اثر حفاظت نورونی عصاره آبی زرشک (*Berberis vulgaris* L.) در مدل بیماری پارکینسون در موش صحرایی نر

فریبا سالار[1]، سیدعلی ضیایی[2]*، سیما نصری[3]، مهرداد روغنی[4]، محمد کمالی‌نژاد[5]

۱- کارشناس ارشد، گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور تهران، تهران
۲- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
۳- استادیار، گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور تهران، تهران
٤- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران
٥- مربی، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، اوین، بلوار دانشجو، بن‌بست کودکیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تلفن و نمابر: ۲۲٤۳۹۹٦۹ (۰۲۱)
پست الکترونیک: saziai@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۱۰ **تاریخ تصویب:** ۸۹/۷/۱٤

چکیده

مقدمه: بیماری پارکینسون، تحلیل نورون‌های دوپامینی در ساختمان متراکم جسم سیاه[1] و دیگر نواحی ساقه مغز است. استرس اکسیداتیو نقش اصلی را در مرگ نرون‌ها در این بیماری بازی می‌کند. مهارکنندگان ACE (آنزیم مبدل آنژیوتانسین) نقش ثابت شده‌ای در جلوگیری از استرس اکسیداتیو دارند. زرشک یک مهارکننده ACE شناخته شده است.

هدف: هدف این تحقیق بررسی عصاره آبی زرشک در درمان بیماری پارکینسون است.

روش بررسی: ۳۲ موش صحرایی به ٤ گروه شاهد، تخریب با نوروتوکسین ٦- هیدروکسی دوپامین، درمان با عصاره آبی زرشک و کاپتوپریل تقسیم شدند. در گروه تخریب ٥ میکرولیتر از نوروتوکسین محلول در سالین نرمال به داخل جسم سیاه نیمکره چپ تزریق شد و به گروه شاهد به همان حجم، محلول سالین نرمال تزریق شد. گروه درمان علاوه بر نوروتوکسین، عصاره آبی زرشک را به مدت ۱۰ روز (۷ روز قبل از تزریق نوروتوکسین و ۳ روز بعد از آن) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه کاپتوپریل به جای عصاره، کاپتوپریل را دریافت کردند. تست‌های رفتاری سفتی عضلانی و چرخش، اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و همچنین اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ACE سرمی و مغزی در رابطه با همه گروه‌ها بررسی شدند.

نتایج: تست‌های رفتاری سفتی عضلانی و چرخش، نشان دادند که میزان چرخش در گروه عصاره آبی زرشک و کاپتوپریل به طور معنی‌داری کمتر از گروه نوروتوکسین بود ($p=$ ۰/۰۰۲) و پراکسیداسیون لیپیدها فقط درگروه کاپتوپریل کاهش یافت ($p=$ ۰/۰۱۳). فعالیت آنزیم ACE توسط کاپتوپریل وزرشک در سرم کاملاً مهار شد. عصاره آبی زرشک باعث مهار آنزیم مغزی نیز شد.

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی آبی زرشک احتمالاً با مهار آنزیم ACE دربافت مغز می‌تواند باعث کاهش علایم رفتاری بیماری پارکینسون شود.

گل‌واژگان: بیماری پارکینسون، ٦ - هیدروکسی دوپامین، زرشک، آنزیم مبدل آنژیوتانسین

[1] SNC

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

مقدمه

پارکینسون از گروه بیماری‌های تحلیل برنده[1] دستگاه خارج هرمی است که یاخته‌های جسم سیاه[2] واقع در مغز میانی به تدریج از بین می‌روند و دوپامین که توسط آنها ساخته می‌شود÷ کاهش می‌یابد.

تشکیل رادیکال‌های آزاد درمیتوکندری و واکنش‌های متابولیسمی از عواملی است که منجر به مرگ سلول و ایجاد بیماری می‌شود که با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین E, C و عصاره‌های گیاهی می‌توان مانع تشکیل رادیکال‌های آزاد شد.

طبق مطالعات قبلی مشخص شده که مهار سیستم رنین- آنژیوتانسین[3] با مهار آنزیم مبدل آنزیوتانسین[4]، مانع اکسیداسیون NADPH می‌شود و درمیتوکندری ذخایر احیاکننده افزایش می‌یابد [۱].

