بررسی اثر کوآنزیم Q10 بر محافظت عصبی و اختلالات حرکتی در مدل موشی بیماری پارکینسون القاء شده با ٦– هیدروکسی دوپامین

مهدیه آذرشب[۱]، جلال صولتی[۲*]، رامین حاجی خانی[۱]، مهدی رهنما[۳]، محمدرضا بیگدلی[٤]

۱ – گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲ – گروه زیست شناسی، واحدگوهردشت، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۳ – گروه زیست شناسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

٤ – گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

[*]مسئول مکاتبات: Jsolati@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/٦/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲

چکیده

بیماری پارکینسون یکی از شایع ترین انواع بیماری‌های نورودژنراتیو است که با اختلالات حرکتی مانند: کندی حرکت، فقدان حرکت، سختی عضلانی، لرزش در حال استراحت و صورت ماسکه مشخص می شود. علت اصلی بیماری ، تخریب نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه در مغز میانی است که با کاهش غلظت دوپامین در پایانه‌های جسم مخطط همراه است. این مطالعه، به منظور بررسی اثر کوآنزیم کیو ۱۰ بر مدل حیوانی (PD) القاء شده با سم ٦– هیدروکسی دوپامین (6-HDOP) انجام شد. جهت ایجاد مدل موشی بیماری پارکینسون، سم 6-HDOP با دوز۵ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن موش به درون هسته جسم سیاه مغز در موش‌های نر بالغ نژاد NMRI تزریق شد. صحت ایجاد مدل پارکینسون در موش‌ها با استفاده از تست-های کاتالپسی و چرخش ناشی از آپو مورفین تایید شد. بلافاصله بعد از جراحی موش‌های پارکینسونی شده به مدت دو هفته با آب (حلال) Q10 و یا دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوآنزیم Q10 مورد تیمار قرار گرفته و سپس مورد آزمون-های رفتاری قرار گرفتند و تعداد نورون‌ها در هسته جسم سیاه آنها شمارش گردید. نتایج ما نشان می‌دهد که تیمار با Q10 به صورت معنی‌داری باعث کاهش زمان بی‌حرکتی و کاتالپسی، افزایش فعالیت‌های حرکتی و کاهش چرخش ناشی از آپومورفین شده است که نشان دهنده اثرات محافظتی کوآنزیم Q10 در برابر آسیب‌های ناشی از بیماری پارکینسون می‌باشد.

کلمات کلیدی: موش سوری، ٦ – هیدروکسی دوپامین، جسم سیاه، پارکینسون، کوآنزیم Q10.

مقدمه

بیماری پارکینسون یک اختلال مزمن پیشرونده و تخریب کننده عصبی است که به عنوان دومین بیماری تخریب کننده عصبی رایج در بین افراد پس از بیماری آلزایمر می‌باشد. میزان شیوع این بیماری در افراد بالای ۵۰ سال حدودا ۲ درصد گزارش شده است (۱۱، ۲۸). پارکینسون ثانویه ممکن است در اثر مسمومیت با منگنز، مسمومیت با مونوکسیدکربن، ضربه‌ی مزمن و مداوم بـه سر و برخی مواد مخدر تزریقـی ممکن است ایجاد گردد که علائمی مشابه با پارکینسون را دارد. در سال ۱۸۱۷ دانشمند بریتانیایی دکتر جیمـز پارکینسون اولین گزارشات مربوط به بیماری پارکینسون را ارائه داد (۲۳). بیماری

پارکینسون همراه بـا اختلالات حرکتی می‌باشد که می‌توان به سفتی عضلانی، لرزش در حال استراحت، برادیکینزی (آهسته بودن حرکات)، آکینزی (مشکل در شروع حرکات)، ضعف در حفظ تعادل و تغییر حالت چهره به هنگام صحبت کردن اشاره کرد (۲۳). در اثر این بیماری ۵۰ تا ۷۰ درصد نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه متراکم جسم سیاه (Substantia Nigra) تخریب می‌شوند (۷). علاوه بر نورون‌های دوپامینرژیک سایر جمعیت‌های نورونی نیز که شامل بخش‌هایی از لوکوس سرلئوس، هسته‌های رافه‌ای و هسته حرکتی پشتی واگ، قشر سینگولیت (در اطراف سینگولیت نیز مناطق حرکتی وجود دارد) و پیاز بویایی هم تخریب می‌شوند (۱۳، ۲۲). این بیماری ناشی از یک عدم تعادل بین تحریک و مهار در هسته‌های قاعده‌ای است (پوتامن، هسته دم‌دار، جسم سیاه، هسته زیرتالاموسی، گلوبوس پالیدوس) که با مهار دوپامینی پوتامن همراه می‌باشد (۱۵).

٦- هیدروکسی دوپامین (6-HDOP) یک آنالوگ هیدروکسیله شده از انتقال‌دهنده عصبی دوپامین است. آثار بیولوژیکی آن اولین بار توسط Porter و همکارانش بررسی شد. آنها نشان دادند که ٦ - هیدروکسی دوپامین قادر به القاء کاهش نورآدرنالین در سیستم عصبی خود مختار و قلب است. همچنین این سم قادر به تخریب پایانه‌های سلول‌های عصبی در سیستم سمپاتیک می‌باشد. نورون‌های دوپامینرژیک حاوی سطوح معنی‌داری از دوپامین، هیـدروژن پراکسید و آهن آزاد می‌باشد که یک واکنش غیرآنزیمی بین این عناصر ممکن است منجر به شکل-گیری ٦- هیدروکسی دوپامین گردد.

