقشی در پیشرفت سلول های دوپامینرژیکی جنینی داشته باشد. در آزمایشات شیمیایی در بافت و سلول نشان داده شده که MANF به صورت گسترده‌ای از بافت های عصبی و غیر عصبی موش های بزرگسال بیان می‌شود و در محیط آزمایشگاهی باعث عمر طولانی و فعالیت بیشتر نرون های دوپامینرژیک در مغز میانی موش های بالغ می‌شود (۸). بیماری پارکینسون دومین بیماری مخرب سیستم عصبی بعد از آلزایمر محسوب می‌شود. علت اصلی این بیماری تخریب نورون های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه و پایانه های آن در جسم مخطط است (۹). عواملی از قبیل استرس اکسایشی، نقص در عملکرد میتوکندری، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و تجمع آهن از مهم ترین علل تخریب نورون های دوپامینرژیکی هستند (۱۰ و ۱۱). استرس اکسایشی عامل اساسی در مرگ نورون ها در بیماری پارکینسون است. هدف جلوگیری از استرس اکسایشی، کاهش پیشرفت بیماری و مهیا کردن پیشرفت های درمانی است (۱۲). تاناکا و همکاران فعالیت هیپوکلاسمی عصاره دانه گل گیاه ازگیل ژاپنی را در مدل های دیابت نوع ۲ در رت و موش گزارش نمودند (۱۳). اتو و همکارانش پیشنهاد نمودند که خاصیت ضد التهابی عصاره برگ گیاه ازگیل ژاپنی باعث مهار

حاصل گردید. ابتدا موش های گروه دوم و سوم به ترتیب حلال عصاره (سالمین) و عصاره (۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن) را به مدت دوازده هفته و هر هفته سه روز به صورت درون صفاقی دریافت کردند (۱۵). در ادامه موش های این دو گروه با تزریق داخل صفاقی کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۴ mg/kg) بی هوش و به کمک دستگاه استروتاکس مدل Steolting بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون محلول ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) را داخل بطن مغز دریافت کردند. با استفاده از اطلس واتسون و پاکسینوس مکان مناسب برای انجام عمل استریوتاکسی با مختصات (قدامی-خلفی ۰/۵)، (جانبی ۱) و شکمی (۱/۵) مشخص شد (۲۱). غلظت تزریق ۲۵۰ میکرولیتر برای هر رت بود (۲۲). با عمل جراحی کانال ۲۷ گیج دندانپزشکی داخل جمجمه-ی موش ها قرار گرفت. سپس با استفاده از سرنگ همیلتون محلول ۶-هیدروکسی دوپامین با سالمین به مدت ۳۰ ثانیه برای هر میکرولیتر تزریق شد. پس از پایان تزریق از فنر ۸ میلیمتری برای جلوگیری از خروج مایع از کانال استفاده شد و موش به مدت ۱ دقیقه ثابت نگه داشته شد. برای بررسی اثر تزریق (۶-هیدروکسی دوپامین) از تست چرخشی با فاصله ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت استفاده شد. در این تست موش را از ناحیه ی دم بالا نگه داشته و در صورتی که موش نتواند تعادلش را حفظ کند، نشانه ی تاثیر ۶-هیدروکسی دوپامین و پارکینسونی شدن موش ها تلقی می شود (۲۳). در مطالعه ی حاضر عدم تعادل و چرخش کامل و شدید موش های گروه عصاره + پارکینسون مشاهده شد. موش ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۴ mg/kg) بی هوش و سپس با جدا کردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و خارج کردن کل مغز از کاسه ی جمجمه، ساقه ی مغز از سایر قسمت های مختلف مغز جدا شد و فوراً در ازت مایع قرار گرفت. پس از منجمد شدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای منفی ۸۰ درجه نگه داری شد. بعد از همگن و سانتریفیوژ کردن، میزان غلظت MANF گروه ها با استفاده از روش الایزا و به وسیله ی کیت