مغز حاوی سیستم آنژیوتانسین موضعی است و نتایج بررسی‌های قبلی بیانگر این است که آنژیوتانسین و گیرنده‌های آن نقش مهمی در تنظیم میزان دوپامین جسم مخطط دارند. آنژیوتانسین و گیرنده‌های آن و همچنین آنژیوتانسینوژن و آنزیم مبدل آنژیوتانسین در جسم مخطط حضور دارند [۲]. آنژیوتانسین با تحریک گیرنده‌های AT1 در انتهای نورون‌های دوپامینی جسم مخطط باعث آزادسازی دوپامین می‌شود [۳] با این حال تحقیقات جدید نشان داده که در چندین گونه سلولی از جمله در نورون‌ها گونه‌های فعال اکسیژن[5] نقش مهمی در پیام‌رسانی آنژیوتانسین از طریق گیرنده‌های AT1 دارند. آنژیوتانسین باعث فعال شدن اکسیدازهای وابسته به NADPH می‌شوند که سوپراکسایدها را تولید می‌کنند و این اکسیدازها در بیماری‌هایی مانند فشار خون، دیابت و آترواسکلروزیس ایجاد می‌شوند [٤]. شواهد روزافزونی در تاثیر استرس اکسیداتیو به عنوان عامل پاتوژن پیشرفت بیماری پارکینسون وجود دارد [۵]. بنابراین آنژیوتانسین می‌تواند با تولید ROS از طریق گیرنده‌های AT1 باعث تخریب اعصاب دوپامینی شود و دستکاری اجزای RAS جهت درمان بیماران پارکینسونی قابل توجه است. در مطالعه‌ای تزریق زیر جلدی captopril به مدت ۹ روز به موش‌هایی که توسط ٦- هیدروکسی دوپامین دچار پارکینسون شده بودند [٦] باعث اثر محافظت‌کنندگی عصبی و کاهش استرس اکسیداتیو در قسمت مغز میانی و جسم مخطط شد [۷]. در مطالعه‌ای که به منظور شناسایی گیاهان دارویی مورد استفاده در طب سنتی از نظر قدرت مهارکنندگی فعالیت ACE صورت گرفت ۱۳۵ گیاه مورد مصرف در درمان فشار خون مورد بررسی قرار گرفتند. یکی از این گیاهان که توانست در محیط invitro اثرات مهارکنندگی ACE خوبی از خود نشان دهد عصاره آبی گیاه زرشک بود. از آنجایی که مهارکنندگان ACE جدیدتر با قدرت حفاظت نورونی بیشتر و اثرات قلبی عروقی کمتر ممکن است جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری پارکینسون داشته باشد، این تحقیق بر روی گیاه زرشک انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد زیر

1,1,3,3-Tetraethoxy propane, 2,4-Dinitrophenyl Hydrazine 97% Cresyle violet, Apomorphine Guanidine hydrochloride minimum 98%, Hippuryl-His-Leu, Streptomycin sulfate و Tritonx-100

از شرکت سیگما فرانسه خریداری شد و مواد

Desferrioxamine, Hydroxy dopamine, Ketamine, Magnesium acetate tetrahyrate, Sucrose, Thiobarbituric acid, Trichloro acetic acid, Xylazine

از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

روش‌ها

انتخاب حیوان

در این پژوهش از موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar با محدودهٔ وزنی ۲۵۰ – ۲۰۰ گرم استفاده شد.

۳۲ موش به صورت تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند (در هر گروه ۸ موش):

[1] Degenerative
[2] Substantia nigra
[3] RAS
[4] ACE
[5] ROS

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

۱ـ گروه تخریب که جسم سیاه آن تخریب می‌شود.
۲ـ گروه Sham و دریافت‌کننده نرمال سالین زیرجلدی و داخل مغزی.
۳ـ گروه درمان که ۷ روز قبل از تخریب جسم سیاه و تا ۳ روز بعد از آن تحت تزریق صفاقی (۱۰ mg/kg) درمان عصاره زرشک قرارگرفتند.
٤ـ گروه کاپتوپریل که مانند گروه ۳، ۷ روز قبل از تخریب جسم سیاه و ۳ روز بعد از آن تزریق داخل صفاقی کاپتو پریل (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت کردند. زمان‌های تزریق عصاره‌ها و کاپتوپریل در ۲٤، ٤۸، ۷۲، ۹٦، ۱۲۰، ۱٤٤ ساعت قبل از تزریق نوروتوکسین و ۲، ٤، ۸، ۲٤، ٤۸، ۷۲ ساعت بعد از تزریق نوروتوکسین بود.

ایجاد مدل پارکینسونی

برای تهیه این مدل ابتدا موش‌ها با تزریق درون صفاقی ۱۰۰ mg/kg کتامین و ۵ mg/kg گزیلازین بی‌هوش شدند. سپس با استفاده از دستگاه استریوتکس مدل Stoelting سرموش را ثابت و در مختصات جسم سیاه تزریقات را انجام دادیم. این مختصات عبارت است از:
AP = -4/8 mm to bregma ، DV = -8.3 mm ، (چپ) ML = 2 mm ، از سطح استخوان جمجمه که بر اساس اطلس Wastson & Paxinos انجام گرفت.

سپس توکسین ٦- هیدروکسی دوپامین (۲ mg/ml، ۰/۱ درصد ویتامین C) را به میزان ۵ میکرولیتر به کمک سرنگ هامیلتون و با سرعت ۱ L/min μ تزریق کردیم.

تهیه عصاره آبی زرشک *Berberis vulgaris* L.

زرشک از شهرستان سبزوار در تاریخ آبان‌ماه سال ۸۷ تهیه، شناسایی و عصاره‌گیری آن در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد. ۱۰۰ گرم زرشک را در یک لیتر آب جوش آمده داخل بشر می‌ریزیم و به مدت ۲ ساعت در محیط آزمایشگاه می‌ماند. سپس محتویات داخل بشر را با قیف و کاغذ صافی صاف کرده، سپس محلول صاف شده را در دستگاه بن‌ماری می‌گذاریم. بدین‌ترتیب از ۱۰۰ گرم زرشک، ۱۰ گرم عصاره به دست می‌آید.

