بررسی تغییرات ناشی از استرس اکسیداتیو در نتیجه اعمال استرس اجتماعی در دو بافت مغز و کلیه

ایراندخت زینائی[۱]، شهربانو عریان[۲]، محمدرضا واعظ مهدوی[۳*]، اکرم عیدی[۱]، مهرداد روغنی[۳]

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

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی شاهد، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات:Mh_mahdavi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۱٤

چکیده

تاثیر استرس‌های اجتماعی بر بروز بیماری‌های قلبی – عروقی و بیماری‌های روحی روانی روشن است. برای بررسی تاثیر گذاری این استرس‌ها بر القائ استرس اکسیداتیو ایجاد تغییر در سطح اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی مدل محدودیت تغییر هم خانه مشاهده در حضور دریافت آنتی اکسیدان زردچوبه طراحی شد. ٦۰ سر رت نر نژاد ئویستار تحت شرایط استاندارد دما و نور و آب قرار گرفتند و در گروه‌های تحت استرس یک سوم غذای معمول هر رت در اختبارش قرار داده شد. استرس تغییر هم خانه و مشاهده هم در دو گروه این رت‌ها القا گردید. در دو گروه غذای مصرفی شان محتوی زرد چوبه بود.به مدت ٤ ماه رته تحت شرایط تعریف شده برای هر گروه یعنی تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه، محدودیت غذایی مشاهده تغییر هم خانه زردچوبه، کنترل، کنترل زردچوبه نگهداری شدند .پس از اتمام دوره نگهداری رتها با اتر بیهوش شده و بافت کلیه و مغز آنها هموژن شد. هر کدام از فاکتورهای مد نظر یعنی مالون دیآلدئید،گلوتاتیون، نیتریک اکساید،کاتپسین D و لیپوفوشین در بافت‌ها سنجش شد. سطح مالون دی آلدئید بطور معنی‌داری هم در مغز و هم در کلیه در گروه تحت استرس افزایش پیداکرد. سطح نیتریک اکساید و گلوتاتیون در مغز افزایش یافت میزان فعالیت کاتپسینD و تجمع لیپوفوشین تغییری نداشت. مغز نسبت به تشکیل MDA حساس‌تر است اما سطح گلوتاتیون و نیتریک اکساید در آنها بالاتر است. تغییرات ناشی از القائ استرس‌های اجتماعی در دو بافت مغز و کلیه بصورت یکسان رخ نمی دهد.

کلمات کلیدی: استرس اجتماعی،آنتی اکسیدان زردچوبه، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه،گلوتاتیون و نیتریک اکساید.

مقدمه

مکانیسم‌های متعددی جهت بررسی ارتباط بین وضعیت اجتماعی – اقتصادی افراد و سلامتی آنها در نظر گرفته شده است. طبق گرادیان اجتماعی سلامت موقعیت اقتصادی و اجتماعی پایین‌تر باشد میزان مرگ و میر بالاتر و امید به زندگی کمتر خواهد بود (۱). به منظور سنجش تاثیر گذاری فقر، عدم ثبات وضعیت اجتماعی و بی عدالتی (تبعیض) مدل حیوانی استفاده شد که با اعمال استرس محدودیت غذایی(فقر)، تغییرهمخانه (بی‌ثباتی وضعیت اجتماعی) و مشاهده (تبعیض و نابرابری غذایی) اثرات آنها در مغز و کلیه بررسی شود. این تحقیق در راستای مطالعاتی است که قبلا در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد گروه فیزیولوژی انجام شده است. فشار روانی آترواسکلروز را افزایش می‌دهد (۲). عدم تعادل بین تاثیر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث حالتی می‌شود که به آن استرس اکسیداتیو

می‌گویند. استرس اکسیداتیو در نتیجه افزایش تولید اکسیدان‌هایی مثل اکسیژن‌های فعال به وجود می‌آید. این وضعیت ممکن است باعث آسیب سلولی شود (۳). گرچه همه دسته‌های ماکرومولکولی مستعد حمله رادیکالی هستند، اسیدهای چرب اشباع نشده به اکسیداسیون حساسترند، که به علت وجود ساختارهائی با پیوند دوگانه است. یک حمله رادیکالی به لیپیدها منجر به تشکیل هیدرو پراکسید می‌شود که به آلدئیدها و آلکن‌ها تجزیه می‌شود.مهم ترین آلدئید تولید شده **مالون دی آلدئید** (MDA) می‌باشد (٤). MDA از پراکسیداسیون لیپیدها تولید می‌شود و میزان تولید آن با شکست و تفکیک اسیدهای چرب غیراشباع متناسب است ازاینرو اندازه‌گیری MDA شاخص مناسبی برای لپید پراکسیداسیون می‌باشد. MDA یکی از آلدئیدهای ناشی از اکسیداسیون غشائی است (۵).

گلوتاتیون ، تیول غیر پروتئینی اصلی موجودات هوازی و فراوان‌ترین آنتی اکسیدان غیر آنزیمی داخل سلولی می باشد (٦). گلوتاتیون مولکولی است که در مقادیر میلی مولار در تعدادی از سلول‌ها یافت شده که می‌تواند با ROS بصورت مستقیم واکنش دهد. گلوتاتیون (GSH) کوفاکتور گلوتاتیون پراکسیداز (GSHPX) است و باعث احیای $2H_2O_2$ سمی و سایر پراکسیدها می‌شود. به این ترتیب گلوتاتیون احیاگر پراکسیدها و نهایتا نجات دهنده سلول است. بطوریکه سلول‌های پستانداران را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند (۷). گلوتاتیون نقش آنتی‌اکسیدانی دارد. مثال آنها احیاء وابسته به گلوتاتیون هیدروپراکسیدهای اسیدچرب و بسیاری از هیدروپراکسیدهای سنتتیک را انجام می‌دهند که از این خاصیت آنها برای سنجش فعالیت آنزیم در محیط آزمایشگاهی استفاده می‌شود. در این واکنش گروه پراکسید به یک الکل احیا می‌گردد (۲۵).

مطالعات نشان می‌دهد که کورکومین موجود در زردچوبه نسبت به ویتامین C,E دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی تری است(۸) و به دلیل مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد، به عنوان ماده‌ای با ویژگی آنتی اکسیدانی بالا شهرت دارد(۹). تاثیر مثبت زرد چوبه بر سیستم ایمنی بدن عامل اصلی در تحلیل پلاک بتا آمیلوئید است. عده‌ای دیگر تاثیر مثبت زردچوبه برغلظت کلسترول، آپولیپوپروتئین و پراکسیداز در خون را نیز در بهبود بیماری آلزایمر دخیل است. نتایج تحقیقات حاکی از خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و تنظیم سیستم ایمنی توسط زرد چوبه در بهبود متابولیسم و پیشگیری از روند آسیب سلولی در آلزایمر است (۱۰). بر اساس مطالعات و منابع موجود، تتراهیدروکورکومین، یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های کورکومین به عنوان جز فعال بیولوژیکی زردچوبه می‌باشد که وجود آن در سیتوزول سلول‌های روده‌ای و کبد انسان و موش صحرایی تشخیص داده شده است (۱۱).