هستند (۹) از آنجایی که بر طبق اطلاعات ما تاکنون نه در داخل کشور و نه در خارج از کشور در مورد تاثیر این عصاره بر سطوح MANF ساقه ی مغز در مدل استرس القاء شده با سم ۶-هیدروکسی دوپامین پژوهشی یافت نشده است. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر یک دوره ی ۱۲ هفته ای مصرف عصاره ی هیدروالکلی گل گیاه ازگیل ژاپنی بر محافظت از سطح MANF در مقابل سم ۶-هیدروکسی دوپامین در ساقه ی مغز موش های صحرایی نر بود.

## روش کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و طی آن داده های حاصل از تجربیات آزمایشگاهی بین گروه ها مورد بررسی آماری قرار گرفتند. در پژوهش حاضر ۲۷ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (دوازده هفته ای) از مرکز انستیتو پاستور آمل تهیه شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه در قفسه های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی به سه گروه: پایه (۹ سر)، کنترل (۹ سر) و گروه مصرف عصاره + پارکینسون (۹ سر)، تقسیم شدند. گل تازه ی گیاه ازگیل ژاپنی از مناطق اطراف بابلسر جمع آوری و خشک گردید. برای تهیه ی عصاره ی هیدروالکلی گل گیاه ازگیل ژاپنی مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه با مخلوط آب و اتانول به نسبت ۸۰/۲۰ در حجم ۶۰۰ میلی لیتر اضافه شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت به کمک دستگاه شیکر مدل KS500 با قدرت چرخش ۳۲۵ دور در دقیقه قرار گرفت. در مرحله بعد ابتدا از پارچه ی سفید منفذدار و سپس دو بار از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ عبور داده شد. محلول صاف شده وارد بالون تقطیر شد و به کمک دستگاه تبخیر کننده ی چرخان تحت خلأ حلال پراکتی گردید. این عمل در دمای ۴۰ درجه ی سانتیگراد به مدت ۶ ساعت انجام گرفت (۱۹،۲۰). نهایتاً بعد از خشک کردن، با اضافه نمودن نرمال سالمین، محلول آبی عصاره

جدول ۱- میانگین  $\pm$  خطای استاندارد مقادیر MANF (نانوگرم/میلی لیتر) گروه‌های تحقیق

گروه‌ها	میانگین $\pm$ خطای استاندارد	حداقل	حداکثر
پایه	۳/۶ $\pm$ ۰/۱۳	۳/۳۵	۴/۱۳
کنترل	۲/۹ $\pm$ ۰/۰۴	۲/۸۳	۳
عصاره + پارکینسون	۳/۰۵ $\pm$ ۰/۵۳	۲/۰۶	۳/۵۲

مغز در موش‌های گروه عصاره + پارکینسون نسبت به گروه پایه ( $p=0/223$ ) تفاوت معنادار نداشته اما با گروه کنترل پارکینسونی تفاوت معنادار دارد ( $p=0/042$ )، ( $F=11/141$ )، بنابراین، یافته‌های تحقیق نشان دهنده تأثیر مثبت مصرف عصاره ازگیل ژاپنی در برابر آثار سمی ناشی از تزریق ۶ هیدروکسی دوپامین بر سطح MANF ساقه مغز می باشد.