٦- هیدروکسی دوپامین آسیب بـه نورون‌های دوپامینرژیک جسم مخطط- جسم سیاه را از طریـق تولید هیـدروژن پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل القاء می کند (۳، ۲۷).

از آنجا که این ترکیب توانایی عبور از سد خونی- مغزی را ندارد، بنابراین باید جهت ایجاد مدل حیوانی و اعمال اثر به صورت داخل مغزی و از طریق جراحی استریوتکس تجویز گردد، برای این منظور می‌توان نوروتوکسین را در دوز ٦ میکروگرم در ۲ میکرولیتر محلول نمکی ۰/۹ درصد حل کرده و در سه ناحیه متراکم جسم سیاه، هسته دم دار- پوتامن و مسیر جسم سیاه- مخطط توسط سرنگ هامیلتون تزریق نمود (۲، ۲٦).

کوآنزیم Q10 یک ترکیب بنزوکینـون محلول در چربی است که به طور طبیعی در بیشتر بافت‌های بدن یافت می‌شود و از مهمترین مـواد مـورد نیـاز جهت سلامتی و حیات سلول‌ها است که جهت تولید انرژی داخل سلولی ضروری است (۱).

کوآنزیم Q10 دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدرادیکال آزاد می‌باشد که حدود ۵۰ برابر بیشتر از ویتامین E است. کوآنزیم Q10 در درمان بیماری‌های نارسایی قلبی، اعصاب، آلزایمر و پارکینسون، اختلالات باروری، نارسایی ایمنی، بیماری‌های پوست، بیماری‌های چشم و دیابت استفاده می‌شود. این ترکیب در غشا داخلی میتوکندری به طور طبیعی سنتز می‌شود ولی میزان آن با افزایش سن، کاهش می‌یابد (۵).

کوآنزیم Q10، علاوه بر انتقال الکترون‌ها در زنجیره تنفسی میتوکندریایی، پراکسیداسیون لیپیدی را مهار می‌کند (۱۲، ۱۸). شواهد، بیانگر نقش حفاظتی کوآنزیم Q10 در سلول‌های عصبی است. در شرایط ایسکمی مغزی، کوآنزیم Q10 با مهار استرس اکسیداتیو مانع آسیب رسیدن به نورون‌ها می‌شود. در اثر تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژنی و متابولیسم غیرطبیعی انرژی، Q10 می‌تواند نقش حفـاظتی خود را از طریق بهبود متابولیسم انرژی مغز ایفا نماید (۱۷، ۲۹).

مواد و روش کار

موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI با محدوده وزنی ۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و در قفس‌های ٤ تایی، تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۲-۲۵ درجه ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. همگی دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد را داشته و حداقل ۱۰ روز پس از آداپتاسیون در محیط، مورد استفاده قرار گرفتند.

ایجاد و تائید مدل موشی بیماری پارکینسون: موش‌ها برای ایجاد و تایید PD بصورت تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند :

گروه کنترل: این گروه حلال سالین حاوی ۱٪ اسید اسکوربیک را به صورت تزریقی به درون استرایاتوم سمت چپ مغز خود دریافت کردند (۱۰ سر موش).

گروه‌های پارکینسونی: موش‌های گروه تیمار ۵ میکروگرم بر میکرولیتر از حلال ٦-HDOP حاوی ۱٪ اسید اسکوربیک را به صورت تزریقی به درون استرایاتوم سمت چپ مغز خود دریافت کردند (۳۰ سر موش) .

بررسی اثرات Q10 بر روی شدت و علائم بیماری در موش‌های پارکینسونی شده بوسیله ٦-HDOP

گروه کنترل (آب): این گروه فقط آب مقطر حلال Q10 را به مدت دو هفته به صورت گاواژ دریافت کردند (۱۰ سر). گروه‌های تیماری: که Q10 را با دوزهای (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت دو هفته به صورت گاواژ دریافت کردند (۳۰). تیماره با دوزهای مختلف Q10 و یا حلال آن بالافاصله بعد از تزریق ٦- HDOP شروع شده و به مدت دو هفته ادامه داشته و پس از دو هفته تیمار تست‌های رفتاری و بافت‌شناسی شروع می‌شد.