تولید تنظیم نشده NO می تواند باعث ایجاد Nitrosative Stress شده و منجر به آسیب پروتئین ها ،DNA، آسیب و مرگ سلول شود. NO در بسیاری از بیماری‌های مهم درگیر می باشد. غلظت‌های Nitrite/Nitrate و یا Nitrite وNitrate کل به عنوان شاخص تولید NO در نظر گرفته می‌شود (۱۲). پراکسی نیتریت حاصل از دآمینه شدنDNA یک اکسیدان بسیار قوی در بافت مغز است که از لحاظ بازی حالت آنتی اکسیدانی بیسار کمی دارد(۱۳).

کاتپسین D یک پروتئازآسپارتیکی است. این پروتئاز جزو اندوپپتیدازهای آسپارتیل است که پیوند پپتیکی مابین زنجیره‌های پلی پپتیدی را هیدرولیز می‌کند (١٤). کاتپسین D نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر تجزیه پروتئین، تهیه آنتی‌ژن‌ها، بازجذب استخوان، فرایندهای هورمونی(۱۵) فعال

شدن فاکتورهای رشد و فعال سازی پیش‌سازهای آنزیمی تنظیم آپپتوز (١٦) دارد.

استرس اکسیداتیو باعث اختلال درعملکرد ترکیبات داخل سلولی نظیر لیزوزوم‌ها شده و می‌تواند تغییراتی را در انتشار کاتپسین D داخل سلولی ایجاد نماید. انباشتگی کاتپسین D در سیتوزول ممکن است منجر به عدم دژنراسیون پروتئین گردد. استرس اکسیداتیو باعث بی‌ثباتی لیزوزوم و انتقال کاتپسینD به سیتوزول می‌گردد. گرچه مکانیسم‌های عدم ثبات لیزوزومی، هسته‌ای است اما یکی از مکانیسم‌های دخیل استرس اکسیداتیو است که القا کننده پراکسیداسیون غشا لیزوزوم می‌باشد. میران قابل توجهی آهن در بخش-های لیزوزومی به علت تخریب متالوپروتئین‌هایی مثل سیتوکروم‌ها نگهداری می‌شوند. پروتئازهای لیزوزومی ممکن است که از راه نظیر افزایش نفوذپذیری غشا لیزوزومی که بواسطه آسیب اکسیداتیو ایجاد می‌شود، آزاد شوند (١٧).

سلول‌هایpost mitotic نظیر نورون‌ها، میوسیت‌های قلبی، فیبرهای ماهیچه‌های اسکلتی و سلول‌های اپی تلیالی شبکیه، پیگمان‌های زرد – قهوه ای را انباشته می‌کنند (١٨). ساختارهای تغییر شکل یافته شامل ماکرمولکول‌ها، میتوکندری‌های آسیب دیده، و موادی که تحت عنوان مواد بیولوژیکی هستند لیپوفوشین راتشکیل می‌دهد. این ماده Age Pigment (رنگدانه پیری) نیز خوانده می‌شود و علامت پیری است. (١٩). گرچه پراکسیداسیون تنها فاکتوری نیست که باعث تشکیل لیپوفوشین از مواد آتوفاگوسیته می شود، اما نقش آن در لیپوفوشینوز اساسی است (٢٠).

میتوکندری‌ها منبع اصلی تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌های پستانداران هستند. در ابتدا $O^{\cdot}_2$ با از دست دادن یک الکترون از زنجیره تنفسی تولید می‌شود. میتوکندری‌ها ارگانل‌هایی مستعد برای استرس اکسیداتیو هستند و زمانی که از نظر اکسیداتیوی دچار آسیب می‌گردند، تولید رادیکال در آنها افزایش می-یابد. آسیب اکسیداتیو ممکن است که تقسیم میتوکندری را مهار کرده ودر نتیجه باعث تولید میتوکندری های با سایز بزرگ (Enlarged/Giant) از طریق اضافه شدن پروتئین‌ها و لیپیدهای اضافی به داخل این ارگانل می‌گردد. چنین آسیب میتوکندریائی باعث افزایش تشکیل رادیکال آزاد شده و سیکل معیوب آغاز می گردد که با تخریب میتوکندری‌ها توسط هیدرولازهای لیزوزومی و آندوزومی انجام می‌گیرد. درون چنین آتوفاگوزوم هایی هیدرولازها قادرند که ساختارهای میتوکندریائی را تخریب نمایند. گاهی اوقات پروتئین‌ها با آنها پیوند یافته که باعث می‌شود آنها نسبت به هیدرولازها مقاوم شوند که علتش پراکسیداسیون لیپید است. چنین ساختارهای غیر قابل هضمی ممکن است جایگاه‌های شروع کننده رشد لیپوفوشین باشد که مواد را انباشته کرده و این حقیقت که میتوکندری حاوی میزان زیادی آهن می باشد که باعث اکسیداسیون پروتئین و پر اکسیداسیون لپید می‌گردد که برای زایش لیپوفوشین لازم است.لیپوفوشینوز نتیجه تداخل بین استرس اکسیداتیو و آتوفاگوسیتوزیس می باشد. تصور می‌شود مهم‌ترین وقایعی که منجر به تشکیل لیپوفوشین می شود، درون لیزوزوم های ثانویه رخ می دهد.تداخل بین پراکسید هیدروژن و آهن، یکی از مسیرهای عنوان شده برای رسیدن به فرایندهای پراکسیداسیون و تشکیل لیپوفوشین است (١٩).

مواد و و روش‌ها

در این مطالعه حیوانات مورد مطالعه ٤٨ سر رت نر نژاد ویستار با محدوده سنی یک ماه بودند در ٨ گروه ٦ تایی بصورت اتفاقی قرار گرفتند. قبل از اجرای تحقیق بدون هیچ محدودیتی آب و غذا در اختیارشان بود. رت‌ها در محیطی با دمای ٢٢–٢٤ درجه سانتی-

گراد در شرایط ۱۲ساعت تاریکی و روشنایی با رعایت کلیه قوانین حقوقی حیوانات در آزمایشگاه نگهداری شدند تا به شرایط آزمایشگاه عادت کنند. در طی دو هفته میزان متوسط غذای مصرفی هر رت تعیین و طبق گروه‌های زیر تقسیم‌بندی شدند:

گروه کنترل: هیچ استرسی به این گروه اعمال نشد و در تمامی زمان انجام تحقیق در تمام طول شبانه روز از غذای کافی برخوردار بودند و هم‌خانه ثابت داشتند. این گروه در کنار سایر گروه‌ها در یک اتاق قرار گرفتند(بدون اعمال هیچ‌گونه محدودیت غذایی).

کنترل زرد چوبه: هیچ استرسی به این گروه اعمال نشده و در تمام طول دوره برخوردار از غذای حاوی زردچوبه به اندازه کافی در تمام طول شبانه روز بودند (۲٪ خوراکی) (۱). و هم خانه ثابت دارند. این گروه در کنار سایر گروه‌ها در یک اتاق قرار گرفتند (بدون محدودیت غذایی و دریافت آنتی اکسیدان خوراکی).