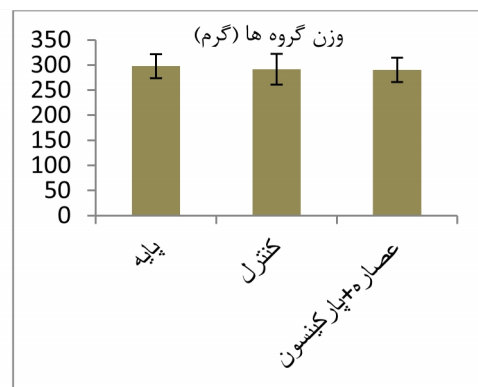
### بحث و نتیجه گیری

نتایج حاضر نشان می دهد که تزریق درون بطنی ۶ هیدروکسی دوپامین باعث کاهش سطح MANF در گروه کنترل شد. همچنین تزریق عصاره‌ی گل گیاه ازگیل ژاپنی به صورت درون صفاقی باعث جلوگیری از کاهش سطح MANF در گروه عصاره + پارکینسون شد. مصرف عصاره ازگیل ژاپنی به دلیل اثرات ضد اکسایشی از کاهش پروتئین حفاظتی MANF جلوگیری کرده و اثر حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون ایجاد می کند. تاکنون تحقیقی که اثر حفاظتی مصرف طولانی مدت و منظم عصاره‌ی گل گیاه ازگیل ژاپنی را روی سطح MANF ساقه مغز موش‌های در معرض سم عصبی ۶-هیدروکسی دوپامین بررسی کرده باشد چه در داخل کشور و یا در خارج کشور مشاهده نشده است و مطالعه‌ی حاضر اولین پژوهش در این رابطه می باشد. امروزه برای بررسی اثرات محافظتی و درمانی برخی ترکیبات سنتزی و طبیعی از مدل‌های حیوانی بیماری پارکینسون استفاده می شود. یکی از متداول‌ترین نوروتوکسین نورون‌های دوپامینی، ۶-هیدروکسی دوپامین است که از طریق ترانسپورتهای دوپامینی وارد این نورون‌ها می گردد. استرس

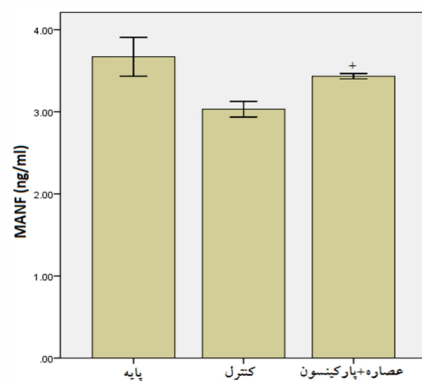
آزمایشگاهی (کازویو، ژاپن) با شماره کاتالوگ CSB-EL002118-RA اندازه‌گیری شد. ضریب پراکندگی و درجه‌ی حساسیت این روش به ترتیب ۰/۰۷۸ و ۰/۸٪ و  $<0/078$  نانوگرم بر میلی لیتر بود. در نهایت به منظور بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه‌های تجربی و کنترل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. همچنین آزمون تعقیبی TUKEY در سطح معنی‌داری  $P \leq 0/05$  برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ انجام شد.

### یافته‌ها

بر اساس تجزیه و تحلیل آماری مشخص شد که وزن گروه‌ها بعد از دوره‌ی پژوهش تفاوت معناداری نداشت ( $p=0/806$ ) (نمودار ۱). سطح MANF ساقه‌ی مغز در موش‌های گروه کنترل نسبت به گروه پایه کاهش داشته است. همان طوری که در نمودار ۲ مشاهده می شود سطح MANF ساقه‌ی