استریوتاکسی: روشی با کمترین تهاجم و دقت بیشتر، برای جراحی مغز و اعصاب است که در آن مختصات سه بعدی نقطه مورد نظر بررسی و محل دقیق تزریق مشخص می‌شود. در این پژوهش برای تزریق ٦-هیدروکسی دوپامین درون استرایاتوم، کانول از سر سوزن شماره ۲۱ ساخته می‌شد و با روش جراحی استریوتاکسی درناحیه مغز موش قرار می‌گرفت. موش‌ها پس از بی‌هوشی بوسیله مخلوط کتامین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق داخل صفاقی تحت عمل جراحی قرارگرفتند. به کمک دستگاه استریوتاکسی USA, Stoelting و طبق اطلس آموزشی (Franklin and Paxinos) مختصات مغز موش برای ناحیه AP: +0.04 cm , ML: ±0.18 cm, DV: −0.35 cm پیدا شد و کانول جایگذاری می‌شد (۲۰). پس از سوراخ کردن محل مورد نظر در نیمکره چپ به کمک دریل دندانپزشکی، ۵ میکروگرم نوروتوکسین 6-HDOP در یک درصد اسید اسکوربیک به صورت یک طرفه در SNc با استفاده از سرنگ هامیلتون ۵ میکرولیتری و کانول تزریقی ساخته شده از سر سوزن شماره ۲۸ دندانپزشکی تزریق شد. به منظور جلوگیری از بازگشت محلول به درون رنگ و برای انتشار بهتر محلول در منطقه‌ی SNc، باید سرسوزن به مدت یک دقیقه پس از تزریق در جای خود ثابت باقی می‌ماند (۲۰).

تست‌های رفتاری جهت تایید بیماری پارکینسون و شدت آن

۱- چرخش ناشی از تزریق آپومورفین: یک هفته بعد از ایجاد مدل پارکینسونی، آپومورفین هیدروکلراید با دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش به صورت داخل صفاقی تزریق شد. حیوانات ۱۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش به یک محفظه استوانه ای مدرج بر حسب زاویه از جنس پلکسی گلاس به قطر ۳۳ و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر منتقل شدند. یک دقیقه پس از تزریق آپومورفین، تعداد چرخش در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه‌ای به مدت کل ٦۰ دقیقه تحت شرایط آرام

توسط یک شمارش گر دستی اندازه‌گیری شد. با توجه به ناحیه‌ی آسیب دیده، تعداد چرخش ایپسیلترال (به سمت چپ) به عنوان عدد منفی و تعداد چرخش کنترالترال (به سمت راست) به عنوان عدد مثبت در نظر گرفته شد و تعداد خالص چرخش به صورت تفاضل چرخش‌ها در دو جهت محاسبه شد (۹).

۲- **کاتالپسی**: برای بررسی کاتالپسی (کرختی و سستی عضلانی) از روش استاندارد تست میله (Bar Test) استفاده شد. در این روش دو دست حیوان بر روی میله چوبی و افقی به قطر ۱/۲۵ سانتی‌متر و به ارتفاع ٤/٥ سانتی‌متر از کف جعبه (عرض ۱۲/۵ و طول ۲۰ سانتی‌متر) قرار داشت. مدت زمانی که بدن موش ثابت و هر دو دست حیوان روی میله افقی بود، اندازه گرفته شد. حداکثر زمانی که جانور می‌توانست روی میله باقی بماند ۳۰ ثانیه بود. اگر حیوان یکی از دست‌های خود را از روی میله بردارد، آزمایش به اتمام می‌رسد (۱۹) .

انجام تست‌های رفتاری بعد از درمان

۱ - تست اضطراب با ماز مرتفع به علاوه ای شکل: جهت سنجش اضطراب، از تست – Elevated plas maze استفاده شد. در تست EPM ابزار مورد استفاده یک دستگاه چوبی به ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر بالاتر از کف و شامل دو بازوی باز (۵×۳۵ سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (۵× ۳۵ سانتی‌متر) و یک سکوی مرکزی (۵×۵ سانتی‌متر) هر کدام با یک سقف باز تشکیل شده است. اتاق تست باید از لحاظ صدا، دما، نور و اشیا کاملا یکنواخت باشد و این آزمایش در سکوت کامل انجام گیرد. موش ابتدا در یکی از بازوهای باز قرار گرفت. داده‌های رفتاری به وسیله‌ی یک دوربین که در بالای سر ماز نصب بود، ضبط می‌شد. در هر جانور به مدت ۵ دقیقه پارامترهای زیر اندازه گرفته می‌شد: مدت زمانی که حیوان در بازوی باز باقی می‌ماند. مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته باقی می‌ماند. دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می‌شود. دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می‌شود. منظور از ورود به بازوی باز یا بسته زمانی است که هر چهار پای حیوان وارد آن بازو می شد. به منظور تجزیه و تحلیل فعالیت بازوی باز، برای هر موش، درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز و درصد دفعات ورود به بازوی باز محاسبه شد، همچنین میزان فعالیت حرکتی موش‌ها (Locomotor Activity) معادل تعداد دفعات ورود به بازوهای مختلف، نیز محاسبه شد.