محدودیت مشاهده تغییر هم خانه: برخوردار از یک سوم میانگین غذای مصرفی رت‌های گروه کنترل در طول ٢٤ ساعت و نگهداری آنها درهمان محیط نگهداری گروه‌های کنترل بطوریکه غذا خوردن دیگران را حس کردند .تعویض هم خانه‌ها هر دو روز یکبار.(محرومیت غذایی + مواجهه + تغییر در موقعیت اجتماعی)

محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زرد چوبه: در تمام طول دوره از یک سوم غذای حاوی زرد چوبه در تمام طول شبانه روز برخوردار بودند و هم خانه ثابت نداشتند. این گروه در در کنار سایر گروه‌ها در یک اتاق قرار گرفتند. تعویض هم خانه‌ها هر دو روز یکبار (دارای محدودیت غذایی +دریافت آنتی اکسیدان خوراکی زردچوبه+تغییر در موقعیت اجتماعی). حیوانات به مدت چهار ماه تحت این شرایط قرار گرفتند. اولین روز پس از اتمام دوره اعمال استرس حیوانات با اتر بی‌هوش شده و بافت مغز آنها خارج و سپس هموژن شد. بافت کلیه در بافر تریس (۵۰ میلی مولار)در pH=۸ و غلظت ۲۰ درصد هموژنیزه و در درجه حرارت ۷۰- درجه سانتی گراد تا زمان شروع سنجش‌های بیوشیمایی نگهداری شد. طبق دستورالعمل سنجش هر فاکتور، غلظت مورد نیاز هموژن تهیه گردید و میزان گلوتاتیون، مالون دی آلدئید(MDA)، لیپوفوشین و فعالیت آنزیم کاتپسین D در آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت مورد نیاز سنجش گلوتاتیون ۱۰٪ است و بااستفاده از هموزنات ۲۰٪با بافر تریس (0.2)حاوی 0.2مولار EDTA با pH= 8.2 تهیه شد سنجش باروش المان انجام شد (۲۲، ۲۳). از هموژنات ۲۰٪ با بافر تریس (۵۰میلی مولار) با pH=۸ هموژنات ۱۰٪ تهیه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی برای ارزیابی میزان کمی لیپوفوشین استفاده شد. سنجش به روش شن (shen) صورت گرفت. از هموژنات ۲۰٪ با بافر تریس (۵۰میلی مولار) با pH=۸ هموژنات ۱۰٪ تهیه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی برای ارزیابی میزان کمی لیپوفوشین استفاده شد. سنجش به روش شن (shen) صورت گرفت. (٢٤). برای سنجش کاتپسین D از کیت استفاده شد (CAT. No: ELL& ORA). اساس کار این کیت بر ارزیابی Surbunt ،تکنولوژی اتصال دو آنتی بادی بیوتین به کاتپسین D رت است. برای بررسی آماری نتایج از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۰)، تحلیل واریانس یکطرفه Anova یکطرفه و تست توکی استفاده شد. اختلاف معنی دار P≤0/05 به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد شد. میزان تولید NO از طریق تعیین غلظت های نهائی نیتریت و نیترات حدس زده می-شود. Colorometric Griess Assay یکی از بهترین روش‌های سنجش آن است.**NO**• می تواند با O^{2-} و

H_2O_2 وارد واکنش شده و اکسیدانی به مراتب قوی‌تر از عناصر سازنده اش یعنی NO_3^- تولید می‌کند (۲۶).

نتایج

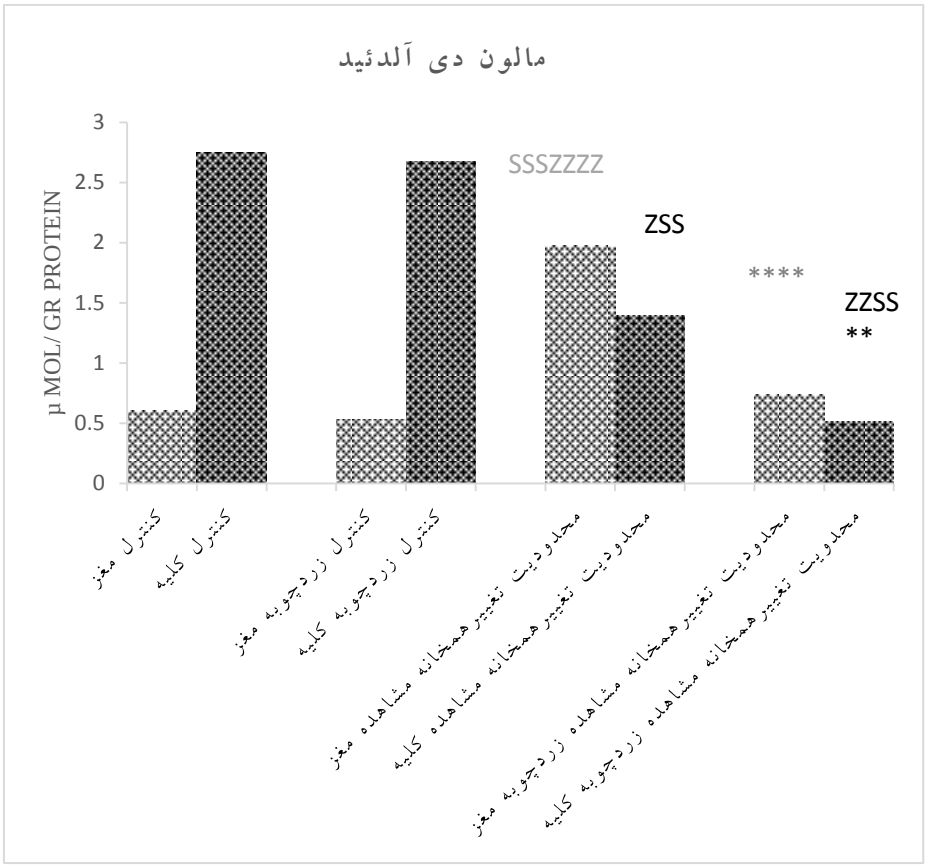
MDA در مغز رت‌های گروه محدودیت مشاهده تغییر همخانه نسبت به گروه کنترل، کنترل زرد چوبه، محدودیت مشاهده تغییر همخانه زردچوبه افزایش معنی‌دار($p=0.001$) را نشان می‌دهد (نمودار ۱). این کاهش معنی دار در مغز رت‌های گروه محدودیت تغییر هم خانه مشاهده هم دیده می شود. در بافت کلیوی میزان MDA در گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه بطور معنی‌داری کمتر از کنترل و کنترل زردچوبه می‌باشد. مقایسه گروه کنترل با محدودیت مشاهده تغییر هم خانه کاهش معنی‌دار ($P=0.002$) رادر گروه محدودیت مشاهده تغییر هم نشان می‌دهد. کاهش در مقایسه گروه مذکور با گروه کنترل زرد چوبه نیز معنی دار ($P=0.005$)است. میزان MDA در بافت کلیه میزان MDA درگروه محدودیت تغییر هم خانه زرد چوبه بطور معنی دار ($P=0.001$) نسبت به دو گروه کنترل و کنترل زردچوبه کاهش دارد. مقایسه میزان MDA در گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه زرد چوبه کاهش معنی داری($P=0.001$) را نسبت به گروه محدودیت تغییر هم خانه نشان می-دهد. یر معنی داری از نظر میزان گلوتاتیون مغزدر گروه‌های تحت استرس با وجود اعمال سه استرس با گروه کنترل مشاهده نمیشود. تغییر کاهش در گروه محدودیت تغییر هم خانه زردچوبه بطور معنی دار ($P=0.001$) در مقایسه با گروه کنترل و کنترل زرد چوبه نمایان می شود. کاهش میزان گلوتاتون کلیه درگروه محدودیت تغییر هم خانه مشاهده با گروه کنترل و کنترل زردچوبه با وجود القا سه استرس معنی دار نیست (نمودار ۲).