نمودار ۱- تغییرات وزن گروه‌ها



+ تفاوت معنادار با کنترل پارکینسونی  
نمودار ۲- تغییرات MANF ساقه مغز در گروه‌ها

متراکم جسم سیاه حتی پس از نورودژنراسیون القا شده به وسیله‌ی نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین می شود (۳۱). مشابه ترین تحقیق با پژوهش حاضر در مورد اثرات عصاره‌ی ازگیل ژاپنی، تحقیق کیم و همکاران است. آن‌ها اثر آنتی اکسیدانی ازگیل ژاپنی بر روی بیماری آلزایمر که بیماری تحلیل نورونی است را مورد بررسی قرار دادند و چنین گزارش کردند که مصرف عصاره‌ی ازگیل ژاپنی از افزایش پراکسیداسیون لیپید جلوگیری کرده و موجب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز می‌شود. به طور کلی عصاره ازگیل توانست از استرس اکسایشی و اختلالات شناختی بیماری آلزایمر جلوگیری کند (۳۲). در تحقیقی که توسط تاناکا و همکاران انجام شد محققین به این نتیجه رسیدند مصرف چای چینی و چای ژاپنی به علت دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی موجب کاهش خطر ابتلا به پارکینسون می‌شود. همچنین قهوه و کافئین خطر ابتلا به پارکینسون را کاهش می‌دهند (۳۳). برگ ازگیل ژاپنی برای درمان تب، بیماری‌های تنفسی مزمن و بیماری‌های دستگاه گوارش استفاده می‌شود. گل ازگیل ژاپنی حاوی تریترین‌ها، سسکوئیترپن‌ها، فلاونوئیدها، تانین‌ها، گلیکوزیدهای مگاستیگمان و اجزای فنولیک است که دارای ویژگی‌های ضدتومور، ضد ویرال، هایپوگلیسمی، ضد دیابت و ضد التهاب می‌باشد (۳۴). از طرفی به واسطه‌ی ترکیبات فنولیک در این عصاره اثرات ضد التهابی و ضد دیابتی آن نیز گزارش شده است (۳۵). در این پژوهش به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی عصاره‌ی گل این گیاه و نقش حفاظت نورونی آن، برای اولین بار اثر پیش درمانی مزمن عصاره‌ی گل گیاه ازگیل ژاپنی که نسبت به خود میوه یا هسته‌ی ازگیل ژاپنی دارای خواص آنتی اکسیدانی بیشتری است، بر میزان تغییرات غلظت پروتئین حفاظتی MANF در برابر آسیب نورونی ناشی از سم عصبی ۶- هیدروکسی دوپامین مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌ی این پژوهش پیشنهاد می‌کند که مصرف این عصاره به طور چشمگیری از کاهش MANF در برابر ضایعه-ی ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین جلوگیری می‌کند.

اکسایشی القا شده با ۶- هیدروکسی دوپامین به واسطه‌ی افزایش گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن می‌تواند به لیپید، پروتئین و DNA آسیب رسانده و موجب تخریب این نورون‌ها شود (۲۴ و ۲۵ و ۱۱). در راستای این مطالعه برخی از پژوهش‌ها، تاثیر مصرف عصاره‌های گیاهی را بر مدل حیوانی بیماری پارکینسون گزارش نمودند. برای نمونه، مصرف خوراکی عصاره گیاهی جینسنگ باعث توقف تخریب سلولی جسم سیاه و کاهش بروز اختلالات عملکردی درموش‌های پارکینسونی می‌شود (۲۶). اشراق جزی و همکاران در تحقیقی اثر آب انگور قرمز که دارای خواص آنتی اکسیدانی است را بر روی موش‌های پارکینسونی مورد بررسی قرار دادند، استفاده از آب انگور توانست میزان چرخش در موش‌های صحرایی نر را کاهش دهد (۲۷). وولف دیتر و همکاران گزارش کردند که مصرف خوراکی عصاره گیاه جینسنگ (Ginseng) موجب توقف تخریب سلولی در جسم سیاه شد و اختلالات حرکتی را در موش‌های صحرایی نر پارکینسونی شده کاهش داد (۲۸). گلرانا و همکاران اثر مکمل آنتی اکسیدانی کورکومین را بر روی بیماری پارکینسون مورد بررسی قرار دادند، مصرف کورکومین موجب بهبود علائم حرکتی و بهبود در تست چرخشی رت‌های پارکینسونی شده توسط ۶ هیدروکسی دوپامین شد (۲۹). عصاره‌ی گل گیاه ازگیل ژاپنی دارای ترکیبات مختلفی است که فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را نشان می‌دهند، که از جمله‌ی آن‌ها اسید کافیک، اسید کلروژنیک، اسید اولنولیک، اسید اورسولیک و آمیگدالین می‌باشند. همچنین بتا- سیتو استرول از تولید اکسیژن فعال به وسیله‌ی نوتروفیل‌ها جلوگیری می‌کند و بدین ترتیب در پایداری غشای سلول نقش دارد (۵ و ۱۹). پرومال و همکاران گزارش نمودند که پیش درمان با ویتامین E خوراکی، اثر سمی ۶- هیدروکسی دوپامین را بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز موجود در تنه‌ی مغزی و هسته‌ی ساب تالامیک کاهش می‌دهد (۳۰). عصاره‌ی گیاه ماریتیغال نیز که غنی از آنتی اکسیدان سیلی مارین است، موجب بقای نورون‌های نیگرواستریاتال در بخش