تست سفتی عضلانی[1]

۷۲ ساعت پس از تزریق داخل SNC، این تست انجام می‌شود. حیوان بر روی میز قرار می‌گیرد، چنانچه طرز ایستادن و راه رفتن حیوان طبیعی بود، نمره‌ای دریافت نمی‌کند (نمره صفر می‌گیرد) در صورتی که حیوان روی میز قرار گیرد و در اثر سفتی عضلات بی‌حرکت باقی بماند و یا با زحمت با حرکت دست‌ها و پاها شروع به حرکت کند، به حیوان نمره‌ی ۰/۵ داده می‌شود. دست راست حیوان را روی سکوی چوبی به ارتفاع ۳ سانتی‌متر قرار می‌دهیم. چنانچه حیوان حداقل ۱۰ ثانیه دست خود را از روی سکو برندارد نمره ۰/۵ دریافت می‌کند. برای دست چپ هم این آزمایش صورت می‌گیرد. این مرحله در مجموع ۱ نمره دارد. دست راست حیوان را روی سکو ۹ سانتی‌متر قرار می‌دهیم. در صورت نگه داشتن دست خود نمره‌ی ۱ را می‌گیرد و برای دست چپ نیز به همین شکل آزمایش را انجام می‌دهیم. این مرحله در مجموع ۲نمره دارد. حیوان پارکینسونی کامل، نمره‌ی ۳/۵ را دریافت می‌کند و حیوان سالم نمره صفر می‌گیرد.

تست چرخش با Apomorphine

رفتار چرخشی موش‌ها به وسیله‌ی تزریق آپومورفین هیدروکلوراید (۲/۵ mg/kg)، آزمایش شود. چرخش‌های کامل در یک محفظه استوانه‌ای (به قطر ۳۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر) برای ٦۰ دقیقه در فواصل ۱۰ دقیقه‌ای در یک اتاق کاملاً ایزوله شده اندازه‌گیری می‌شود.

مطالعات بافت‌شناسی

در پایان کار، یک موش از هر گروه با دوز بالای کتامین وگزیلازین به طور عمیق بیهوش شد. ۰/۱ سی‌سی هپارین در قلب تزریق شد. سپس با تزریق ۲۰۰ سی‌سی محلول فیکساتیو (پارافرمالدئید ٤ درصد به همراه بافر فسفات M ۰/۱) در قلب

[1] Murprogo's test

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

عمل فیکس کردن مغز حیوان را انجام داده مغز را با دقت خارج می‌کنیم.

از مغزهای آماده شده، بلوک‌های نواحی استریاتوم و مغز میانی تهیه شد. سپس بلوک‌های مغزی در محلول حاوی بافر فسفات M ۰/۱ و سوکروز ۳۰ درصد به مدت ۲ - ۳ روز گذاشته شد تا سوکروز به مقدار کافی به داخل نمونه نفوذ نماید. بعد از آن نمونه‌ها را خارج کرده و توسط دستگاه Freezing microtom مدل 2800n leica، برش‌هایی به قطر ٤٠ میکرومتر زده شد. پس از جمع‌آوری مقاطع در ظرف‌های مخصوص حاوی بافر فسفات ۰/۱ مولار، مقاطع به کمک قلم موی ظریف، به دقت روی اسلاید (لام) های ژلاتینه قرارداده شده و پس از خشک شدن با رنگ کرزیل و یوله رنگ‌آمیزی و آبگیری شد.

شمارش کمی نورونی در ناحیه بخش متراکم جسم سیاه با بزرگنمایی X ۲۰۰ صورت گرفت. کل نورون‌ها از بخش مدیال تا انتهایی‌ترین (جانبی‌ترین) ناحیه SNC مورد شمارش قرار گرفتند.

ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدها

موش‌ها Decapite شده و مغز و خون جدا شد. پراکسیداسیون لیپیدها به وسیله تعیین غلظت مواد واکنش‌پذیر تیوباربیتوریک اسید[1] ارزیابی می‌شود. تعیین TBARS از طریق اسپکتروفوتومتری صورت می‌گیرد [۱]. به طور خلاصه یک حجم از بافت مغز با سه حجم از بافر ۲۰۰ میکرومول Na2po4/KH2po4 (PH 7.4)، محلول ایزوتونیک KCL، هیدروکسی تولوئن بوتیلات ۲۰۰ میکرومول و دفروکسامین توسط دستگاه هموژنایزر مدل Tomy micro smash Ms-100 به مدت ٤٠ ثانیه و ٤٠٠٠ rpm هموژنیزه می‌شوند. این ترکیبات برای جلوگیری از افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در طی انجام آنالیزها به کار برده می‌شوند. ۲۰۰ میکرولیتر از محلول هموژن با ۲۰۰ میکرولیتر محلول دترجنت SDS ۸ درصد مخلوط می‌کنیم و با افزودن اسید استیک ۲۰ درصد به مدت ۱ دقیقه ورتکس می‌شود. سپس تیو بار بیتوریک اسید ۰/۸ درصد اضافه می‌شود و مخلوط حاصل در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦٠ دقیقه انکوباسیون می‌شود. بعد از سرد شدن در دمای اتاق، ۳ میلی‌لیتر ان بوتانول اضافه شده به شدت هم زده شده و در دور ٤٠٠٠ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ می‌شود لایه رویی در ۵۳۲ نانومتر با یک دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری و سنجش صورت می‌گیرد. برای کالیبراسیون یک منحنی استاندارد (mM ۱۵۰ _۵ از ما نول دی‌آلدهید (MDA) رسم می‌شود که از هیدرولیز اسیدی ۳،۳،۱،۱- تترا اتوکسی پروپان به دست آمده است. غلظت پروتئین به آسانی طبق روش بردفورد با BSA به عنوان استاندارد به دست می‌آید.