بررسی آماری نشان می‌دهد بین گروه‌ها از لحاظ میزان نیتریک اکساید تفاوت معنی داری در مغز مشاهده نمی‌شود. در سلول‌های کلیوی از نظر میزان Noمقایسه بین دو گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه و کنترل کاهش معنی دار ($P=۰.۰۳٦$) را در گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه نشان می‌دهد. کاهش میزان NO در گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه مشاهده ($P=۰.۰۰٤$) در مقایسه با کنترل زردچوبه می‌شود. مقایسه میانگین‌ها بیانگر کاهش معنی دار NO در گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه است (نمودار ۳).

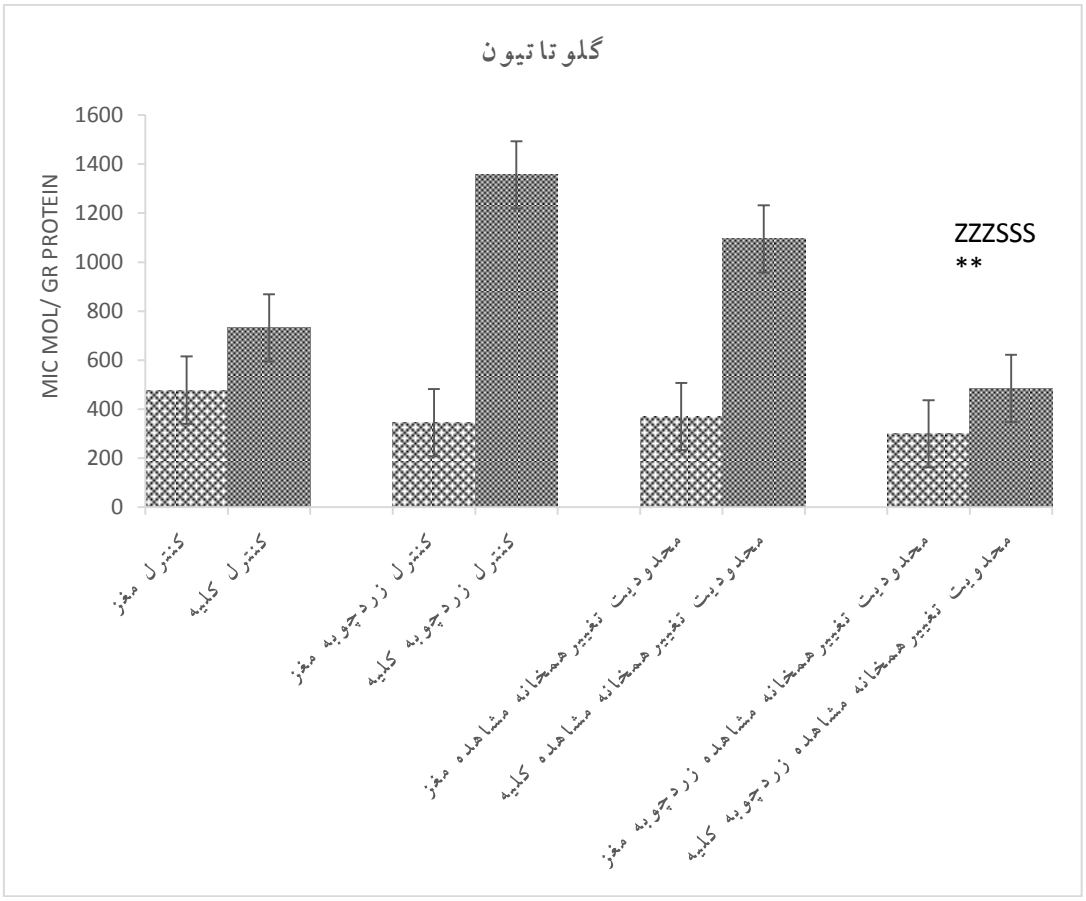
میانگین آنزیم NO در گروه تغییر هم خانه زردچوبه بطور معنی داری از گروه کنترل زردچوبه کمتر است. میزان NOدر گروه محدودیت تغییر هم خانه زردچوبه در مقایسه با گروه کنترل زردچوبه کاهش معنی دار ($P=۰.۰٤٦$) نشان می‌دهد.

اعمال استرس محدودیت غذایی (فقر) مشاهده (نابرابری غذایی و تبعیض) تغییر هم خانه (عدم ثبات وضعیت اجتماعی) تاثیر چندانی در ایجاد تغییر در روند میزان فعالیت کاتپسین D ایجاد نکرده است. مصرف آنتی اکسیدان زردچوبه نیز تا ثیر مثبتی بر افزایش فعالیت کاتپسین D نداشته است (نمودار ٤).