۲ - تست افسردگی : برای سنجش میزان افسردگی در موش‌های PD از تست شنای اجباری (FST) به مدت ۵ دقیقه استفاده می‌شد. این تست یکی از معتبرترین و رایج‌ترین تست‌های حیوانی برای بررسی افسردگی می‌باشد. براساس نظریه درماندگی آقای مارتین سلیگمن، در صورتی که حیوان در معرض استرس مداوم قرار گیرد و راه گریزی از آن نداشته باشد، رفته رفته امید به گریز از این شرایط را از دست داده و تحرک و فعالیت خود را متوقف می‌نماید و درمانده و بی‌حرکت می‌شود. در این روش، ۱۵ سانتی‌متر از ظرف شیشه‌ای استوانه‌ای با ارتفاع ۲۵ و قطر ۱۲ سانتی‌متر از آب ۲۵ درجه پر و موش‌های تیماری و کنترل پس از کسب درمان‌های لازم بصورت انفرادی از ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری به ملایمت درون آب قرار داده می‌شدند. در این شرایط، حیوانات برای نجات خود و یا حفظ پایداری خود در آب شنا می‌کردند. پس از مدتی، حیوانات با قطع حرکات دست و پای خود از تحرک و فعالیت باز می‌مانند که بطور قراردادی به آن بی‌حرکت شدن می‌گویند. اندازه‌گیری مدت زمان بی‌حرکتی حیوان، توسط کرونومتر ثبت می‌گردید.

رنگ آمیزی هماتوکسلین- ائوزین: پس از تست‌های رفتاری، سر جانوران در بیهوشی کامل قطع گردید و

سپس مغز آنها خارج گردیده و در فرمالدئید ٤ درصد قرار داده شد. سپس مغزها در قالب‌های پارافینی فیکس شد. با استفاده از دستگاه میکروتـوم روتاتوری برش‌هایی با ضخامت ۷ میکرون تهیه شد. برش‌ها روی لام‌های آلبومینه قرار گرفت. شـفاف‌سازی و آبدهی شد. لام‌ها با استفاده از هماتوکسیلین- ائوزین رنگ و با چسب انتلان و لامل پوشانده شد. لام‌های رنگ شده، با میکروسکوپ نوری X٤٠ بررسی و عکس‌برداری شد. توسط نرم‌افزار Image Pro Plus (V.6) شمارش سلولی در ناحیه استرایاتوم نیگرا انجام گرفت.

نتایج

یافته‌های این تحقیق نشان‌دهنده اثرات نوروتوکسین ٦-هیدروکسی دوپامین بر جسم سیاه برای ایجاد بیماری پارکینسون با تخریب نورون‌های دوپامینرژیک است و نیز در این پژوهش به این نتیجه رسیدیم که مصرف داروی کوآنزیم Q10 به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانتی می‌تواند از پیشرفت بیماری پارکینسون جلوگیری کند. نتایج حاصل از این پژوهش در دو بخش بررسی می‌شود.

نمودار ۱ نشان دهنده چرخش ناشی از آپو مورفین می‌باشد. همانطور که در نمودار نشان داده شده است ؛ تزریق آپومورفین باعث افزایش معناداری در چرخش موش‌های پارکینسونی در مقایسه با گروه کنترل شده است ($p< ۰/۰۰۱$).

نمودار ۲ نشان دهنده افزایش کاتالپسی در گروه‌های تیماری است که به بیماری پارکینسون مبتلا شده‌اند.

نمودار۳ بعد از تزریق ٦ - هیدروکسی دوپامین به گروه تیمار است که نشان دهنده کاهش تعداد نورون-های هسته جسم سیاه نسبت به نورون‌های گروه کنترل می‌باشد که نشان می‌دهد به مرگ سلولی و بیماری پارکینسون مبتلا شدند.

اثرات دوزهای کوآنزیم Q10 بر روی موش‌های پارکینسونی شده: تعداد چرخش‌های ناشی از تزریق آپومورفین به گروه کنترل (آب) و تیمار دریافت کننده دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ کوآنزیم Q10 در نمودار ٤ نشان داده است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که هر سه دوز Q10 بطور معنی داری تعداد چرخش‌های ناشی از آپومورفین، نسبت به گروه کنترل دریافت کننده آب را کاهش داده‌اند ($p < ۰/۰۱$).

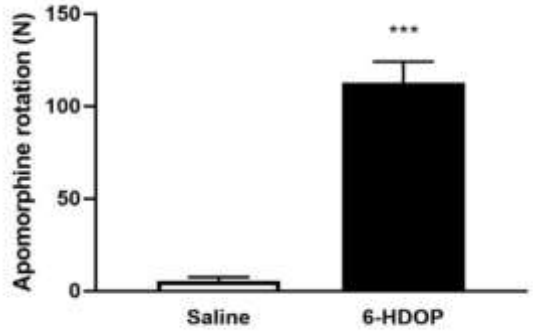
نمودار۵ نشان‌دهنده زمان کاتالپسی گروه‌های کنترل (دریافت کننده آب) و تیمار (دریافت کننده دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ کوآنزیم Q10) است. کاتالپسی در گروه تیمار با دوز ۵۰ کمتر شد که نشان‌دهنده بهبود بیماری پارکینسون است.

نمودار ٦ نشان‌دهنده مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون تست شنای اجباری در گروه‌های کنترل و تیمار است و این زمان درگروه تیمار با دوز ۵۰ کمتر بود که نشانه درمان افسردگی و بهبود بیماری پارکینسون است.