ارزیابی اکسیداسیون پروتئین‌ها

اکسیداسیون پروتئین‌ها از طریق تعیین اجزا کربونیل پروتئین اندازه‌گیری می‌شود. اجزا کربونیل پروتئین به وسیله اسپکتروفتومتری طبق روش قبلی ارزیابی می‌شوند [۱]. تهیه هموژن مانند روش پراکسیداسیون لیپیدها صورت می‌گیرد برای رسوب و ته نشین شدن اسیدهای نو کلئیک از سولفات استرپتومایسین ۱ درصد (v/v ۱:۹) بر روی هموژن استفاده می‌شود که در rpm ۱۳،۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ می‌شود محلول رویی جدا و بر روی آن ۲۰۰ میکرولیتر اسید تری کلرواستیک M ۱ اضافه می‌شود. بعد از سونیکیشن و سانتریفوژ در rpm ۱۳۰۰۰ پلیت دوباره در M NaOH ۰/۵ با ورتکس شدید به مدت ۳ دقیقه حل می‌شود. سپس ۸۰۰ میکرولیتر ۲ و ٤_ دی نیترو فنیل هیدرازین mM ۱۰ در اسید کلریدریک M ۲ اضافه می‌شود و مخلوط در دمای اتاق به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی هم زده می‌شود و بعد از اضافه شدن اسید تری کلرواستیک M ۱ مخلوط سانتریفیوژ می‌شود و پلیت با مخلوط استیل استات اتانول (v/v ۱:۱) دوباره شستشو داده می‌شود. سپس پلیت شستشو داده شده دوباره با گوانیدین ٦ مولار در بافر KH2po4 (۲۰mM، pH= ۲/۳) مجدداً حل می‌شود و محلول در nm ۳۷۰ اندازه‌گیری می‌شود. اجزای کربونیل طبق منابع با استفاده از

[1] TBARS

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

$e = ۲۲،۰۰۰\ cm^{-۱}\ M^{-۱}$ محاسبه می‌شود. تعیین میزان پروتئین به روش بردفورد صورت می‌گیرد.

تعیین فعالیت آنزیم ACE در مغز و خون محیطی موش صحرایی

فعالیت آنزیم ACE سرم خون و مغز حیوانات کشته شده را به روش زیر اندازه‌گیری می‌کنیم:

μL ۱۰ از سرم یا هموژن بافتی را با μL ٤٠ سوبسترا (هیپوریل ال هیستیدیل ال. لوسین) در پلیت مخصوص و با کمک دستگاه Thermomixer مدل eppendorf-MTP به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و سرعت rpm ۳۰۰ انکوبه می‌کنیم. پس از گذشت زمان ۳۰ دقیقه متوقف‌کننده‌ی اسید فسفریک M ٥ به میزان μL ۱۵۰ اضافه می‌کنیم تا واکنش، متوقف شود. در این شرایط آنزیم ACE موجود در سرم یا هموژن بر روی سوبسترا عمل کرده و هیپوریل را از این زنجیره تری‌پپتیدی آزاد می‌کند و با سنجش میزان هیپوریک اسید به روش HPLC پی به میزان فعالیت آنزیم ACE می‌بریم. μL ۲۰ از هر نمونه را به انضمام سه غلظت از محلول استاندارد توسط دستگاه HPLC مدل Shimadzu با مشخصات پمپ: LC-10 ADVP، شناساگر:SPD-10AV ، سیستم کنترلر مدل: SCL-10AVP و نرم‌افزار Class-VP در طول موج ۲۲۸ نانومتر با سرعت $۱\ ^{ml}/_{min}$ فاز متحرک (نسبت ۱:۱ از متانول و KH2po4 ۰/۰۱ مولار و pH=3) مورد سنجش قرار می‌دهیم.

نتایج با آزمون آماری ANOVA و Tukey آنالیز شدند.

نتایج

تست چرخش: بعد از تزریق آپومورفین در گروه توکسین چرخش‌ها حدود ۱۱ برابر افزایش معنی‌دار یافت. در گروه درمانی با عصاره‌ی آبی زرشک و کاپتوپریل تفاوتی با گروه شم مشاهده نشد (جدول شماره ۱).

تست سفتی عضلانی: در گروه توکسین متوسط امتیاز موش‌ها (٠/٤ ± ٠/٨٥) بود. که تفاوت معنی‌داری با گروه شم، کاپتوپریل و عصاره آبی نداشت (جدول شماره ۱).

اکسیداسیون لیپیدها: میزان لیپید پراکسیداسیون در گروه توکسین بالاتر از گروه شم بود و در گروه کاپتوپریل به طور معنی‌داری پائین‌تر از گروه توکسین بود. در گروه عصاره، پراکسیداسیون لیپیدها تغییری نداشت.

پراکسیداسیون پروتئین‌ها: تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های درمانی با گروه شم و گروه توکسین مشاهده نشد (جدول شماره ۱).

