زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۱، صفحات ۱۰۹- ۹۷

مقاله پژوهشی

اثر نانو ذره‌ی اکسید منیزیم بر استرس اکسیداتیو در مدل پارکینسون موش‌های صحرایی نر

هدی قربانی مقدم[۱]، اکرم عیدی[۱*]، پژمان مرتضوی[۲]، شهربانو عریان[۳]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: eidi@srbiau.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2022.1958259.1392

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۵

چکیده

از آنجا که مطالعات محدودی به ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی نانو ذره‌ی اکسید منیزیم بر بیماری پارکینسون پرداخته‌اند، بنابراین هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر نانو ذره‌ی اکسید منیزیم بر استرس اکسیداتیو در مدل پارکینسون القا شده روی موش-های صحرایی نر است. در این مطالعه‌ی تجربی، ٥٤ موش صحرایی بالغ نر به ۹ گروه ٦ تایی تقسیم شدند که شامل کنترل سالم، کنترل پارکینسونی دریافت کننده‌ی ٦- هیدروکسی دوپامین در ناحیه بطن جانبی، گروه شم دریافت کننده‌ی نرمال سالین و گروه-های تجربی سالم دریافت کننده نانو ذره‌ی اکسید منیزیم در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، گروه‌های تجربی پارکینسونی که علاوه بر القای پارکینسون، نانو ذره اکسید منیزیم را در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. تجویز نانو ذره به مدت ۳۰ روز به صورت درون صفاقی بود. پس از آن، پارامترهای استرس اکسیداتیو MDA، CAT و SOD در بافت مغز اندازه‌گیری گردید. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که درمان با نانو ذره‌ی اکسید منیزیم به صورت معناداری میزان پارامترهای استرس اکسیداتیو را در بافت مغز کاهش داد ($p < ۰/۰۵$). تیمار نانو ذره‌ی اکسید منیزیم در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش MDA در گروه‌های پارکینسونی نسبت به گروه حیوانات کنترل پارکینسونی گردید، همچنین تیمار نانو ذره‌ی اکسید منیزیم در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در گروه پارکینسونی موجب افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در مقایسه با حیوانات کنترل پارکینسونی گردید. در نتیجه می‌توان گفت، نانو ذره‌ی اکسید منیزیم با اثربخشی بر کاهش فرآیندهای استرس اکسیداتیو در مدل پارکینسون، می تواند نقش امیدوار کننده‌ای داشته باشد.

کلمات کلیدی: استرس اکسیداتیو، بیماری پارکینسون، نانو ذره‌ی اکسید منیزیم، ٦- هیدروکسی دوپامین.

مقدمه

بیماری پارکینسون به عنوان اختلال حرکتی ارائه می-شود که باعث افزایش علائم ناتوان کننده در افراد بیمار با ماهیت تخریب عصبی و پیشرونده می‌شود. این بیماری اصولاً با تخریب نورون‌های دوپامینرژیک مغز میانی در ارتباط است و به طور عمده بخش متراکم جسم سیاه را متأثر می‌کند. این بخش از مغز خروجی‌هایی به هسته‌های دم‌دار و پوتامن می‌فرستد که سیستم مزواستریاتال نام دارد. بنابراین تخریب در

این مسیر موجب قطع عملکردی مدار هسته‌های قاعده‌ای می‌گردد و چندین نشانه فیزیکی بیماری پارکینسون مانند برادی کینزی، رعشه و سفتی عضلات را ایجاد می‌کند (۸). در خلال بیماری پارکینسون، سلول‌ها دچار مرگ سلولی و آپوپتوز می-شوند (٤، ۲۱). استرس اکسیداتیو یکی از عواملی است که در تخریب نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون نقش دارد (٤۳، ٤٦).

به علت آنکه متابولیسم دوپامین در نورون‌ها با تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژنی از جمله پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل همراه می‌باشد، بنابراین نورون-های دوپامینرژیک بیشتر در معرض مرگ سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو قرار می‌گیرند (۱۳، ۲۵).

بررسی‌های انجام شده برروی مغز بیماران پارکینسونی بعد از مرگ نشان می‌دهد که تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد و همچنین شکل‌گیری التهاب عصبی، عامل پیشرفت این بیماری بوده است. همچنین به دلیل غنی بودن سیستم عصبی مرکزی از لیپید، مصرف اکسیژن زیاد و سطح پایین آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت، سیستم عصبی مرکزی حساسیت بالایی نسبت به استرس اکسیداتیو دارد، به ویژه هیپوکمپ، جسم سیاه و جسم مخطط از حساس ترین بخش‌ها نسبت به استرس اکسیداتیو می‌باشند (۲۰، ۲٤).

فرآیندهای شکل پذیری در مغز می‌تواند به وسیله‌ی استرس اکسیداتیو تغییر نموده و باعث صدمات اکسیداتیو، تخریب سیناپس‌ها، و تغییر شکل سلول‌های جدید شود. استرس اکسیداتیو نه تنها نورون‌های دوپامینرژیکی را تخریب می‌کند، بلکه با ایجاد اختلال در فرایند فسفریلاسیون اکسیداتیو و کاهش تولید انرژی منجر به مرگ سلول‌های عصبی، فعال شدن سلول‌های گلیال و نهایتا پیشبرد و استقرار التهاب عصبی می‌شود (۱۸).

نوروتوکسین٦-هیدروکسی دوپامین با تخریب نورون های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه از طریق دو مکانیسم، مهار کمپلکس I میتوکندری و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌تواند ورودی‌های دوپامینی هیپوکمپ را حذف نموده و حیوان مدل پارکینسونی با اختلال حرکتی را به وجود آورد (۱۵، ۲۹).