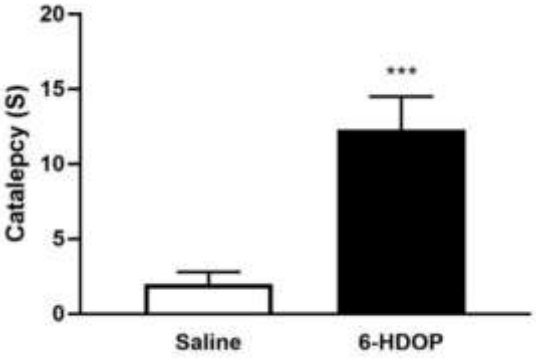
نمودار ۷ نشان‌دهنده تعداد دفعات ورود موش به بازوی باز و بسته ماز، برای ارزیابی آزمون اضطراب در گروه‌های کنترل و تیمار است و این تعداد در گروه تیمار با دوز ۵۰ بیشتر شد که نشانه کاهش اضطراب و بهبود بیماری پارکینسون است.

نمودار ۸ نشان‌دهنده درصد زمان گذرانده در بازوی باز ماز گروه‌های کنترل تیمار است و درصد این فعالیت درگروه تیمار با دوز ۱۰۰ بیشتر شد که نشانه کاهش اضطراب، درمان و بهبود بیماری پارکینسون است.

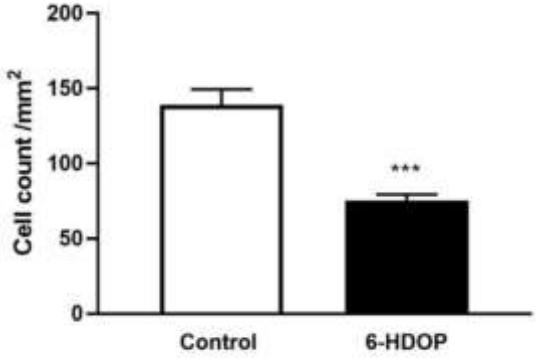
نمودار ۹ در خصوص بررسی تعداد نورون‌ها در هسته جسم سیاه گروه کنترل و پارکینسونی تیمار شده با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ کوآنزیم Q10 برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش است که تعداد نورون‌ها با دوز ۱۰۰ محافظت بیشتری داشت.



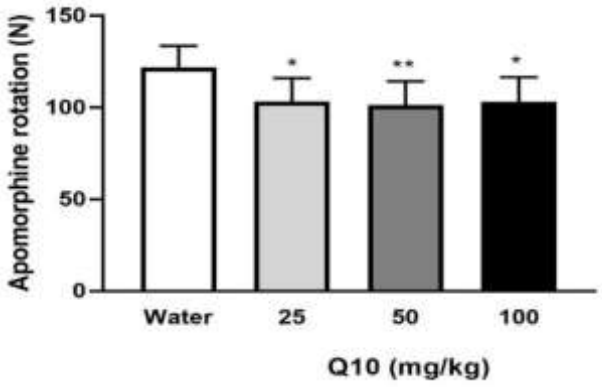
نمودار ۱- مقایسه میانگین ± خطای معیار چرخش ناشی از تزریق آپومورفین درگروه کنترل و گروه پارکینسونی شده بوسیله 6-HDOP (*** نشان دهنده ۰/۰۰۱ >p).



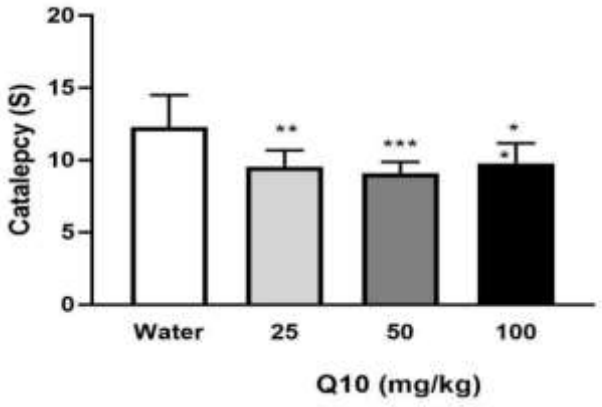
نمودار ۲- نتایج میانگین ± خطای معیار کاتالپسی که در گروه‌های تیمار نشان دهنده آن است که به بیماری پارکینسون مبتلا شدند (*** نشان دهنده ۰/۰۰۱ >p).



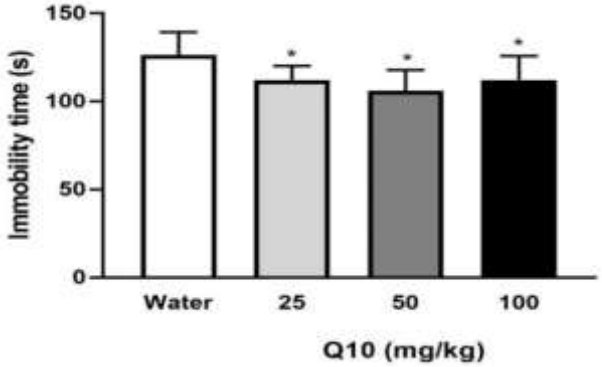
نمودار۳- نتایج میانگین ± خطای معیار تعداد نورون‌ها در هسته جسم سیاه بعد از تزریق ٦ – هیدروکسی دوپامین به گروه‌های تیمار که نشان داده موش‌های تیمار به بیماری پارکینسون مبتلا شدند (***۰/۰۰۱ >p).