فعالیت آنزیم ACE: میزان فعالیت آنزیم ACE در سرم موش‌ها در گروه زرشک و کاپتوپریل به طور معنی‌داری پائین‌تر از گروه توکسین بود و فعالیت آنزیم ACE در مغز موش‌ها فقط در گروه زرشک افت معنی‌داری را نشان داد (جدول شماره ۱).

بررسی بافت‌شناسی: در مورد گروه توکسین یک کاهش بارز و شدید در مورد نورون‌های دوپامینرژیک دیده می‌شود و این کاهش در مورد گروه توکسین درمان شده با زرشک به طور بارزی کمتر است (شکل شماره ۱).

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش مدل بیماری پارکینسون با استفاده از تزریق نوروتوکسین ٦- هیدروکسی دوپامین در نیمکره چپ در قسمت SNC موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar ایجاد شد. تست‌های رفتاری سفتی عضلانی و چرخش نشان دادند که میزان چرخش در گروه دریافت‌کننده عصاره آبی زرشک و کاپتوپریل به طور معنی‌داری کمتر از گروه نوروتوکسین است (p= ٠/٠٠٢) و پراکسیداسیون لیپیدها فقط در گروه کاپتوپریل موثربود (p= ٠/٠١٣). همچنین فعالیت آنزیم ACE توسط کاپتوپریل و زرشک در سرم کاملاً مهار شد.

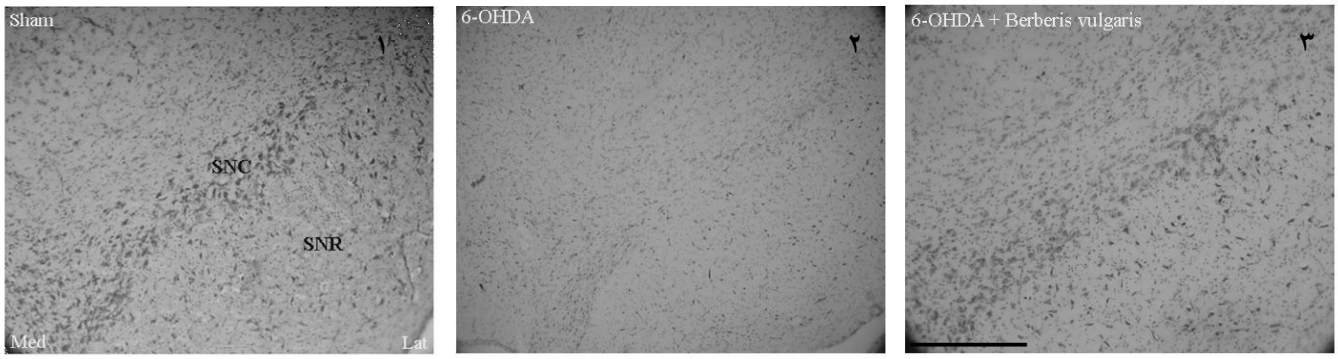
[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

جدول شماره ۱ – میانگین نتایج به دست آمده از تست‌های ذکر شده (همراه خطای استاندارد)، در گروه‌های مختلف

آزمایش	شاهد	توکسین	کاپتوپریل	زرشک	P value
تست چرخش	۱۷/٦۷ (۹/۷٤)	۱۹۲ (۵۵/۷۵)	۲۲/٤* (۱۱/٤۵)	۱۹** (۹/٤٤)	۰/۰۰۲
تست سفتی عضلانی	۰ (۰)	۰/۸۵ (۰/۳۹)	۰ (۰)	۰/۱۳ (۰/۰۸)	۰/۰۵۸
پراکسیداسیون لیپیدها	۱/۳۳ (۰/۳)	۱/۸٦ (۰/۱۳)	۰/۵۸* (۰/۱۳)	۱/٦٤ (۰/۳۷)	۰/۰۲۵
اکسیداسیون پروتئین‌ها	۳/۹۸ (۰/۷۸)	۵/٤ (۰/۸۱)	۵/٦۷ (۰/۷۲)	۳/۸ (۰/٤۲)	۰/۳۸۳
فعالیت ACE سرم	۲۲۵ (۱۰٦)	۳٤۷ (۲۵/۷٤)	٤٤/۱۹** (۱۵/۷)	۱۷۹* (۱٤/۷۸)	۰/۰۰۱
فعالیت ACE مغزی	۰/۰٤۱ (۰/۰۰۷)	۰/۰۷۸ (۰/۰۱٦)	۰/۰٤۲ (۰/۰۰٦)	۰/۰۲۱** (۰/۰۰۵)	۰/۰۰۲

* $p<۰/۰۵$ تفاوت با گروه توکسین، ** $p<۰/۰۱$ تفاوت با گروه توکسین با پس آزمون Tukey



شکل شماره ۱– در فتومیکروگراف، عکس بخشی از ناحیه مغز میانی موش صحرایی شامل دو قسمت، بخش متراکم (SNC) و بخش مشبک (SNR) در گروه‌های شم، توکسین (٦- هیدروکسی دوپامین) و توکسین درمان شده با عصاره آبی زرشک نشان داده شده است (خط مقیاس μ m ۲۵۰).