از آنجا که ٦ - هیدروکسی دوپامین نمی‌تواند از سد خونی – مغزی عبور کند، باید به وسیله‌ی جراحی استریوتکس و به صورت موضعی در جسم سیاه یا جسم مخطط تزریق شود (۱۲). ترکیبات آنتی‌اکسیدان ممکن است از طریق کاهش آسیب استرس اکسیداتیو و کاهش رادیکال‌های آزاد اثرات حفاظت نورونی خود را اعمال کنند، با این حال اثرات حفاظت نورون‌ها به وسیله مکمل‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها بر ریسک بیماری پارکینسون ضد و نقیض است. بیماری پارکینسون در حال حاضر به عنوان شایع‌ترین اختلال دژنراتیو در مغز پس از بیماری آلزایمر با تأثیرات روانی – اجتماعی بسیار بالا و کاهش قابل توجه در کیفیت زندگی بیماران در نظر گرفته می‌شود. مکانیسم بیماری‌زایی دقیق برای تخریب عصبی مشاهده شده در بیماری پارکینسون کاملاً شناخته نشده است. با این حال، این مفهوم که آسیب عصبی با واسطه رادیکال-های آزاد به عنوان فرضیه اصلی پاتوژنز این بیماری پیشنهاد شده است. علیرغم موفقیت در سنتز محصولات دارویی و استفاده از روش‌های مناسب جراحی (به عنوان مثال تحریک عمیق مغز) ، یک راه حل دارویی مشخص برای به تعویق انداختن پیشرفت بیماری هنوز وجود ندارد (١٤، ٤٧).

اخیراً، فناوری نانو به کانون اصلی تحقیقات زیست پزشکی تبدیل شده است (۳۷). مطالعه اثرات نانو ذرات بر پدیده‌های زیستی یکی از به روزترین مباحث و موضوعات روز دنیا شده است. نانوتکنولوژی علاوه بر کاربردی که در صنعت دارد، به طور گسترده‌ای در

معالجه بیماری‌ها و دارورسانی به سلول ها یا اندام‌های ویژه مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۱). از خصوصیات منحصر به فرد این نانو ذرات به دلیل ریز ذره بودن، حلالیت بیشتر، عبور راحت‌تر از سد خونی مغزی و واکنش پذیری بیشتر می‌باشد (٤). نانوذرات به موادی اطلاق می‌شود که اندازه‌ی آنها کمتر از یک الی صد نانومتر باشد (١٤).

نکته‌ی قابل توجه این است که با تغییر اندازه‌ی ذرات از میکرومتر به نانومتر به دلیل افزایش سطح در دسترس، سمیت نیز افزایش می‌یابد. سمیت این مواد باعث شده که استفاده از آن‌ها در بهبود بیماری‌ها با ریسک بالایی همراه شود (۲).

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که میزان منیزیم در مغز بیماران مبتلا به پارکینسون در سطح پائینی قرار دارد. کمبود منیزیم با افزایش حوادث نورولوژیک در بیمارانی که بیماری‌های علامت‌دار شریان‌های محیطی دارند، همراه است (۲۲). منیزیم با مکانیسم مهار آزادسازی آمینواسیدها و بلوک گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی اثر حفاظت عصبی خود را اعمال می کند. همچنین نتایج مطالعات مختلف حاکی از تاثیرات ضد و نقیض نانو ذره اکسید منیزیوم بر پارامترهای اکسیداسیون است. گذشته از این، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تجویز سیستمیک نانو ذرات اکسید منیزیم می‌تواند با کاهش رونوشت مارکرهای التهابی و اتوفاژی، نقش قابل ملاحظه‌ای را در تخفیف التهاب عصبی در مدل‌های درمان سرطان داشته باشد (٤٩). هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی اثر نانو ذره‌ی اکسید منیزیم بر مدل پارکینسون القا شده توسط هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی است. موش‌های صحرایی بالغ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰ ± ۲۰۰ گرم خریداری گردیدند. کد اخلاق برای نحوه‌ی کار با حیوانات آزمایشکاهی به شناسه‌ی REC.SRB.IAU.IR.1398.125 گرفته شد. حیوانات به طور تصادفی به ۹ گروه مساوی (هر گروه شامل ٦ سر موش) تقسیم شدند. گروه اول کنترل سالم، یعنی موش‌هایی که سالم بودند و تیماری دریافت نکردند، گروه دوم کنترل پارکینسونی شامل موش‌هایی بودند که طی جراحی استریوتاکس، ٦-هیدروکسی دوپامین دریافت کردند. گروه سوم، شم، که سالم بوده و فقط جراحی شدند و نرمال سالین دریافت کردند، گروه‌های چهارم و پنجم و ششم، تجربی سالم، حیواناتی که سالم بودند و نانو ذره‌ی اکسید منیزیم را در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم دریافت کردند، گروه‌های هفتم و هشتم و نهم، تجربی پارکینسونی بودند که علاوه بر القای پارکینسون، نانو ذره‌ی اکسید منیزیم را در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم دریافت کردند.

حیوانات توسط تزریق داخل صفاقی کتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلزین (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس سر حیوان در دستگاه استریوتکس ثابت شد و با ایجاد شکاف طولی در بخش خلفی سر، جمجمه نمایان گردید. پس از مشخص کردن مختصات بر اساس اطلس پاکسینوس در موقعیت،mm AP = −٤/٨ mm،DV =-8/3 mm ML =١/٦ دو سوراخ در جمجمه ایجاد گردید و کانول مخصوص تزریق به آرامی وارد بطن جانبی موش‌ها قرار داده شد (٣٤). در این مرحله به کمک سیمان دندانپزشکی کانول راهنما به جمجمه محکم متصل شد. یک روز بعداز جراحی، تزریق‌های داخل بطن مغزی به صورت دوطرفه و به کمک کانول تزریق که طول آن ۱ میلی‌متر بلندتر از طول کانول راهنما بود، انجام شد. کانول تزریق به کمک لوله پلی-اتیلن به یک سرنگ هامیلتون ۵ میکرولیتری متصل