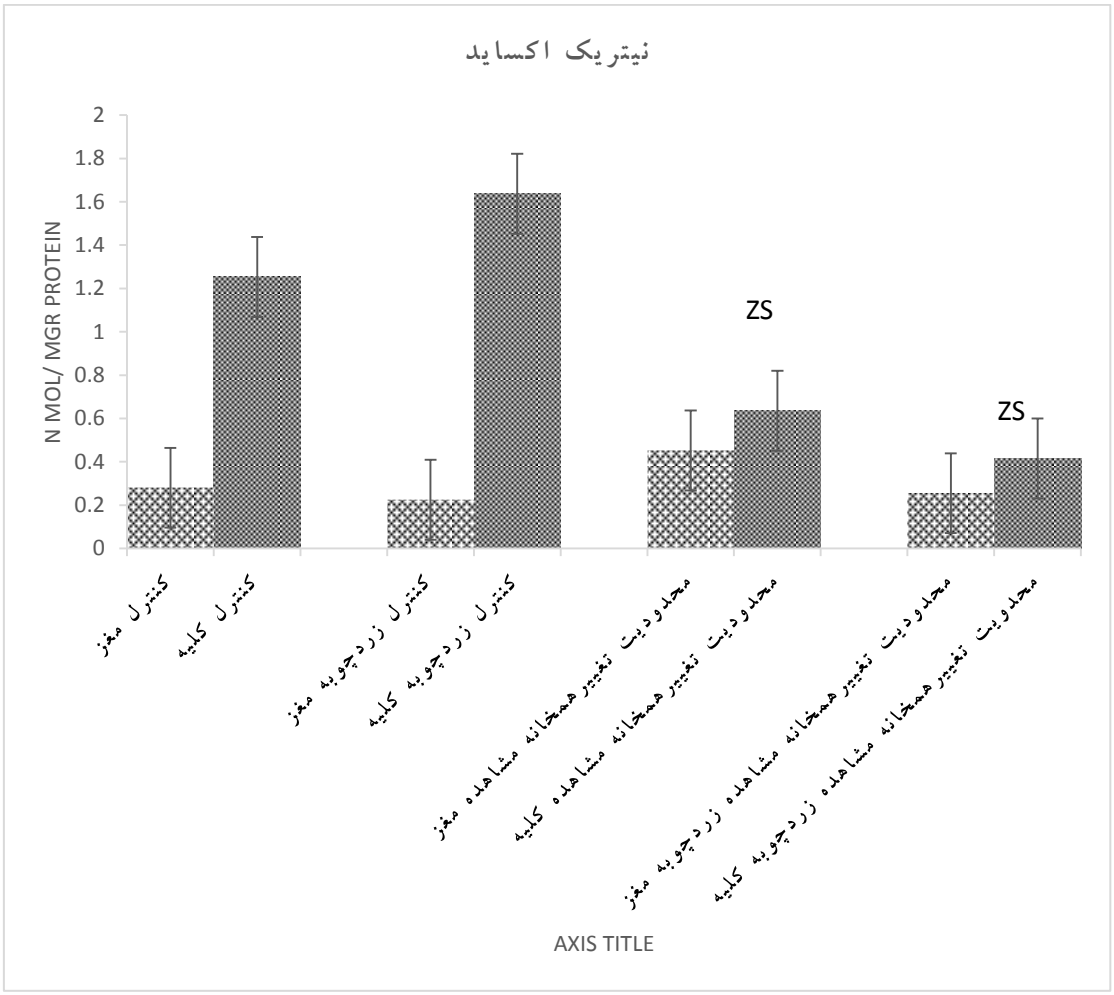
تغییر قابل ملاحظه‌ای در میزان تشکیل لیپوفوشین مغز و کلیه در رت‌هایی که تحت تاثیر استرس بودند ایجاد نشد. حتی مصرف زردچوبه هم در کاهش میزان رسوب لیپو فوشین چه در زمان اعمال استرس و چه در حالت معمول ایجاد نکرد (نمودار ۵).



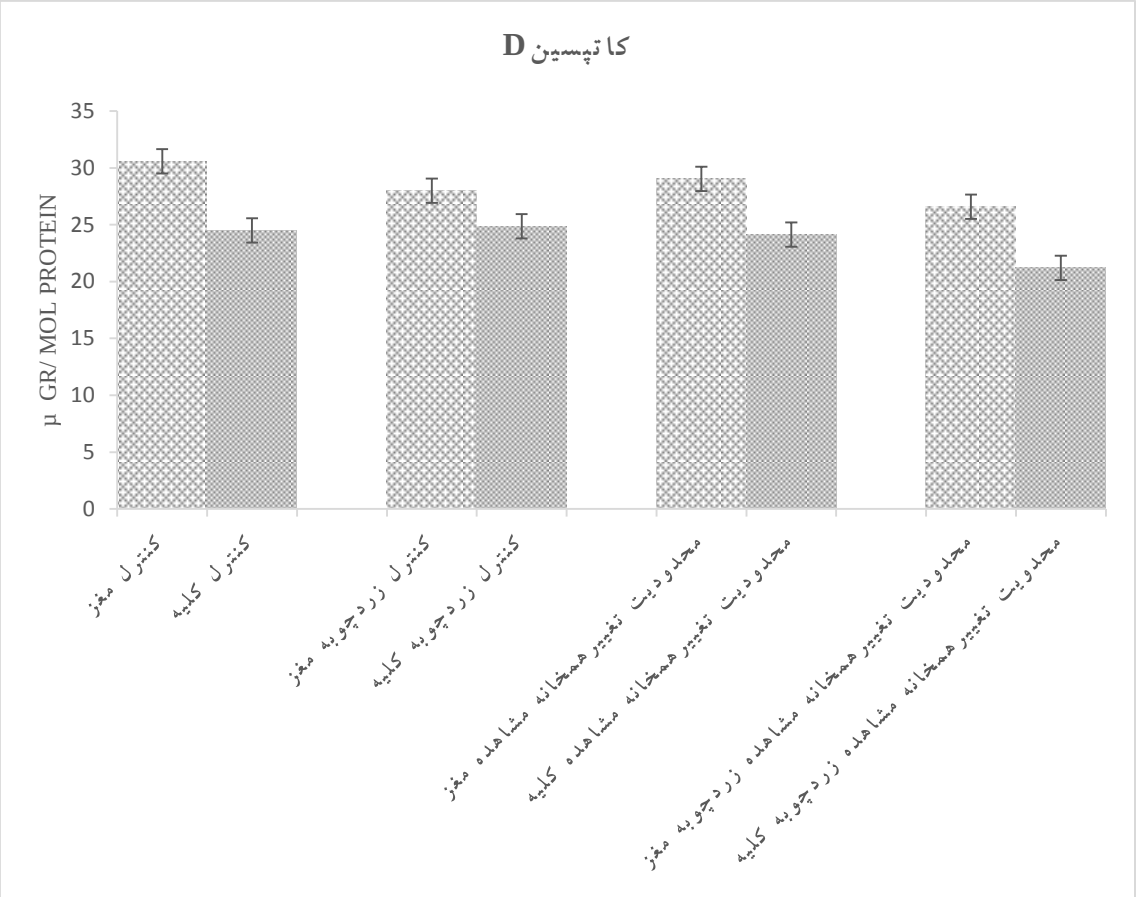
نمودار۱-مقایسه میزان MDA در مغز: گروه‌های کنترل (sem=0.0812،mean=0.6080)، کنترل زردچوبه (mean=0.5285، sem=0.0978)، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه (sem=0.78،mean=1.9746)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (sem=0.3207،mean=0.7382).SSS: تغییر معنی‌دار نسبت به کنترلP≤0.001،ZZZ: تغییر معنی دار نسبت به زردچوبهP≤0.001، ***:تغییر معنی دار نسبت به محدودیت مشاهده تغییر هم خانه. مقایسه میزان MDA در کلیه: گروه‌های کنترل (sem=0.2512،mean=2.6037)، کنترل زردچوبه (mean=2.676، sem=0.14)، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه (sem=0.38002.،mean=1.392)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (sem=0.1822، mean=0.5177).Z: تغییر معنی دار نسبت به کروه کنترل زردچوبهP≤0.05،ZZ: P≤0.01، SS: تغییر معنی دار نسبت به گروه کنترلP≤0.01.**: تغییر معنی دار نسبت به محدودیت تغییر هم خانه P≤0.01.