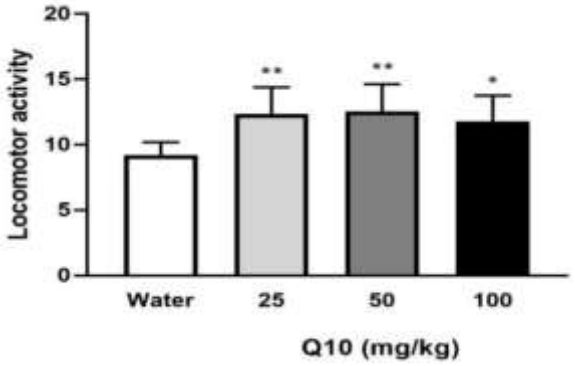
نمودار٤- میانگین ± خطای معیار چرخش ناشی از تزریق آپومورفین در موش‌های پارکینسونی تیمار شده با آب و دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوآنزیم Q10 (* $p< ۰/۰۵$ و ** $p< ۰/۰۱$).



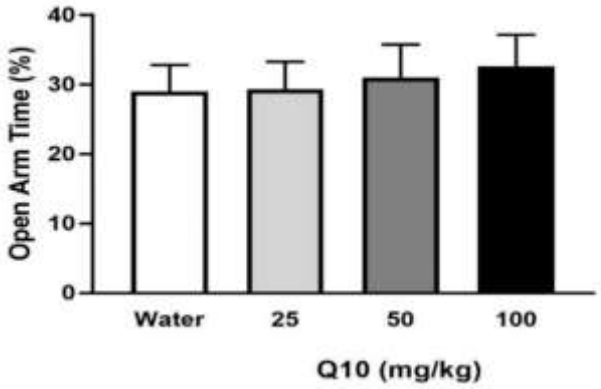
نمودار ۵- میانگین ± خطای معیار رفتار کاتالپسی در گروه کنترل و پارکینسونی تیمار شده با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوآنزیم Q10 (** $p< ۰/۰۱$ و *** $p< ۰/۰۰۱$).



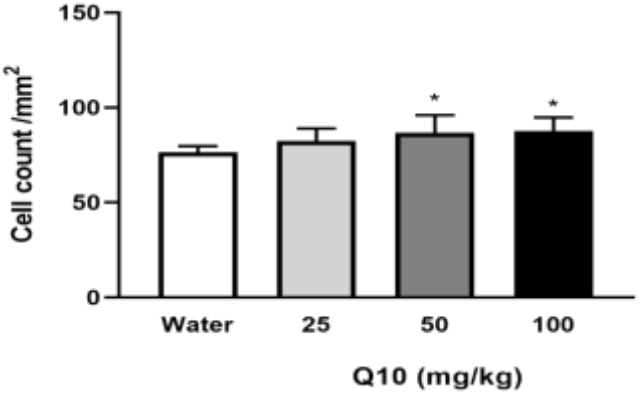
نمودار ٦- میانگین ± خطای معیار زمان بی‌حرکتی در شنای اجباری برای تست افسردگی در گروه کنترل و پارکینسونی تیمار شده با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوآنزیم Q10 (* $p< ۰/۰۵$).



نمودار ۷- میانگین ± خطای معیار زمان رفتار فعالیت حرکتی در ماز برای تست اضطراب در گروه کنترل و پارکینسونی تیمار شده با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوآنزیم Q10 (* $p< ۰/۰۵$ و ** $p< ۰/۰۱$).



نمودار ۸- نتایج حاصل از بررسی زمان رفتار حضور موش در بازوی باز ماز در گروه کنترل و پارکینسونی تیمار شده با دوزهای ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوآنزیم Q10 (* $p< ۰/۰۵$، ** $p< ۰/۰۱$ و *** $p< ۰/۰۰۱$).



نمودار ۹- میانگین ± خطای معیار تعداد نورون‌ها در هسته جسم سیاه گروه کنترل و پارکینسونی تیمار شده با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوآنزیم Q10 (* $p< ۰/۰۵$).

بحث

بیماری پارکینسون یکی از شایع‌ترین انواع بیماری‌های نورودژنراتیو است که با اختلالات حرکتی مانند: کندی حرکت، فقدان حرکت، سختی عضلانی، لرزش در حال استراحت و صورت ماسکه مشخص می‌شود. علت اصلی بیماری، تخریب نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه در مغز میانی و کاهش غلظت دوپامین در پایانه‌های جسم مخطط است. ازآنجا که افزایش مصرف اکسیژن با استرس اکسیداتیو همراه خواهد بود، مغز بافتی است که به علت نیاز زیاد به اکسیژن، بیشتر در معرض آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو قرار می‌گیرد.