بود.تزریق ٦-هیدروکسی دوپامین در گروه‌های پارکینسونی با استفاده از سرنگ همیلتون با حجم ۳ میکرولیتر در هر جایگاه و در مدت ٦۰ ثانیه تزریق شد (۷). علاوه بر این، کانول تزریق به مدت ٦۰ ثانیه دیگر برای اطمینان از جذب دارو و جلوگیری از برگشت دارو به درون کانول راهنما در محل ماند. گروه شم نیز به همین روش تحت جراحی قرار گرفته ولی به جای ٦- هیدروکسی دوپامین حجم مساوی از نرمال سالین دریافت کردند. کلیه‌ی مقادیر نانو ذره‌ی اکسید منیزیم که به عنوان تیمار در این مطالعه استفاده شد، در ۱۰ میلی لیتر سالین حل شد و سوسپانسیون به دست آمده که به صورت روزانه تهیه می شد، قبل از تزریق به مدت ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک، سونیکه شد (۱).

پس از پایان تیمار ۳۰ روزه به صورت تزریق درون صفاقی نانو ذره‌ی اکسید منیزیم، حیوان با استفاده از اتر کشته شده و بافت مغز از جمجمه خارج شده و بلوک مغز میانی تهیه گردید پس از شستشوی مغز با محلول سالین سرد و خشک نمودن، بافت جداگانه به همراه بافر تریس به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه گردید. محلول هموژنیزه شده، در دمای ٤ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد تا از تخریب آنزیمها و پروتئین‌ها جلوگیری شود. پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف (سوپرناتانت) از بقیه محلول جدا شده، بخش رسوب زیرین دور ریخته شده و از محلول شفاف رویی برای سنجش‌های بعدی استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش Marklund, 1974 (۲٦) انجام شد که اساس آن بر توانایی سوپراکسید دیسموتاز در مهار اتواکسیداسیون پیروگالول می‌باشد. مخلوط واکنش، شامل بافر سدیم فسفات با غلظت ۵۰ میلی مولار ۷ =pH است که حاوی ۰/۰۰۱۸ گرم EDTA و ۰/۰۰۳ گرم پیروگالول می‌باشد. برای سنجش این آنزیم ٦۰ میکرولیتر محلول رویی بافت هموژن شده را برداشته و به ۷٤۰ میکرولیتر مخلوط واکنش اضافه گردید. جذب محلول در طول موج ۲٤۰ نانومتر و به مدت ۳ دقیقه خوانده‌شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Abei (۳) استفاده شد. مخلوط واکنش، شامل بافر سدیم فسفات با غلظت ۵۰ میلی مولار در pH=۷ است که حاوی ۱۰ میلی مولار H_2O_2 می باشد. در نهایت ٦۰ میکرولیتر از سوپرناتانت بافت استریاتوم مغزی هموژن شده را برداشته و به ۷٤۰ میکرولیتر مخلوط واکنش اضافه گردید. جذب محلول در طول موج ۲٤۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه خوانده شد.

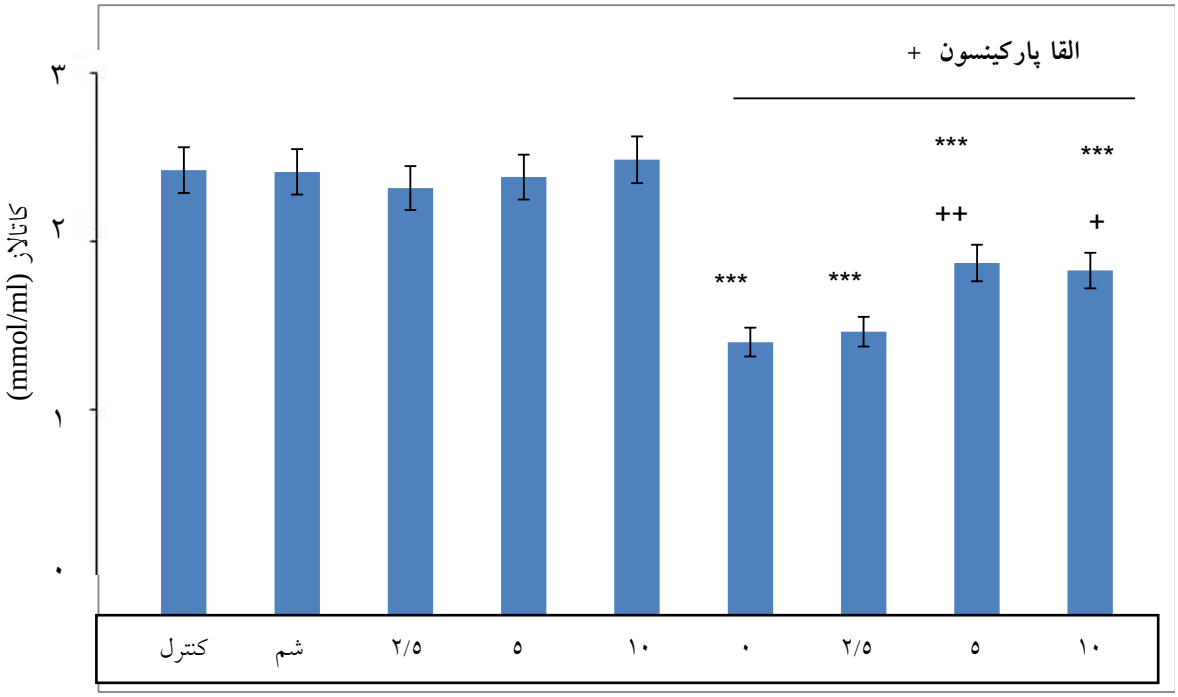
سنجش سطح مالون دی آلدئید بر اساس روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتوریک اسید می‌باشد و در دمای جوش انجام می‌گیرد (٤۲). در این آزمایش مالون دی آلدئید یا مواد شبه مالون دی آلدئید با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و رنگ صورتی ایجاد می‌کند که ماکزیمم جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر است. این واکنش در pH= ۲-۳ و در دمای۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ دقیقه انجام شد. بعد از سرد کردن نمونه جذب نوری خوانده شد.