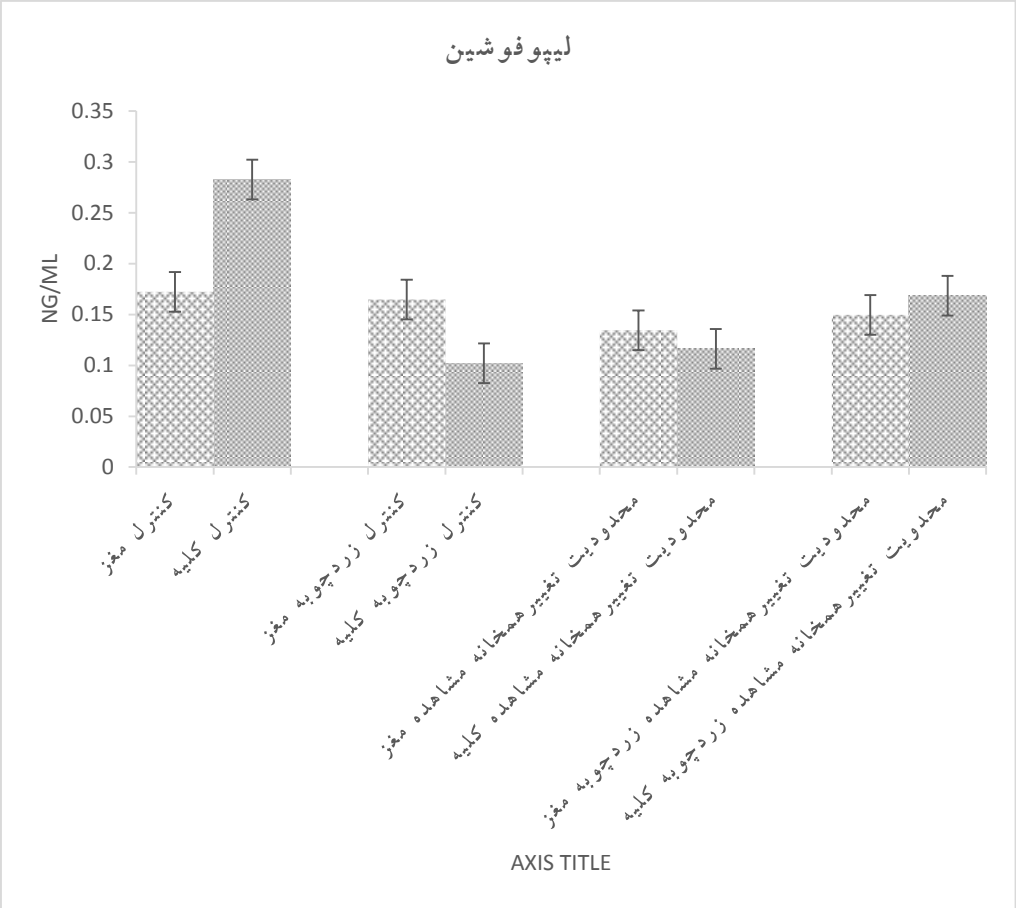
نمودار۲- مقایسه گلوتاتیون مغز در گروه‌های کنترل (mean=477.66،sem=66.38)،کنترل زردچوبه (mean=345.33، sem=27.361)، محدودیت مشاهده تغییرهمخانه (mean=370.16،sem=0.78)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (mean=299،sem=10.9025). با میزان گلوتاتیون کلیه در گروههای کنترل (mean=732،sem=68.7291 کنترل زردچوبه (mean=1013، sem=40.7541)، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه (mean=1095،sem=17.7132)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (mean=485،sem=17.02645).



نمودار۳- مقایسه میزان نیتریک اکساید مغز در گروه‌های: کنترل (sem = 0.0674، mean = 0.2803)، کنترل زردچوبه (sem= 0.02131 ،mean= 0.2248)، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه (sem = 0.04756، mean = 0.4526)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (sem=0.04756،mean=0.2552). با میزان نیتریک اکساید کلیه در گروه‌های کنترل (sem=02227،mean=1.2528)، کنترل زردچوبه (mean=1.6365، sem=0.2947)، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه (sem=0.1349،mean=0.6356)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (sem=0.1401،mean=0.415).Z: تغییر معنی دار نسبت به کنترل زردچوبه P≤0.005، S: تغییر معنی دار نسبت به کنترلP≤0.005.



نمودار٤- مقایسه میزان کاتپسین مغز در گروه‌های کنترل (sem=0.3035،mean=30.58)،کنترل زردچوبه (mean=27.99، sem=1.8142)، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه (sem=0.5198،mean=29.03)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (sem=2.8814،mean=26.58). با میزان کاتپسین D- کلیه در گروه‌های کنترل (sem=0.7066،mean=24.868)، کنترل زردچوبه (mean=0.24086، sem=0.7066)، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه (mean=24.1347، sem=1.0313)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (sem=2.8872،mean=21.2125).



نمودار ۵- مقایسه میزان لیپوفوشین مغز در گروه‌های کنترل (sem = 0.2783، mean = 0.1724)، کنترل زردچوبه (= mean 0.1648، sem = 0.010)، محدودیت مشاهده تغییر هم خانه (sem = 0.0038، mean = 0.1344)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (sem = 0.1345، mean = 0.1496). با میزان لیپوفوشین در گروه‌های کنترل (.mean = 0.2827، sem = 0.1273)، کنترل زردچوبه (mean=0.1020، sem=0.01228)، محدودیت مشاهده تغییر هم‌خانه (0.1163 = ean، sem = 0.00912)، محدودیت تغییر هم خانه مشاهده زردچوبه (sem = 0.0134، mean = 0.1686).

بحث

MDA در بافت مغز گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه بطور معنا داری بیشتر از بقیه گروه‌های تیماری است. مصرف غذایی زردچوبه به عنوان آنتی اکسیدان در گروه کنترل زردچوبه تاثیری در میزان کاهش MDA مغزنسبت به گروه کنترل نداشته است. از آنجا که گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه سه نوع استرس تغییر هم خانه (عدم ثبات)، مشاهده(نابرابری) و محدودیت (فقر غذایی) را بصورت همزمان متحمل شده است ظاهرا همراهی سه نوع استرس بطور همزمان میزان مغز MDA را افزایش داده است.MDA شاخص پر اکسیداسیون لیپید شناخته می شود. احتمالا همراهی این سه نوع استرس با هم منجر به پراکسیداسیون لیپید در مغز این رت‌ها شده است و در نتیجه غلظت MDA را افزایش داده است. استرس‌های اجتماعی محدودیت مشاهده تغییر هم خانه سلول‌های مغزی را به نسبت بیشتری در مقایسه با کلیه متاثر می کند. بطوریکه میزان MDA که محصول پراکسیداسیون لیپید است در

سلول‌های مغزی متاثر از این سه استرس بیشتر دیده می‌شود. تاثیر مصرف زردچوبه به عنوان آنتی اکسیدان در سلول‌های کلیوی کاملا مشهود است. در واقع مصرف زردچوبه منجر به کاهش سطحMDA و به عبارتی کاهش پراکسیداسیون لیپد شده است.

کاهش معنی دار در میزان مالون دی آلدئید در گروه محدودیت تغییر هم خانه زردچوبه در مقایسه با گروه محدودیت تغییر هم خانه مشاهده در بافت کلیوی نشانه موثر بودن آنتی اکسیدان زردچوبه در کاهش سطح اکسیدان‌های سلولی و در نتیجه کاهش معنی دار میزان پراکسیداسیون لیپد در کلیه است..