استرس اکسیداتیو یکی از عواملی است که در تخریب نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون نقش دارد. همچنین مطالعات آزمایشگاهی نشان دادند که سرم و مایع مغزی–نخاعی بیماران پارکینسونی سطوح بالاتری از IL-12، TNF-α و IL-1β را دارا می باشد (۸). از طرفی نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه به عوامل پیش برنده التهابی و میانجی‌های اکسیداتیو حساسیت بیشتری دارند. چون غلظت گلوتاتیون داخل سلولی در این نورون‌ها نسبت به سایر سلول‌ها کمتر است (٤). مطالعات نشان داده است که صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو و رادیکال های آزاد نقش مهمی در تخریب نورون‌های جسم سیاه دارد. برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله پارکینسون مصرف آنتی اکسیدانت‌ها موجب کاهش خطر ابتلا می شود. کوآنزیم Q10 دارای خاصیت ثابت شده‌ی آنتی اکسیدانی و ضدرادیکال آزاد می-باشد. در آزمون آپومورفین موش‌های پارکینسونی بیش از ۳۰ چرخش در یک ساعت بر خلاف جهت تزریق نوروتوکسین را نشان دادند. تعداد این چرخش‌ها در واحد زمان نشان دهنده شدت تخریب نورونی در جسم سیاه و شدت بیماری است (۱۰). در تست میله برای سنجش کاتالپسی اگر در مدت زمان کمتری، موش دستش را از روی میله بردارد، یعنی هنوز به طور شدید به بیماری پارکینسون مبتلا نشده است و این زمان هر چقدر دیرتر باشد، بیشتر پارکینسونی شده است (۲۰).

در تست اضطراب افزایش مدت زمان حضور جانور در بازوی باز به عنوان معیاری برای کاهش اضطراب و کاهش حضور آن به عنوان افزایش اضطراب در نظر گرفته می‌شود. در تست شنا افزایش زمان بی حرکتی را معـــادل افسردگی و کاهش بی‌حرکتی، به عنوان اثر بخشی درمان ضد افسردگی، ارزیابی می‌شد. نتایج ما نشان می‌دهد که تیمار با Q10 به صورت معنی‌داری باعث کاهش زمان بی‌حرکتی و کاتالپسی، افزایش فعالیت‌های حرکتی و کاهش چرخش ناشی از آپومورفین شده است که نشان‌دهنده اثرات محافظتی کوآنزیم Q10 در برابر آسیب‌های ناشی از بیماری پارکینسون می‌باشد.

سلول‌های پارکینسونی بعد از درمان با Q10 محافظت شدند. بعد از رنگ‌آمیزی نمونه‌های مغزی با هماتوکسلین- ائوزین، شمارش سلولی انجام گرفت که مشخص شد تعداد سلول‌های دژنره شده کاهش یافته است.

کوآنزیم Q10 یکی از ناقل‌های انتقال الکترون در زنجیره تنفسی می‌باشد و می‌تواند با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی و تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش بسزایی در حفاظت از غشاهای سلولی در مقابل رادیکال‌های آزاد داشته باشد. درمان با Q10 از آسیب نورودژنراتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد تولید شده در مغز، پیشگیری می‌کند (١٤).

مصرف مکمل‌های Q10 به عنوان آنتی اکسیدانت در بهبود اثرات بیماری پارکینسون، آلزایمر، آتاکسی فردریش و بیماری هانتینگتون و کاهش ریسک ابتلا به

بیماری کرونر قلب موثر می‌باشد و همچنین باعث کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از رژیم غذایی ایجاد کننده چاقی در کبد موش شده است (۲۵).

در مطالعه تجربی Ogura نشان داده شد که مصرف کوآنزیم Q10 در آسیب کبد سگ‌ها با سیستئامین، می‌تواند باعث جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد و افزایش بقای حیوان شود (۱۶).

مطالعات Beal و همکارانش نشان می‌دهد که تیمار روزانه موش‌ها با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از کوآنزیم Q10، باعث افزایش فعالیت آنتی-اکسیدانی در مغز شده و اثرات محافظتی برای نورون-ها را دارد (۲۳) .

Palmira و همکارانش در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که کوآنزیم Q10 میتوکندریایی می‌تواند باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو در رت‌های دیابتی گردد (۶).

Juan و همکارانش در سال ۲۰۰۹ گزارش دادند که کوآنزیم Q10 باعث کاهش ایسکمی و آپوپتوزیز و آسیب‌های عصبی در مثانه خرگوش می‌شود (۲۱).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مصرف کوآنزیم Q10 می‌تواند منجر به افزایش فعالیت و توان آنتی‌اکسیدانی گردد. در پی آن موجب محافظت سلول از آسیب ناشی از بنیان‌های فعال اکسیژن می‌گردد. نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کند مصرف کوآنزیم Q10 می‌تواند نقش محافظتی در برابر بیماری پارکینسون و بیماری-های عصبی تحلیل‌برنده را داشته باشد. همچنین در این مدل حیوانی با کاهش آسیب حاصل از رادیکال-های آزاد و کاهش مرگ نورون‌های عصبی، اثرات محافظتی و ضد التهابی Q10 مشخص شد.

منابع

1. Aly N. 2012. Reno-protective efficiency of coenzyme Q10 on adriamycin-induced nephrotoxicity in rats. *Journa of Applied Science Research*, 8: 589.

2. Blandini F., Armentero M.T., Martignoni E., 2008. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. *Parkinsonism and Related Disorders*, 14: S124-S129.