9. Hirsch E, Graybiel AM, Agid Y. Melanized dopaminergic neurons are differentially susceptible to degeneration in Parkinson's disease. *Nature*; 1988. 334: 345-48.
10. Graham DG. Oxidative pathways for catecholamines in the genesis of neuromelanin and cytotoxic quinines. *Mol Pharmacol*; 1978. 14: 633-643.
11. Graham DG, Tiffany SM, Bell WR. Oxidation versus covalent binding of quinines as the mechanism of toxicity of dopamine, 6-hydroxydopamine, and related compounds toward c1300 neuroblastoma cells in vitro. *Mol Pharmacol*; 1978. 14: 644-653.
12. Stern MB. Parkinson's disease: early diagnosis and management. *J Fam Pract*; 1993. 36(4): 439-46.
13. Kazunari T, Shoko N, Nozomi M, Shizuka T. Hypoglycemic Activity of *Eriobotrya japonica* Seeds in Type 2 Diabetic Rats and Mice. *OsamuBiosci. Biotechnol. Biochem*; 2008. 72(3): 686-693.
14. Takuhiro Ut, Natnaprach Suangkaew, Osamu Morinaga, Hiroko Kariyazono, Shigeru Oiso, Yukihiro Shoyama. *Eriobotryae Folium Extract Suppresses LPS-Induced iNOS and COX-2 Expression by Inhibition of NF- $\kappa$ B and MAPK Activation in Murine Macrophages*. *The American Journal of Chinese Medicine*; 2010. 38(5): 985-994.
15. Esmaili A, Khavari-Nejad RA, Hajizadehmoghaddam A, Chaichi M, Ebrahimzadeh M. Effects of *Eriobotrya japonica* (Lindl.) flower extracts on mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats. *Chin Sci Bull*; 2012. 57: 3891-3897.
16. Ercisli S, Gozlekci S, Sengul M, Hedegus A, Tepe S. Some physicochemical characteristics, bioactive content and antioxidant capacity of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) fruits from Turkey. *Scientia Horticulturae*; 2012. 148: 155-159.
17. Lu H, Chen J, Li W-L, Ren B-R, Wu J-L, Zhang H-Q. Hypoglycemic effect of the total flavonoid fraction from *Folium Eriobotryae*. *Phyto medicine*; 2009. 16: 967-971.
18. Junko Y, Daisuke T, Atsuhide H, Masahide O, Saburo Y, Masahiko K, et al, editors. Scavenging of Reactive Oxygen Species by *Eriobotrya japonica* Seed Extract. *Biol Pharm Bull*; 2006. 29(3): 467-471.
19. Nishioka Y, Yoshioka S, Kusunose M, Cui T, Hamada A, Ono M, et al editors. Effects of Extract Derived from *Eriobotrya japonica* on Liver Function Improvement in Rats. *Biol Pharm Bull*; 2002. 25(8): 1053-7.
20. Rodríguez Díaz M, Abdala P, Barroso-Chinea P, Obeso J, González-Hernández T. Motor behavior change after intracerebroventricular injection of 6-hydroxydopamine in the rat: an