بر خلاف نتایجی که در مغز دیده شد در سلول‌های کلیه میزان MDA گروه محدودیت تغییر هم خانه مشاهده دچار کاهش معنی داری شده است. با وجود اینکه تحت سه استرس متفاوت محدودیت، مشاهده و تغییر هم خانه بوده‌اند اما نسبت به گروه کنترل سالین میزان MDA پایین‌تری دارد که این به معنی کاهش پراکسیداسیون لیپدی بافت کلیه در رت‌های این گروه باشد. گرچه انتظار میرفت که با اعمال این سه استرس سطح متابولیت ناشی از اکسیداسیون یعنی MDA افزایش یابد اما نتیجه کاملا متفاوت بود بطوریکه میزان اکسیداسیون لیپید در این گروه نسبت به سه گروه کنترل سالین و کنترل زردچوبه کم شده، که احتمالا به علت محدودیت غذایی (مصرف کم غذا= فقر) سطح استرس اکسیداتیو در سلول‌های کلیوی کاهش یافته بطوریکه تاثیر احتمالی دو استرس تغییر هم خانه (عدم ثبات) و مشاهده (نابرابری و تبعیض) را نشان نمی‌دهد.

میزان MDA در گروه محدودیت تغییر هم خانه زردچوبه کمتر از محدودیت تغییر هم خانه مشاهده است و این بدین معنی است که احتمالا به علت دریافت زردچوبه میزان MDA کاهش یافته است. شاید به دلیل دریافت آنتی اکسیدان زردچوبه سطح اکسیدان‌ها در حد محدودیت تغییر هم خانه مشاهده بالا نرفته است که باعث پراکسیداسیون لیپید و تولید بیشتر MDA گردد. مقایسه دو گروه محدودیت تغییر هم خانه زردچوبه و محدودیت تغییر هم خانه مشاهده نشان می‌دهد که شاید به علت مصرف آنتی اکسیدان زردچوبه در کنار محدودیت غذایی سطحMDA ناشی از استرس اکسیداتیو کاسته شده است. اعمال استرس تغییر هم خانه بطور جداگانه هم تایید می کند که عدم اعمال محدودیت غذاییدر این گروه، منجر به افزایش سطح MDA در گروه تغییر هم خانه می‌شود .این احتمالا به این معنی است که محدودیت غذایی در کاهش شدید استرس اکسیداتیو و نیزاکسیداسیون لیپید در بافت کلیوی موثر است بطوریکه تغییر هم خانه نمی‌تواند در صورت وجود محدودیت غذایی نقش خود را ایجاد MDA نشان دهد.

رادیکال‌های آزاد به لیپدهای زنجیره بلند غیر اشباع سلول حمله کرده و تشکیل MDA می‌دهند که یک دی آلدئید سه کربنه و محصول نهایی پر اکسیداسیون لیپید است. MDA مارکر خوبی از رادیکال‌های آزاد واسطه ی استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی است (۲۷و۲۸).

شاید بتوان عنوان کرد که نتایج کلی بر این مبناست که هر چه تعداد استرس‌های اعمال شده در مغز بیشتر باشد اکسیداسیون لیپیدی افزایش یافته ودر نهایت MDA هم افزایش یافته است. بیشترین میزان MDA مغز در گروه محدودیت تغییر همخانه مشاهده بود آنتی اکسیدان خوراکی زردچوبه سطح MDA مغز را در شرایط فقر، بی ثباتی و تبعیض کاهش داده است.

یافته‌های آماری این تحقیق نشان می‌دهد که مقایسه میانگین NO در بافت کلیوی گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه با گروه کنترل زردچوبه کاهش معنی داری را نشان می‌دهد. اعمال سه استرس همزمان

طبق انتظار میزان NO را باید افزایش می‌داد. این نشانه این است که احتمالا محدودیت غذایی نه نتها یک استرس و بر انگیزنده تولید NO در هر سلول نیست بلکه میزان تولید NO را کاهش می‌دهد. یعنی مصرف کم غذا تولید کم تر اکسیدان NO را به دنبال داشته است.

همچنین میانگین آنزیم NO درکلیه در گروه محدودیت تغییر هم خانه زرد چوبه و محدودیت تغییر هم خانه مشاهده بطور معناداری از گروه‌های کنترل و کنترل زردچوبه کمتر است. این کاهش هم می‌تواند بیانگر احتمالی این مطلب باشد که سه استرس فقر، عدم ثبات موقعیت اجتماعی و نابرابری و تبعیض نتوانسته است اثرات خود را بصورت افزایش سطح NO نشان دهد چون احتمالا محدودیت غذایی خود تواتنسته است سطح تولید NO را کاهش دهد بطوریکه استرس تغییر هم خانه و نابرابری غذایی نتوانسته است تاثیر گذاری محدودیت غذایی را بر کاهش استرس اکسیداتیو و تاثیرش را برکاهش تولید NOرا جبران نماید. بنابراین حتی مقایسه دو گروه متاثر از فقر، عدم ثبات و نابرابری چه در حضور یا عدم حضور زردچوبه با گروه کنترل زردچوبه کاهش معنی داری را نشان می‌دهد. احتمال دارد که اعمال محدودیت غذایی چنان سطح استرس را پایین آورده باشد که تولید NO را به اندازه‌ای کم می‌کند که حتی با سطح NO گروه کنترل زردچوبه هم قابل مقایسه است. در گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه میانگین آنزیم NO بطور معناداری از میانگین گروه تغییر هم خانه کمتر بود. با وجود اینکه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه از سه استرس(فقر، بی ثباتی و تبعیض) بطور همزمان متاثر است اما میزان NO در این گروه کمتر است. یعنی عامل تغییرهم خانه به تنهایی اثر بیشتری در القا استرس و تولید NO داشته است. پس احتمالا می‌توان گفت که عامل محدودیت غذایی باعث تقلیل استرس اکسیداتیو سلول شده تا حدی که اثر مشاهده یعنی درک حس نابرابری و تغییر هم خانه یعنی عدم ثبات را خنثی می‌کند. کاهش معنی دار در مقایسه دو گروه محدودیت مشاهده تغییر هم خانه زردچوبه با محدودیت تغییر هم خانه مشاهده بیانگر احتمالی این مطلب می تواند باشد خاصیت آنتی اکسیدانی زرد چوبه در حضور اعمال استرس بهتر از شرایط کنترل (کنترل زردچوبه) عمل می‌کند. اعمال استرس‌های سه گانه در مغز منجر به افزایش خیلی کم تولید NO شده است هر چند در مقابسه با گروه کنترل این افزایش معنی دار نمی‌باشد اما احتمالا حاکی از این است که فقر بر مغز تاثیر مثبتی بر کاهش تولید NO نداشته است.اثرات نوروتوکسیک ناشی از تیتریک اکساید علاوه برسیستم های دیگر در سیستم عصبی مرکزی حائز اهمیت است بطوریکه از طریق گیرنده‌های NMDA باعث سمیت عصبی می‌شود(۲۹) فعال شدن این گیرنده فعالیت ایزوفرم‌های eNOS را افزایش می‌دهد. نیتریک اکساید با گیرنده NMDA واکنش داده از ورود بیش از حد کلسیم به سیتوزول ممانعت می‌کند (۳۰). اما خود NO باعث ورود کلسیم به سیتوزول می گردد که اثرات سمی ایجاد می‌کند (۳۱). بنابراین برای NO در سیستم عصبی اثر حفاظتی و تخریبی ذکر میشود. بنابراین مطلب شاید بتوان عنوان کرد طبق نتایج تحقیق حاضر اثر NO در مغز اثر افزایشی و حفاظتی باشد.