تمامی داده‌ها از نظر آماری با استفاده از نرم افزار SPSS-19، آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way-ANOVA) و تست Tukey بررسی گردید. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (mean ± S.E.M) ارائه شده است. ملاک استنتاج آماری $P<0.05$ می باشد.

نتایج

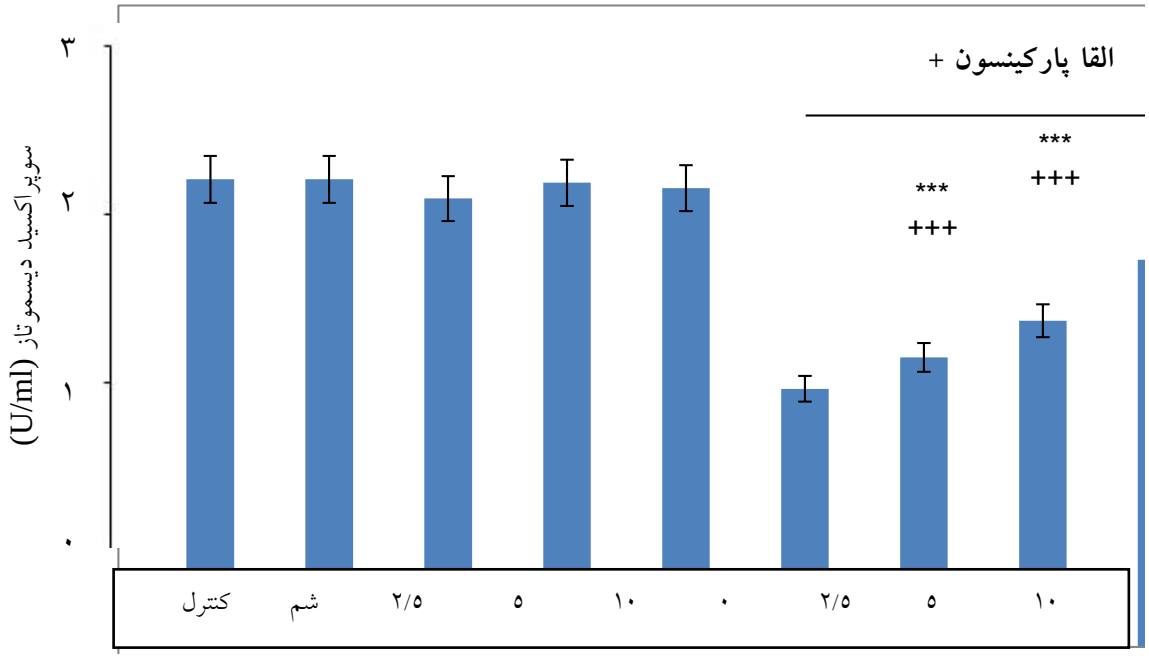
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم-های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه کنترل

پارکینسون در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی داری یافته است ($p < ۰/۰۰۱$). تیمار نانو ذره‌ی اکسید منیزیم در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات سالم موجب تغییر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نگردید. تیمار نانو ذره‌ی اکسید منیزیم در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در حیوانات پارکینسونی موجب افزایش معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در مقایسه با حیوانات کنترل پارکینسونی گردید ($p < ۰/۰۵$) (نمودارهای ۱و ۲). همچنین میزان مالون دی آلدئید در گروه کنترل پارکینسون در مقایسه با گروه کنترل سالم مالون دی آلدئید افزایش معنی-داری یافته است ($p< ۰/۰۰۱$). تیمار نانو ذره‌ی اکسید منیزیم در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در حیوانات پارکینسونی موجب کاهش معنی داری بر میزان مالون دی آلدئید در مقایسه با حیوانات کنترل پارکینسونی گردید ($p< ۰/۰۰۱$).



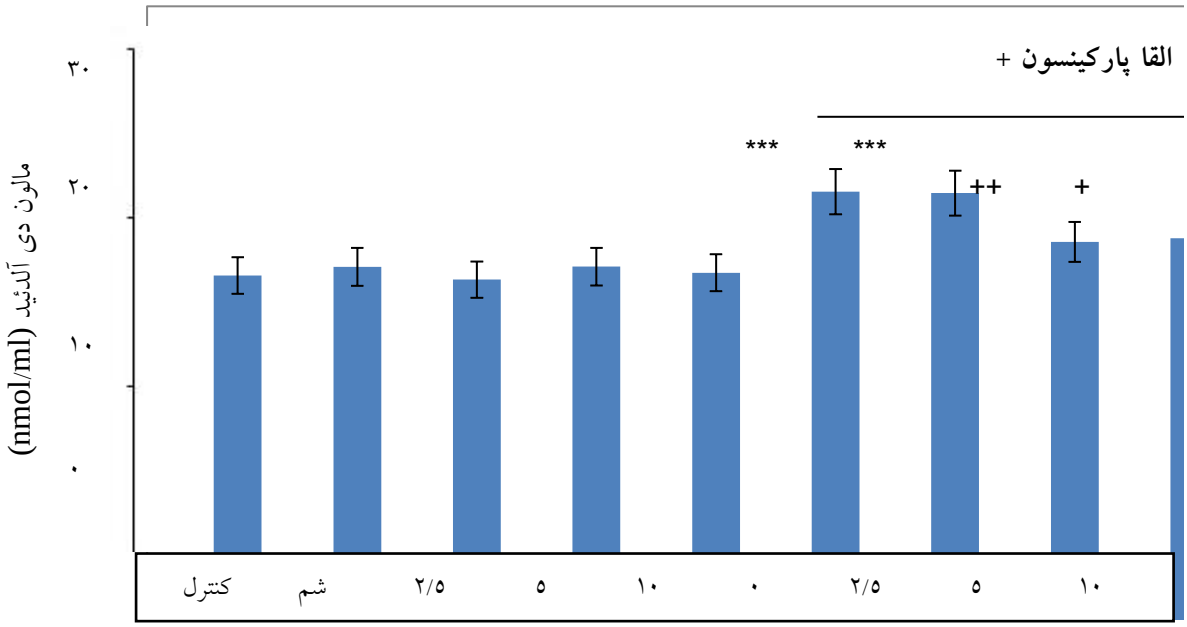
نانو اکسید منیزیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