سیستم رنین ـ آنژیوتانسین به عنوان یک سیستم هورمونی مؤثر در تنظیم فشارخون و تعادل آب و نمک عمل می‌کند، آنژیوتانسین II در ساختار قلب، کلیه و سیستم رگی وجود دارد. سیستم RAS در بافت‌های زیادی دیده شده که در مغز به طور موضعی وجود دارد ترشح آنژیوتانسین II (AII)، سنتز دوپامین را از طریق رسپتورهای آنژیوتانسین در ترمینال‌های دوپامین تحریک می‌کند. AII اکسیدازهای NADPH اکسیداتیو را فعال می‌کند که در پیدایش و پیشرفت بیماری پارکینسون مؤثر است. مهارکنندگان ACE معمولاً برای درمان فشار خون و نارسایی قلبی به کار می‌روند [۸]. به علاوه آنها می‌توانند از سد خونی مغزی عبور کرده و میزان آنژیوتانسین را در مغز کاهش دهند. از آنجایی که آنژیوتانسین باعث آزادشدن دوپامین جسم مخطط می‌شود تجویز حاد مهارکنندگان ACE همانند captopril، مانع انتقال عصبی دوپامین در CNS می‌شود. اما تجویز طولانی مدت مهارکننده‌های ACE (حداقل ۷ روز) اثرات متضادی در بر دارد و باعث افزایش قابل توجه

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

میزان دوپامین و افزایش رهاسازی آن می‌شود که احتمالاً به تغییرات جبرانی در میزان انکفالین‌ها و یا تاکینین جسم مخطط مربوط است [۹]. بر اساس این شواهد به بیماران پارکینسونی پریندوپریل داده شد و پاسخ مفید آن بر روی ساخت و آزادسازی دوپامین مشاهده شد [۳]. در مطالعه‌ای دیگر تزریق زیر جلدی captopril به مدت ۹ روز به موش‌هایی که توسط ٦- هیدروکسی دوپامین دچار پارکینسون شده بودند باعث اثر محافظت‌کنندگی عصبی و کاهش استرس اکسیداتیو در قسمت مغز میانی و جسم مخطط شد [۷]. نتایج مطالعات قبلی با استفاده از مهارکننده‌های ACE در بافت‌های دیگر نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌کنندگی بر روی نورون‌های دوپامین را نشان دادند [۳]. به علاوه در بیماران دچار بیماری پارکینسون میزان فعالیت آنزیم ACE در مایع مغزی نخاعی افزایش می‌یابد [۱۰] و بین پلی مورفیسم ژن ACE و بیماری پارکینسون نیز ارتباط وجود دارد [۱۰]. تشکیل رادیکال‌های آزاد درمیتوکندری و واکنش‌های متابولیسمی منجر به مرگ سلول و ایجاد بیماری می‌شود که با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین E, C و عصاره‌های گیاهی می‌توان مانع تشکیل رادیکال‌های آزاد شد.

در بررسی‌های فیتوشیمیایی انجام شده زرشک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده است از بخش‌های مختلف گیاه زرشک برای درمان بیماری‌هایی چون اسهال، نارسایی کبدی، مالاریا، ناراحتی‌های معده و بیماری‌های مجاری ادراری استفاده می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی میوه زرشک بیشتر از سایر عصاره‌ها بوده و میوه زشک دارای ویتامین C و مالیک اسید است به طوری که در ۱۰۰ گرم عصاره میوه زرشک ۱۱۰۲/۸۱ µg ویتامین C، ۱۱٦/۰۳ µg مالیک اسید و ۲۰/۵۱ µg تانن وجود دارد [۱۱]. بررسی‌های فیتوشیمیایی نشان داده است که ترکیبات این گیاه شامل آلکالوئیدها و ترکیبات فنلی و تری ترپنوئید است [۱۲]. پس از کروماتوگرافی و جداسازی سه ترکیب فنلی ،Cannabisin G، N-(P-trans –coumaroyl) tyramin و Lyoniresinol حاصل آمده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها (بر معیار فعالیت رادیکال هیدروکسیل) موردسنجش قرار گرفت. که فعالیت آنتی‌اکسیدانی Lyoniresinol, Cannabisin بالا بوده است. بنابراین عصاره میوه زرشک پراکسیداسیون لیپیدها را مهار می‌کند [۱۳]. برخی از خواص درمانی این گیاه (مانند درمان مالاریا، یرقان، اسهال خونی، سنگ صفرا و ...) ممکن است به دلیل خاصیت آنتی‌هیستامینی و آنتی‌کولینرژیکی این ترکیبات رخ دهد [۱۲]. عصاره زرشک، مونوآمین اکسیداز MAO-A را مهار می‌کند، بنابراین سطح مونوآمین‌ها مانند اپی‌نفرین و دوپامین در مغز موش افزایش می‌یابد مهارکننده‌های MAO، مقدار نورآدرنالین و دوپامین را در سیناپس‌های عصبی افزایش داده و اثر ضدافسردگی دارند [۱٤،۱۵،۱٦]. اثر عصاره زرشک به عنوان داروی ضدافسردگی، از طریق تداخل بر رسپتورهای نورآدرنالین و دوپامین عمل می‌کند. از مطالعه مونوآمین‌های استراتیوم، هیپوکامپ و کورتکس پیشانی مشخص شد که عصاره زرشک (۲۰ mg/kg) افزایش معنی‌داری بر مقدار نورآدرنالین قشر پیشانی و هیپوکامپ به وجود آورده است و باعث ذخیره نورآدرنالین در مغز می‌شود. بنابراین مکانیسم ضدافسردگی زرشک به افزایش فعالیت مونوآمین از طریق مهار فعالیت اکسیداسیون مونوآمین مربوط است [۱۷].