3. Blum D., Torch S., Lambeng N., Nissou M.F., Benabid A.L., Sadoul R., Verna J.M., 2001. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology*, 65: 135-172.

4. Collins L.M., Toulouse A., Connor T.J., Nolan Y.M., 2012. Contributions of central and systemic inflammation to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Neuropharmacology*, 62(7): 2154-2168.

5. Crane F.L., 2001. Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal of the American College of Nutrition*, 20: 591-598.

6. De Luca C., Kharaeva Z., Raskovic D., Pastore P., Luci A., Korkina L., 2012. Coenzyme Q10, vitamin E, selenium, and methionine in the treatment of chronic recurrent viral mucocutaneous infections. *Nutrition*, 28: 509-514.

7. Elbaz A., Bower J.H., Maraganore D.M., McDonnell, S.K., Peterson B.J., Ahlskog J.E., Schaid D.J., Rocca W.A., 2002. Risk tables for parkinsonism and Parkinson's disease. *Journal of Clinical Epidemiology*, 55: 25-31.

8. Ferrari C.C., Tarelli R., 2011. Parkinson's disease and systemic inflammation. *Parkinson's Disease*, 2011: 436813.

9. Fujita M., Nishino H., Kumazaki M., Shimada S., Tohyama M., Nishimura T., 1996. Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral

17. Ostrowski R., Piotrowski P., Pańkowska T., Smiałek M., 1998. Evaluation of morphological changes after treatment with coenzyme Q10 (CoQ10) in endothelin-1 induced experimental ischemia in the rat. *Folia Neuropathologica*, 36: 185-188.

18. Overvad K., Diamant B., Holm L., Hølmer G., Mortensen S., Stender S., 1999. Coenzyme Q10 in health and disease. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53: 764.

19. Prinssen E.P., Colpaert F.C., Koek W., 2002. 5-HT1A receptor activation and anti-cataleptic effects: High-efficacy agonists maximally inhibit haloperidol-induced catalepsy. *European Journal of Pharmacology*, 453(2-3): 217-221.

20 PubMed-NCBI Parkinsonism Relat Disord. 2012. 18suppl 1: S183-5.

21. PubMed-NCBI Neurourology Urodyn. 2009, 28(4): 339-42.

22. Savica R., Rocca W.A., Ahlskog J.E., 2010. When does Parkinson disease start? *Archives of Neurology*, 67: 798-801.

23. Schapira A.H., 2009. Neurobiology and treatment of Parkinson's disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30: 41-47.

24. Shults C.W., Oakes D., Kieburtz K., Beal M.F., Haas R., Plumb S., Juncos J.L., Nutt J., Shoulson I., Carter J., 2002. Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline. *Archives of Neurology*, 59: 1541-1550.

25. Sohet F.M., Neyrinck A.M., Pachikian B.D., de Backer F.C., Bindels L.B., Niklowitz P., 2009. Coenzyme Q10 supplementation lowers hepatic oxidative stress and inflammation associated with diet-induced obesity in mice. *Biochemical Pharmacology*, 78(11): 1391-1400.

26. Storch A., Kaftan A., Burkhardt K., Schwarz J., 2000. 6-Hydroxydopamine cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. *Molecular Brain Research*, 39(1-2):127-36.

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

11. Hubble J.P., Cao T., Hassanein R., Neuberger J., Roller W., 1993. Risk factors for Parkinson's disease. *Neurology*, 43: 1693-1693.

12. Lenaz G., Fato R., Castelluccio C., Genova M., Bovina C., Estornell E., Valls V., Pallotti F., Castelli G.P., 1993. The function of coenzyme Q in mitochondria. *The Clinical Investigator*, 71: S66-S70.

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

14. McCarthy S., Somayajulu M., Sikorska M., Borowy-Borowski H., Pandey S., 2004. Paraquat induces oxidative stress and neuronal cell death;neuroprotection by water-soluble Coenzyme Q10. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 201(1): 21-31.

15. McGeer P.L., McGeer E.G., 2004. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, 10: S3-S7.

16. Ogura Y., Takagi K., Kawarada Y., Mizumoto R., 1996. Pathophysiological effect of hepatic ischemia and reperfusion after hepatectomy in dogs with obstructive jaundice, focusing on the effect of coenzyme Q10 and styrene-co-maleic acid superoxide dismutase. *Journal of Gastroenterology*, 31(3): 379-386.

toxicity towards human SH-SY5Y dopaminergic neuroblastoma cells: independent of mitochondrial energy metabolism. *Journal of Neural Transmission*, 107: 281-293.

27. Thoenen H., Tranzer J., 1968. Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-hydroxydopamine. *Naunyn-Schmiedebergs Archiv für Pharmakologie und Experimentelle Pathologie*, 261: 271-288.

28. Veldman B., Wijn A., Knoers N., Praamstra P., Horstink M., 1998. Genetic and environmental risk factors in Parkinson's disease. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 100: 15-26.

29. Zhen R., Wenxiang D., Zhaokang S., Xinling G., Huiming H., Jingfeng L., Qing Y., Weizhong Z., Xiaoqing Y., 1994. Mechanisms of brain injury with deep hypothermic circulatory arrest and protective effects of coenzyme Q10. The *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 108: 126-133.