نمودار ۱- بررسی تاثیر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف نانو ذره‌ی اکسید منیزیم (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل پارکینسونی. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده-است. $p < ۰/۰۰۱$ *** اختلاف از کنترل سالم را نشان می‌دهد. $p < ۰/۰۱$ ++ ، $p < ۰/۰۵$ + اختلاف از کنترل پارکینسونی را نشان می‌دهد.



نانو اکسید منیزیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

نمودار ۲- بررسی تاثیر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف نانو ذره‌ی اکسید منیزیم بر میزان فعالیت آنزیم SOD درگروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه‌های کنترل پارکینسونی. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌است. *** $p < ۰/۰۰۱$ اختلاف از کنترل سالم را نشان می‌دهد. +++ $p < ۰/۰۰۱$ اختلاف از کنترل پارکینسونی را نشان می‌دهد.



نانو ذره اکسید منیزیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)

نمودار ۳- بررسی تاثیر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف نانو ذره‌ی اکسید منیزیم بر میزان MDA (نانومول/میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه‌های کنترل و پارکینسونی. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. *** $p < ۰/۰۰۱$ اختلاف از کنترل سالم را نشان می‌دهد. +++ $p < ۰/۰۰۱$، ++ $p < ۰/۰۱$ ، + $p < ۰/۰۵$ اختلاف از کنترل پارکینسونی را نشان می‌دهد.

بحث

اویاناگی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه‌ای تاثیر منیزیوم را بر روی بیماری پارکینسون مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند که منیزیوم می تواند سبب جلوگیری از آسیب به نورون‌ها در مدل موش صحرایی شدند. این محققان گزارش کردند که سطح منیزیوم در بیماران مبتلا به پارکینسون با طول بیماری و شدت آن رابطه دارد (۳۲).

سان و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۸ که در یک بازه‌ی زمانی ۱۵ ساله بر روی بیماران مبتلا به پارکینسون انجام دادند گزارش کردند که غلظت بالای منیزیوم باعث کاهش مرگ و میر ناشی از پارکینسون می‌شود (٤٤).

نکیسا و همکاران مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که استرس اکسیداتیو با تولید رادیکال‌های آزاد و تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی مغز در پاتوژنز بیماری پارکینسون نقش دارند. استرس‌های اکسیداتیو باعث آپوپتوز و از بین رفتن سلول‌های دوپامینی می-شوند (۳۱).

در بیماری پارکینسون نقص میتوکندریایی و اکسیداتیو ایجاد می‌شود. تخریب کمپلکس I میتوکندریایی تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را افزایش می‌دهد. حتی بدون نقص میتوکندریایی هم، ROS یک محصول جانبی طبیعی تنفس سلولی است که در غیاب آنتی اکسیدان اندوژنز کافی و یـا نقص در آن می‌تواند منجـر بـه افزایـش ROS و آسیب اکسـیداتیو شود که در اختلالات تحلیل برنـده‌ی عصبی ایجـاد می‌شود (۹). در این تحقیق از تزریق دوطرفه نوروتوکسین ٦-هیدروکسی دوپامین به داخل بخش متراکم جسم سیاه استفاده شد. ٦-هیدروکسی‌دوپامین نورون‌های کته کولامینرژیک را مورد هدف قرار داده و ساختاری شبیه به دوپامین و نوراپی نفرین دارد و مانند دوپامین رفتار کرده به طوری‌که از طریق ناقل‌های دوپامینی (DAT) از غشاء نورون‌ها عبور کرده و با سه مکانیسم تولید ROS، پراکسید هیدروژن و مهار زنجیره تنفسی میتوکندری از طریق مهار مستقیم کمپلکس‌های I و II در میتوکندری عمل کرده و باعث تخریب نورون‌های دوپامینرژیک می‌گردد. البته با توجه به اینکه متابولیسم اکسیداتیو دوپامین در نورون‌های دوپامینرژیک SNc با تولید رادیکال آزاد همراه است این گروه از نورون‌ها در مقایسه با سایر نورون‌های مناطق دیگر مغز در مواجه با استرس اکسیداتیو آسیب‌پذیرترند (٤٠).

استرس اکسیداتیو نه تنها نورون‌های دوپامینرژیکی را تخریب می‌کند بلکه با ایجاد اختلال کاهش تولید انرژی در فرآیند فسفریالسیون اکسیداتیو و کاهش تولید انرژی منجر به مرگ سلول‌ها می‌شود (٤٧). مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه کنترل پارکینسون کاهش و میزان مالون دی آلدئید افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل سالم یافته است. تیمار نانو ذره‌ی اکسید منیزیم در حیوانات پارکینسونی موجب افزایش معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و کاهش معنی‌داری در میزان مالون دی آلدئید در مقایسه با حیوانات کنترل پارکینسونی گردید.

علیرغم اینکه دلیل مرگ سلولی نیگرال و مکانیسم‌های آن در پارکینسون مشخص نیست، گزارش‌های زیادی نشان دادند کـه افزایش استرس اکسیداتیو، التهـاب، نقص میتوکندریایی و نقص در پروتئوزوم‌ها نقش مهمی در آغاز و کنترل مرگ سلولی بازی می‌کند (۳۳).