فراوان‌ترین آلکالوئید موجود در گیاه زرشک بربرین است. بربرین در واقع از متابولت‌های ثانویه است و فاقد هرگونه عملکرد متابولیکی است. بیشترین مقدار بربرین در پوست و ریشه وجود دارد. قسمت اندام‌های هوایی مقادیر کمتری آلکالوئید دارند. بربرین باعث مهار آنزیم‌هایی نظیر تیروزین دکربوکسیلاز می‌شود [۱۸،۱۹]. مصرف مقادیر کم بربرین اثرات تحریک تنفسی دارد در حالیکه با مصرف مقادیر زیاد فلج تنفسی در حیوانات گزارش شده است [۱۸]. آلکالوئید باعث افت موقت فشارخون می‌شود [۱۸]. این آلکالوئید دارای فعالیت ضدباکتری، ضدقارچ، ضد آمیب و ضدژیاردیا است [۱۲]. فعالیت ضد تکثیر یاخته‌های سرطانی[1] و سمیت سلولی[2] دارد. عامل ضد کم‌خونی[3] می‌باشد. املاح بربرین در درمان اسهال‌های وبایی و اسهال کودکان مؤثر است [۱۸،۲۰]. بربرین از مهم‌ترین آلکالوئیدهای موجود در میوه

[1] Antineoplastic
[2] Cytotoxic
[3] Antianaemic agent
[4] Wang

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

زرشک است. زرشک برای معالجه بیماری‌های متفاوت به کاربرده می‌شود. بربرین اثر کاهنده فشار خون [۲۱] و مهار آنزیم ACE [۲۲] را در موش‌های صحرایی دارد و همچنین خاصیت آنتی‌کولینرژیک [۲۳] و مهار [۲٤] MAO-B، [۲۵] MAO-A و استیل کولین استراز [۲٦] و همچنین یک اثر حفاظتی برای نرون‌ها دارد [۲۷]. اثر مسکنی میوه زرشک در داروهای سنتی ایران شناخته شده است که این اثر با توجه به مسدودکردن جریان پتاسیم در مغز رخ می‌دهد (اثر حفاظت نورونی بدین‌ترتیب شرح داده می‌شود). وانگ[٤] نشان داد که بربرین جریان انتقال پتاسیم را به خارج متوقف می‌کند [۲۷]. بربرین موجب کاهش آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون در مغز می‌شود [۲۸]. بربرین به عنوان یک مهارکننده رقابتی استیل کولین استراز عمل می‌کند. بربرین موجب مهار تیروزین هیدروکسیلاز می‌شود که منجر به کاهش ترکیبات دوپامین در سلول‌ها می‌شود [۲۹]. بربرین نقش زیادی در مسیرهای مهاری عصبی دارد و وابستگی‌های مورفینی را کاهش می‌دهد [۱۲].

بربرین (زرشک) به طور مؤثری محصولات پراکسیداسیون لیپیدها را با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود، کاهش می‌دهد. بدین‌ترتیب که از آسیب به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD در برابر رادیکال‌های اکسیژن و پراکسید هیدروژن حمایت می‌کند. آنزیم SOD نقش حفاظت بافتی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارد و آنیون اکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند و این آنزیم موجب کاهش آزوکسی متان[1] که عامل سرطان‌زایی در رکتوم موش‌های صحرایی است می شود [۱٦]. در نتیجه بربرین دارای خاصیت آنتی‌رادیکال و آنتی‌اکسیدان است [۱٦]. میوه زرشک دارای فعالیت‌های گوناگون آنتی‌اکسیدانی به واسطه ترکیبات متفاوت آنتی‌اکسیدانی مانند بتا کاروتن، ویتامین C، بوتیلات هیدروکسیلاز تولوئن[1] و ترکیبات فنلی است. فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک ممکن است ناشی از ترکیبات فلاونوئید باشد [۳۰]. عصاره متانولی ۸۰ درصدی میوه زرشک، ٦۰/۱۵ درصد کاروتن و ۹۱/۱۷ درصد ویتامین C دارد.

نتیجه اینکه عصاره‌ی آبی زرشک احتمالاً با مهار آنزیم ACE و یا خاصیت آنتی‌اکسیدانی دربافت مغز می‌تواند باعث کاهش علایم رفتاری بیماری پارکینسون شود.

[1] AOM [2] BHT

منابع

1. Lopez-Real A, Rey P, Soto-Otero R, Mendez-Alvarez E, Labandeira-Garcia JL. Angiotensin-converting enzyme inhibition reduces oxidative stress and protects dopaminergic neurons in a 6-hydroxydopamine rat model of Parkinsonism. *J. Neurosci. Res.* 2005; 81: 865 - 73.

2. Quinlan JT, Phillips MI. Immunoreactivity for an angiotensin II-like peptide in the human brain. *Brain Res.* 1981; 205: 212 - 8.

3. Mendelsohn FA, Jenkins TA, Berkovic SF. Effects of angiotensin II on dopamine and serotonin turnover in the striatum of conscious rats. *Brain Res.* 1993; 613: 221 - 9.

4. Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD (P) H oxidase role in cardiovascular biology and disease. *Circulation Res.* 2000; 86: 494 - 501.