کند و احتمالاً می تواند نقش حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون داشته باشد. عدم تنظیم سیکل شبانه روزی انجام تمرینات آزمودنی ها، تعیین میزان فعالیت در روزی که آزمودنی ها عصاره دریافت کردند و انجام تمرین آزمودنی ها به صورت اختیاری که ممکن است بر متغیر MANF تاثیر داشته باشند از جمله محدودیت های این پژوهش هستند. پیشنهاد می شود پ در تحقیقات آینده عوامل ذکر شده را مدنظر قرار داده و همچنین عامل های اکسایشی و فاکتورهای التهابی را مورد بررسی قرار دهند تا تاثیر متقابل این عوامل با MANF روشن تر شود. نتایج این پژوهش پیشنهاد می کند مصرف این عصاره احتمالاً می تواند نقش حفاظتی در برابر بیماری پارکینسون داشته باشد.

## منابع

1. Benzie IF. Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*; 2003. 136: 113-126.
2. Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann Neural*; 2003. 53: 26-38.
3. Ito H, Kobayashi S, Takamatsu Y, Li S, Hatan T, Sakagami H. Polyphenols from *Eriobotrya japonica* and cytotoxicity against human oral tumor cell lines. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*; 2000. 48: 687-693.
4. Wang H, CAO G and PRIOR RL. Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric. Food Chem*; 1996. 44: 701-705.
5. Zhou C, Chen K, Sun C, Chen Q, Zhang W, Li X. Determination of oleanolic acid, ursolic acid, and amygdalin in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl. by HPLC. *Biomed Chromatogr*; 2007. 21: 755-61.
6. Luximon-Ramma A, Bahorun T, Soobrattee MA, Aruoma OI. Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *J Agric Food Chem*; 2002. 18: 5042-7.
7. Zong-Peng S, Lei G, Shu-Hong H, Zhao G, Lei C and Zhe-Yu C. Intracellular trafficking and secretion of cerebral dopamine neurotrophic factor in neurosecretory cells. *Journal of Neurochemistry*; 2011. 117: 121-132.
8. Rossmann M, Schultz-Heienbrock R, Behlke J, Rimmel N, Alings C, Sandhoff K, et al. Crystal structures of human saposins C and D: Implications for lipid recognition and membrane interactions. *Structure*; 2008. 16: 809-817.