نقص میتوکندریایی ممکن است با بیماری‌های تحلیل برنده‌ی عصبی از طریق مسیرهای مختلف مانند تولید رادیکال‌های آزاد، نقص در آنزیم‌ها و نفوذپذیری

کمپلکس‌های میتوکندریایی مرتبط باشد و مرگ آپوپتیک یا نکروتیک ایجاد کند. مرگ سلولی از طریق نکروز یا آپوپتوز، می‌تواند سبب بروز بیماری‌های تحلیل برنده‌ی عصبی مانند پارکینسون شود. پیشگیری از بروز نقص میتوکندریایی و یا بازسازی آن، سبب کاهش اختلالات تحلیل برنده‌ی عصبی می‌شود (۲۳). ROS به طور مستقیم به آنزیم‌های میتوکندریایی، آسیب می‌زند و سبب جهش در mtDNA، می‌شود. همچنین از طریق آسیب به پروتئین‌ها و DNA، در سلول اختلال ایجاد می‌کند (۳۵). در بافت‌هایی که بیشتر به متابولیسم اکسیداتیو وابسته هستند، مانند قلب، مغز یا عضلات اسکلتی، بروز نقص میتوکندریایی ناشی از جهش‌های mtDNA، بیشتر است (۱۱). مغز، به دلیل محتوای بالای آهن، مصرف زیاد اکسیژن و حضور ناقلین عصبی، مستعد آسیب ناشی از ROS می‌باشد (٤٤). نتایج ما در راستای نتایج مطالعات قبلی که نشان داد که نشانگر استرس اکسیداتیواز جمله مالون دی آلدئید در خون این بیماران نسبت به افراد سالم افزایش معنی داری دارد نیز حاکی از آن است که در موش‌های نر صحرایی بالغ مدل پارکینسونی میزان مالون دی آلدئید نسبت به موش‌های گروه سالم به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

منیزیم چهارمین کاتیون مهم بدن و دومین کاتیون مهم داخل سلولی پس از پتاسیم محسوب می‌شود (۲۵). این عنصر به عنوان عامل مهمی جهت فعالیت عصبی و آزادسازی نوروترانسمیترها عمل می‌کند. یکی از عملکردهای مهم منیزیم شرکت در مسیر هدایت سیستم عصبی و به عنوان یکی از مهم‌ترین ریزمغذی‌ها برای فعالیت پایه‌ی مغزی است (٤۱).

تحقیقات نشان داده که با کاهش منیزیم مرگ سلولی اکسیداتیو افزایش می‌یابد و تیمار با منیزیم موجب افزایش پایداری DNA، افزایش رونویسی ژنی، حفظ پایداری آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش تولید پروتئین، رشد و بقاء سلولی می‌شود (۲۸).

در مطالعات متعددی کاهش غلظت یون منیزیم در بیماران پارکینسونی گزارش شده است، بنابراین استفاده از این عنصر با دارابودن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی، کوفاکتور آنزیمی، پایداری ساختار غشا و اندامک سلولی،حضور در ساختمان موجود زنده و همچنین اثرات جانبی کم، دارای اهمیت است ،همچنین منیزیم، کوفاکتور لازم برای مسیر پیامبر داخل سلولی CAMP می‌باشد (٤).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز حاکی از آن بود که بیمارانی که با نانو ذره‌ی اکسید منیزیم به مدت ۳۰ روز تیمار شدند نسبت به گروه کنترل پارکینسونی به میزان کمتری نشانگر استرس اکسیداتیو در آن‌ها مشاهده شد در نتیجه کاهش غلطت منیزیم را می‌توان یکی از عوامل مهم در مرگ سلولی و بروز بیماری پارکینسون دانست. هرچند که مطالعات اخیر تاییدکننده‌ی نتایج نهایی این پروژه بوده است، همچنان مطالعات دقیق‌تری در راستای شفاف سازی هزگونه مکانیسم اثر این مداخله لازم می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، بررسی تاثیرات نانو ذره‌ی اکسید منیزیم بر بهبود بیماری پارکینسون القا شده توسط ٦-هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی بالغ با اندازه‌گیری پارامترهای استرس اکسیداتیو پرداخته شده است. سیتوکین‌های پیش التهابی آزاد شده از سلول‌های گلیال می‌توانند با فعال کردن گیرنده‌هایی که حاوی حوزه‌های مرگ داخل سیتوپلاسمی درگیر در مسیر آپوپتوز هستند، تولید اکسید نیتریک را تحریک کرده و بر سلول‌های عصبی دوپامینرژیک اثر مخرب بگذارند. افزایش-استرس اکسیداتیو عامل مهم

در تخریب عصبی سیستم دوپامینرژیک نیگروستریاتال در بیماری پارکینسون است. در کل، یافته‌های ما خاصیت محافظت در برابر نورون‌های دوپامینرژیک را در مدل موشی پارکینسونی القا شده به وسیله توکسین ٦–هیدروکسی دوپامین از طریق کاهش استرس اکسیداتیو را نشان می‌دهد. در مطالعه‌ی حاضر، توکسین ٦–OHDA (٦–هیدروکسی دوپامین) منجر به استرس اکسیداتیو سلولی می‌شود که در ادامه روند مطالعه سعی شده است که از نانو ذره‌ی اکسید منیزیم برای کاهش فرایند استرس اکسیداتیو استفاده شود که همانطور که از جدول داده‌ها مشخص است این نانو ذره می‌تواند فرایند استرس اکسیداتیو را با کاهش میزان پارامترهای مورد مطالعه کاهش داده و پیشرفت بیماری را کاهش دهد البته به دلیل خصوصیت سمی شدن این نانو ذره در دوره‌های مختلف مصرف این ماده همچنان با تردید رو به رو است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طـرح مصوب در کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران می‌باشد. بدینوسیله از حمایت‌های گروه زیست‌شناسی و معاونت آموزشی پژوهشی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران تشکر و قدردانی میشود.