5. Jenner P. Oxidative stress as a cause of Parkinson's disease**.** *Acta Neurologica Scandinavica* 1991; 84: 6 - 15.

6. Ganong WF. Origin of the angiotensin II secreted by cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1994; 205: 213 - 9.

7. Munzel T, Keaney JF, Jr. Are ACE inhibitors a "magic bullet" against oxidative stress? *Circulation* 2001; 104: 1571 - 4.

8. Sica DA. Combination angiotensin-converting

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

enzyme inhibitor and angiotensin receptor blocker therapy: its role in clinical practice. *J. Clin. Hypertens* (*Greenwich*) 2003; 5: 414 - 20.

9. Allain H, Bentue-Ferrer D, Akwa Y. Disease-modifying drugs and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 2008; 84: 25 - 39.

10. Reardon KA, Mendelsohn FA, Chai SY, Horne MK. The angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor, perindopril, modifies the clinical features of Parkinson's disease. *Aust N. Z. J. Med.* 2000; 30: 48 - 53.

11. Hanachi P, Golkho SH. Using HPLC to Determination the Composition and Antioxidant Activity of Berberis Vulgaris. *Europ. J. Scientific Res.* 2009; 29: 47 - 54.

12. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. Pharmacological and therapeutic effects of Berberis vulgaris and its active constituent, berberine. *Phytother. Res.* 2008; 22: 999 - 1012.

13. Tomosaka H, Chin YW, Salim AA, Keller WJ, Chai H, Kinghorn AD. Antioxidant and cytoprotective compounds from Berberis vulgaris (barberry). *Phytother. Res.* 2008; 22: 979 - 81.

14. Kanazawa I. Short review on monoamine oxidase and its inhibitors. *Eur. Neurol.* 1994; 34 Suppl 3: 36 - 9.

15. Bryant SG, Brown CS. Current concepts in clinical therapeutics: major affective disorders, Part 2. *Clin Pharm* 1986; 5: 385 - 95.

16. Thirupurasundari CJ, Padmini R, Devaraj SN. Effect of berberine on the antioxidant status, ultrastructural modifications and protein bound carbohydrates in azoxymethane-induced colon cancer in rats. *Chemico-biological interactions* 2009; 177: 190 - 5.

17. Peng WH, Lo KL, Lee YH, Hung TH, Lin YC. Berberine produces antidepressant-like effects in the forced swim test and in the tail suspension test in mice. *Life Sci.* 2007; 81: 933 - 8.

18. Cordell GA, Southon IW, Buckingham J: Dictionary of alkaloids. Chapman and Hall, 1989, pp: 243 – 4.

19. Mann C, Staba EJ, Craker LE, Simon JE: Herbs, spices and medicinal plants: recent advances in botany, horticulture, and pharmacology. 1st edn. Food Products Press, 1986, pp: 235 – 80.

20. De Smet P: Adverse effects of herbal drugs. Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K, 1992, pp: 122 – 50.

21. Chun YT, Yip TT, Lau KL, Kong YC, Sankawa U. A biochemical study on the hypotensive effect of berberine in rats. *Gen. Pharmacol.* 1979; 10: 177 - 82.

22. Kang DG, Sohn EJ, Kwon EK, Han JH, Oh H, Lee HS. Effects of berberine on angiotensin-converting enzyme and NO/cGMP system in vessels. *Vascul Pharmacol.* 2002; 39: 281 - 6.

23. Tsai CS, Ochillo RF. Pharmacological effects of berberine on the longitudinal muscle of the guinea-pig isolated ileum. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1991; 310: 116 - 31.

24. Castillo J, Hung J, Rodriguez M, Bastidas E, Laboren I, Jaimes A. LED fluorescence spectroscopy for direct determination of monoamine oxidase B inactivation. *Anal Biochem.* 2005; 343: 293 - 8.

25. Kong LD, Cheng CH, Tan RX. Monoamine oxidase inhibitors from rhizoma of Coptis chinensis. *Planta Med.* 2001; 67: 74 - 6.

26. Kim DK, Lee KT, Baek NI, Kim SH, Park HW, Lim JP, Shin TY, Eom DO, Yang JH, Eun JS. Acetylcholinesterase inhibitors from the aerial parts of Corydalis speciosa. *Arch. Pharm. Res.* 2004; 27: 1127 - 31.

27. Wang F, Zhao G, Cheng L, Zhou HY, Fu LY, Yao WX. Effects of berberine on potassium currents in acutely isolated CA1 pyramidal neurons of rat hippocampus. *Brain. Res.* 2004; 999: 91 - 7.

28. Yokozawa T, Ishida A, Kashiwada Y, Cho EJ, Kim HY, Ikeshiro Y. Coptidis Rhizoma: protective effects against peroxynitrite-induced oxidative damage and elucidation of its active components. *J. Pharm. Pharmacol.* 2004; 56: 547 - 56.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]

29. Shin JS, Kim EI, Kai M, Lee MK. Inhibition of dopamine biosynthesis by protoberberine alkaloids in PC12 cells. *Neurochem. Res.* 2000; 25: 363 - 8.
30. Montalleb G, Hanachi P, Kua SH, Fauziah O. Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in Berberis vulgaris fruit extract. *J. Biol. Sci.* 2005; 5: 618 - 53.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-02-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.2.4]