33. Tanaka K, Miyake Y, Fukushima W, Sasaki S, Kiyohara C, Tsuboi Y et al. Intake of Japanese and Chinese teas reduces risk of Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*; 2012. 17: 446-450.
34. Kim JS, Harikrishnan R, Kim MC, Jang IS, Kim DH, Hong SH et al. Enhancement of *Eriobotrya japonica* extracts on non-specific immune response and disease resistance in kelp grouper *Epinephelus bruneus* against *Vibrio carchariae*. *Fish & Shellfish Immunology*; 2011. 31: 1193-1200.
35. Tanaka K, Nishizono S, Makino N, Tamaru S, Terai O, Ikeda I. Hypoglycemic activity of *Eriobotrya japonica* seed in type 2 diabetic rat and mice. *Biosci Biotechnol Biochem*; 2008. 72(3): 686-93.
- animal model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res*; 2001. 122(1): 79-92.
21. Smith BA, Goldberg NR, Meshul CKE. Effects of treadmill exercise on behavioral recovery and neural changes in the substantia nigra and striatum of the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-lesioned mouse. *Brain Res*; 2011. 86: 70-80.
22. Tajiri N, Yasuhara T, Shingo T, Kondo A, Yuan W, Kadota T, et al editors. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats. *Brain Res*; 2010. 15(1310): 200-7.
23. White W-H. The laboratory rat. In T. Pool (Ed.): *UFAW Handbook on the care and management of laboratory animals* : 6th Ed. Longman scientific and technical, Harlow, UK. 1987.
24. Kaakkola S, Tervainen H. Animal models of Parkinsonism. *Pharmacology and Toxicology*; 1990. 67: 95-100.
25. Gerlach M, Riederer P. Animal model of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. *J Neural Transm*; 1996. 103(8-9): 987-1041.
26. Van Kampe J, Robertson H, Hagg T, Drobnik R. Neuroprotective actions of the ginseng extract G115 in two rodent models of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*; 2003. 184(1): 521-9.
27. Eshraghi-Jazi F, Alaei H, Azizi-Malekabadi H. The effect of red grape juice and exercise, and their combination on Parkinson's disease in rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*; 2012. 2: 90-96.
28. Wolf-dieter R, Shu L, Gabriele G. Neuroprotective effect of ginsenosides. *Neurobiological Experimental*; 2006. 66: 369-375.
29. Khuwaja G, Moshahid Khan M, Ishrat T, Ahmad A, Raza S.S, Ashfaq M, et al, editors. Neuroprotective effects of curcumin on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats: Behavioral, neurochemical and immunohistochemical studies; *Brain Research*; 2011. 368: 254-263.
30. Perumal AS, Gopal VB, Tordzro WK, Cooper TB, Cadet JL. Vitamin E attenuates the toxic effects of 6-hydroxydopamine on radical scavenging systems in rat brain. *Res Bull*; 1992. 29(5): 699-701.
31. Baluchnejad Mojarad T, Roghani M. Role of estrogenic receptors and oxidative stress on protective effect of aqueous extract of *Silybum marianum* in hemi-parkinsonian rat. *Kosar Medical Journal*; 2011. 15(4): 207-12.
32. Kim MJ, Lee J, Seong AR, Lee YH, Kim YJ, Baek HY, et al. Neuroprotective effects of *Eriobotrya japonica* against b-amyloid-induced oxidative stress and memory impairment. *Food and Chemical Toxicology*; 2011. 49: 780-784.

## Protective effects of *Eriobotrya Japonica* flower extracts (EJFE) against intraventricular 6-hydroxydopamine-induced lesion in male rats

\***Zia Fallah-mohammadi**, PhD, Associate Professor of Sport Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran (\*Corresponding author). [ziafalm@yahoo.com](mailto:ziafalm@yahoo.com)

**Mohammad Aghasi**, BS, MSc candidate, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran [mohammad.aghasi65@gmail.com](mailto:mohammad.aghasi65@gmail.com)

**Marjan Ahmadi Kordasiabi**, MSc candidate, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Mazandaran Science and Research Branch, [ahmadi.marjan3@yahoo.com](mailto:ahmadi.marjan3@yahoo.com)

### Abstract

**Background:** Oxidative stress contributes to the cascade leading to dopamine cell degeneration in Parkinson's disease (PD). *Eriobotrya Japonica* flower extract (EJFE) has abundant amount of phenolic compounds. This study was performed with the aim of protective effects of *Eriobotrya Japonica* flower extract on intraventricular 6-hydroxydopamine-induced lesion in male rats.

**Methods:** In this laboratory experimental study rats were divided into three groups: basic, Control and extract-Parkinson. At the final study stage, the control and extract-parkinson groups received 6-hydroxydopamine (6-OHDA) (dissolved in saline) and experienced the stress. The extract-Parkinson group received 200 mg/kg EJFE intraperitoneally three times per week for 12 weeks. The Mesencephalic Astrocyte-derived Neurotrophic Factor (MANF) levels in the brainstem were measured by ELISA method.

**Results:** Data was analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey post-hoc test. Results showed that the EJFE significantly decrease the MANF levels in Parkinson rats ( $p=0.042$ ).

**Conclusion:** The results of this study showed that pre-treatment with hydroalcoholic extraction of *Eriobotrya japonica* increases protection against 6-OHDA lesion and may have protective role against Parkinson disease.

**Keywords:** *Eriobotrya japonica* flower extract, 6-hydroxydopamine, MANF, Rat