منابع

1. Abdolahzadeh Dashti M., Kesmati,M, Khaje Por L., Najafzadeh Varzi H. 2014. The preventative role of Mgo nanoparticles in amnesia induced by morphine in mouse. *Iranian Veterinary Journal*, 10(3):55-64.

2. Actis L., Srinivasan A., Lopez-Ribot JL, Ramasubramanian A.K., Ong J.L. 2015. Effect of silver nanoparticle geometry on methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus*, and osteoblast. *viability*. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26(7):215.

3. Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105:121-126.

4. Archakov A. 2010. Nano biotechnologies in medicine: Nanodiagnostics and nano drugs. *Biomedicical Chemistry*, 4(1): 2-14.

5. Archakov A.I., Ivanov Y.D. 2007. Analytical nanobiotechnology for medicine diagnostics. *Molecular Biosystems*, 3:336-342.

6. Canepari M. 2019. Dopamine and action potential generation in the axon initial segment. *Journal of Physiology*, 597(13): 3251-2.

7. Cannon J.R., Tapias V., Na H.M., Honick A.S., Drolet R.E. 2009.Greenamyre JT. A highly reproducible rotenone model of Parkinsons disease. *Neurobiological Disorders*, 34:279 -290.

8. Carvalho M.M., Campos F.L. Coimbra B., Pego JM., Rodrigues C., Lima R., et al, 2013. Behavioral characterization of the 6- hydroxidopamine model of Parkinson's disease and pharmacological rescuing of non-motor deficits. *Molecular Neurodegeneration*, 8:14.

9. Choi W.S., Palmiter R.D., Xia Z. 2011. Loss of mitochondrial complex I activity potentiates dopamine neuron death induced by microtubule dysfunction in a Parkinson's disease model. *Journal of Cell Biol*ogy, 192(5):873-882.

10. Clark J., Silvaggi J.M., Kiselak T., Zheng K., Clore EL., Dai Y., et al. 2012. Pgc1α overexpression downregulates Pitx3 and increases susceptibility to MPTP toxicity associated with decreased Bdnf. *PloS One*, 7(11):e48925.

11. Cohen A.D. 2006. Role of exercise and GDNF in an animal model of parkinson's disease: implications for neuroprotection. *University of Pittsburgh*.

12. Dauer W., Przedborski S. 2003. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*, 39(6):889-909.

C.F. 2022. Pharmacological role of functionalized gold nanoparticles in disease applications. *Molecules*, 27(5):1551.

23. Lin T.K., Liou C.W., Chen S.D., Chuang Y.C., Tiao M.M., Wang P.W., 2009. Mitochondrial dysfunction and biogenesis in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Chang Gung Medical Journal*, 32(6):589-599.

24. Liu B., Dluzen DE. 2007. Oestrogen and nigrostriatal dopaminergic neurodegenteration: animal models and clinical reports of Parkinson's disease. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 34:65-555.

25. Liu G. 2012. Prevention of cognitive deficits in Alzheimer mouse model by elevating brain magnesium. *International Conference on Molecular Neurodegeneration*, 7(2):1-24.

26. Marklund S., Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *EurJBiochem*, 47(3):469-474.

27. Michael P., Smith Wayne A. 2007. Cass Oxidative stress and dopamine depletion in an intrastriatal 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease Neuroscience. 144:1057-1066.

28. Moradi F. 2014. Antioxidant effects of magnesium in reducing oxidative stress by injected via an intraperitoneally carbon tetrachloride in the Wistar male adult rats. *Armaghane Journal of Medical Sciences Journal (YUMSJ)*, 19(8):23-33.

29. Mura A., Feldon J. 2003. Spatial learning in rats is impaired after degeneration of the nigrostriatal dopaminergic system. *Movement Disorders*, 18(8):860-871.

30. Olsson M., Nikkhah G., Bentlage C. 1995. Akinesia in the rat Parkinson model: differential effects of dopamine agonists and nigral transplants as assessed by a new

13. Dionísio P.A., Amaral J.D., Rodrigues C.M.P. 2021. Oxidative stress and regulated cell death in Parkinson's disease. *Ageing Research Reviews*, 67:101263.

14. Durán N., Silveira CP., Durán M., Martinez DS. 2015. Silver nanoparticle protein corona and toxicity: a mini-review. Journal of *Nanobiotechnology*, 13(1): 55.

15. Gasbarri A., Sulli A., Innocenzi R., Pacitti C., Brioni J.D. 2005. Spatial memory impairment induced by lesion of the mesohippocampal dopaminergic system in the rat. *Neuroscience*, 74(4):1037-1044.

16. Hales K. 2009. Homocysteine is linked to cardiovascular disease, neurological conditions. *Plos One*, 3:8-14.

17. Heckert E.G., Karakoti A.S., Seal S., Self W.T. 2008. The role of ceriumredox state in the SOD mimetic activity of nanoceria. Biomaterials. 29(18):2705-2709.

18. Heidari A., Yazdanpanah N., and Rezaei N. 2022. The role of Toll-like receptors and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Journal of Neuroinflammation*, 19(1): 1-21.

19. Hooshmandi Z., Rohani AH., Eidi A., Fatahi Z., Golmanesh L., Sahraei H. 2011. Reduction of metabolic and behavioral signs of acute stress in male Wistar rats by saffron water extract and its constituent safranal. *Pharmaceutical Biology*, 49(9): 947-954.

20. Jayaram, S. and Krishnamurthy, P.T., 2021. Role of microgliosis, oxidative stress and associated neuroinflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease: The therapeutic role of Nrf2 activators. *Neurochemistry Jnternational*, 145:105014.

21. Kandel E.R., Aschwurtz J.H., Jessell T.M. 2000. *Principle of Natural Science*, 4th ed, *McGraw-Hill*, pp: 862-1275.

22. Ko W.C., Wang S.J., Hsiao C.Y., Hung C.T., Hsu Y.J., Chang D.C., Hung

Zanardo-Gomes M., Angoa-Perez M, etal. 2010. Oxidativestress caused by ozone exposure induces loss of brain repair in the hippocampus of adult rats. *Toxicological Sciences*, 113(1):187-197.

40. Ryan C.M., Geckle M. 2000. Why is learning and memory dysfunction in Type 2 diabetes liited to older adults. *Diabetes Metabolism Research Reviews*, 16:308-315.

41. Satoh K. 1978. Serum lipid peroxidation in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 90:37-43.

42. Slutsky I., Abumaria N., Wu L.J., Huang C., Zhang L., Li B. 2010. Enhancement of learning and memory by elevating brain magnesium. *Neuron*, 65(2): 165-177.

43. Sun H. 2018. Association of soil selenium, strontium, and magnesium concentrations with Parkinson's disease mortality rates in the USA. *Environ Geochem Health*. 40(1):349-357.

44. Spijker S. 2011. Dissection of Rodent Brain Regions. Neuroproteomics, Humana Press, New York, 317 pp.

45. Tansey M.G., Wallings R.L., Houser M.C., Herrick M.K., Keating C.E., Joers V. 2022. Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nature Reviews Immunology*, 4:1-17.

46. Tiwari P.C., Pal R. 2022. The potential role of neuroinflammation and transcription factors in Parkinson disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 19(1):71-80.

47. Uppalapati D., Das N.R., Gangwal R.P., Damre M.V., Sangamwar A.T., Sharma S.S. 2014. Neuroprotective Potential of peroxisome proliferator activated receptor-α agonist in cognitive impairment in parkinson's disease: behavioral, biochemical, and PBPK profile. *PPAR Research*, 2014:753587.

48. Xiong N., Xiong J., Khare G., Chen C., Huang J., Zhao Y. 2011. Edaravone stepping test. *Journal of Neurosciences*, 15(5 Pt 2): 3863-3875.

31. Oyanagi K, Hashimoto T. 2011. Magnesium in Parkinson's disease: an update in clinical and basic aspects. In: Vink R, Nechifor M, editors. Magnesium in the Central Nervous System [Internet]. Adelaide (AU): University of Adelaide Press.

32. Panchanan M., Jayeeta M., Gary L. 2017. Current understanding of the molecular mechanisms in Parkinsons disease targets for potential treatments. *Trans Neuro*, 6:1-35.

33. Paxinos G., Watson C. 2006. The Rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed, *New York NY USA Academic Publication*, P: 232-239.

34. Perier C., Vila M. 2012. Mitochondrial biology and Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspective Medicine*, 2(2): a009332.

35. Potashkin J.A., Blume S.R., Runkle N.K. 2010. Limitations of animal models of Parkinson's disease. *Parkinson's Disorders*, 2011:658083.

36. Pourkhalili N., Hosseini A., Nili-Ahmadabadi A. 2011. Biochemical and cellular evidence of the benefit of a combination of cerium oxide nanoparticles and selenium to diabetic rats. *World Journal of Diabetes*, 2:204-210.

37. Praveen, T.K., Gangadharappa, H.V., Lila, A.S.A., Moin, A., Mehmood, K., Krishna, K.L., Hussain, T., Alafanan, A., Shakil, S., Rizvi, S.M.D. 2022. April. Inflammation targeted nanomedicines: Patents and applications in cancer therapy. *Seminars in Cancer Biology*, 9:S1044-9.

38. Rahimi A. 2014. Induction of Parkinson's disease model in rat by rotenone. *Journal of Isfahan Medical School*, 32(296):1-15.

39. Rivas-Arancibia S., Guevara-Guzmán R., Lopez-Vidal Y., Rodríguez-Martínez E.,

49. Young S.W., Stenzel M., Jia-Lin Y. 2016. NanoparticlesiRNA: A potential cancer therapy? Critical reviews in *oncology/hematology*. 98:159-169.

guards dopamine neurons in a rotenone model for Parkinson's disease. *PLoS One*, 6(6):e20677.

The Effect of Magnesium Oxide Nanoparticles on Oxidative Stress in a Parkinson's Model of Male Rats

Hoda Ghorbani-Moghaddam[1], Akram Eidi[1], Pejman Mortazavi[2], Shahrbanoo Oryan[3]

1- Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Department of Veterinary, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3- Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Abstract

Since limited studies have evaluated the antioxidant effects of magnesium oxide nanoparticles on Parkinson's disease, the aim of this study is to investigate the effect of magnesium oxide nanoparticles (MON) on oxidative stress in the Parkinson's model in mice. In this experimental study, 54 adult male rats were divided into nine groups of six, including: healthy control group, parkinsonian control group receiving 6-hydroxydopamine in the lateral ventricle, sham group receiving normal saline and healthy experimental group receiving magnesium oxide nanoparticles in doses of 2.5, 5 and 10 mg/kg and experimental Parkinson's groups that in addition to inducing Parkinson's, received magnesium oxide nanoparticles in doses of 2.5, 5 and 10 mg/kg. Administration of nanoparticles was intraperitoneal for 30 days. After that, oxidative stress parameters MDA, CAT and SOD were measured in the brain tissue. The results of the present study showed that treatment with magnesium oxide nanoparticles significantly reduced the amount of oxidative stress parameters in the brain tissue ($p < 0.05$). Magnesium oxide nanoparticle treatment in doses of 5 and 10 mg/kg decreased MDA in parkinsonian groups compared to parkinsonian control animals. Also, the treatment of magnesium oxide nanoparticles in doses of 5 and 10 mg/kg in the parkinsonian group caused a significant increase in the activity of SOD and CAT enzymes compared to parkinsonian control animals. As a result, it can be said that magnesium oxide nanoparticle can play a promising role with its effectiveness in reducing oxidative stress processes in Parkinson's model.

Keywords: Magnesium oxide nanoparticles, Oxidative stress, Parkinson Disease, 6-hydroxy dopamine