نقش نوروتوکسیک NOتایید شده است(۳۲). NO با اختلال در فعالیت تنفس میتوکندریایی سنتز پمپ ATP_{ase} را غیرفعال کرده و نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شود (۳۳). یکی از تنظیم کننده‌های آپپتوز است. اثر آنتی آپپتوزی این ماده با قرار گرفتن سلول در معرض سطح پایینی از NO حاصل می‌شود(۳٤). مکانیسم‌هایی جهت نشان دادن توانایی حفاظتی NO در برابر مرگ سلولی ارائه شده است. یکی از طریق

مکانیسم وابسته به cGMP که منجر به فعال شدن کاسپازها و رها شدن سیتوکروم c می‌شود، جلوگیری می‌کند و دیگری مستقل از cGMP یعنی از طریق مهار شدن پراکسیداسیون لیپید و نهایتا جلوگیری از رها شدن سیتوکروم c انجام می‌شود (۳۵).

مصرف زردچوبه همزمان با اعمال استرس‌ها منجر به کاهش میزان NO شده است که احتمالا بیانگر وجود نقش باز هم مثبت زردچوبه در کاهش استرس اکسیداتیو تا حد کنترل می‌باشد هر چند این کاهش در بافت کلیوی بصورت معنی داری کمتر از گروه کنترل است. در واقع استرس‌های اجتماعی بافت مغز را بیش از کلیه متاثر کرده است و اما عملکرد زردچوبه تحت عنوان آنتی اکسیدان در کلیه کمک بیشتری به کاهش NO نسبت به مغز شده است.

مطالعه‌ای نشان داد که بین گروه کنترل و محدودیت غذایی مشاهده اختلاف معنی داری وجود دارد. محرومیت غذایی مشاهده باعث افزایش نسبی در میزان گلوتاتیون شد. بین گروه محرومیت غذایی مشاهده و محدودیت غذایی مشاهده اختلاف معنی داری دیده شد. بطوریکه میزان گلوتاتیون در گروه محرومیت غذایی و نابرابری بیشتر از گروه دیگر است این نتیجه احتمالی وجود دارد که احساس نابرابری غذایی(مشاهده) در صورت وجود محرومیت شدید از غذا تاثیر گذار است (۳۶) .

میزان گلوتاتیون در شرایط اعمال استرس محدودیت غذایی(فقر)، نابرابری غذایی (تبعیض)، و تغییر هم خانه (عدم ثبات وضعیت اجتماعی) در مغز بیشتر از کلیه است. این مطلب بیان می‌کند که احتمالا این سه نوع استرس اجتماعی بر میزان گلوتاتیون بافت کلیوی تاثیرکاهشی داشته است و مغز نسبت به اعمال این استرس‌ها مقاوم‌تر می‌باشد. این در حالیست که استفاده از آنتی اکسیدان خوراکی زرد چوبه در سلول-های کلیوی به افزایش سطح گلوتاتیون به عنوان شاخص آنتی اکسیدانی کمکی نکرده است. پس کلا زرد چوبه به عنوان آنتی اکسیدان خوراکی در بافت مغز وکلیه نقشی در بالا بردن سطح آنتی اکسیدانی گلوتاتیون ایفا نکرده است. پس در نتیجه احتمالا عملکرد آنتی اکسیدان زردچوبه در مغزوکلیه کاملا متفاوت با نتایج مورد انتظارست.

تولید بیش از حد رادیکال آزاد منجر به کاهش سطح گلوتاتیون احیا شده و یا افزایش سطح گلوتاتیون اکسید می شود. با توجه به این مطلب میزان گلوتاتیون اکسید به عنوان شاخص استرس اکسیداتیوو میزان گلوتاتیون احیا به عنوان شاخص ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول در نظر گرفته می‌شود(۳۷).

موش های نر ۲۰-۹ ماهه با محدودیت غذائی تولید رادیکال آزاد کبدی را مهار کرده و نیز باعث افزایش کاتالاز و گلوتاتیون ترانسفراز می‌شود. همچنین سیالت غشای میتوکندری در این گروه کمتر تخریب شده است (۳۵).

استفاده از پودر زرد چوبه در موش‌های صحرائی دیابتی شده باعث افزایش پروتئین تام سرم شد که می تواند ناشی از تاثیر کورکومین زردچوبه برکاهش تجزیه پروتئین ها به دلیل نقش آنتی اکسیدانی آن باشد (۳۸). زردچوبه فعالیت آنزیم‌های سوپراکساید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز را در سلول-های اندوتلیال عروق درمحیط کشت افزایش داد. گزارش شده است که خاصیت آنتی اکسیدانی زردچوبه سبب بهبود عملکرد کلیه و کبد در موش صحرایی مبتلا به دیابت می‌شود (۲۱).

طبق نتایج تحقیق حاضر میزان گلوتاتیون مغز هنگام اعمال استرس محدودیت تغییر هم خانه مشاهده در حضور و عدم حضور زردچوبه در سلول‌های مغزی بدون تغییر در مقایسه با کنترل و کنترل زرد چوبه باقی می‌ماند.

اعمال استرس‌های تعریف شده در این تحقیق منجر به کاهش رسوب لیپوفوشین در بافت کلیه شده هرچند که این کاهش معنی دار نمی‌باشد. اما در مغز هیچ تغییری ایجاد نمی کند. بطور کلی می‌توان گفت که اعمال استرس‌های متفاوت افزایش معنی داری در تجمع لیپوفوشین در بافت کلیه نشان نمی‌دهد.

بیشترین میزان تجمع لیپوفوشین در مغز رت‌هایی بود که از سه استرس محرومیت غذایی تغییر هم خانه و مشاهده بطور همزمان رنج می بردند(۳۹). در گروه محدودیت تغییر هم خانه مشاهده تجمع لیپوفوشین در بافت قلب به میزان بسیار زیاد و بیش از سایر گروه‌ها بود(٤٠). همچنین میزان آتروفی، اطمینان در احراز پیدایش لیپوفوشین در این گروه بود. نتیجه بررسی با میکروسکپ الکترونی وجود گرانول‌های لیپوفوشین را قابل مشاهده کرد(۱).

استرس تغییر هم خانه منجر به افزایش تجمع لیپوفوشین در قلب خرگوش شد (٤٠). استرس ناپایداری باعث ایجاد تغییرات پاتولوژیک در میوکارد خرگوش سفید سفید نیوزلندی بصورت افزایش تجمع لیپوفوشین در بافت قلب شد (٤١). فقر و بی عدالتی در دریافت غذا و نیز بی ثباتی اجتماعی منجر به افزایش شدت تشکیل لیپوفوشین و تسریع روند پیری در حیوانات تحت استرس مزمن اجتماعی می شود(۳۹). تجمع لیپوفوشین به دلیل ضایعات اکسیداتیو مداوم یا استرس احتمالا توسط حضور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های قلب تحت تاثیر قرار می‌گیرد به نحوی که کاهش فعالیت یا حضور مداوم آنزیم‌های ترمیمی اکسیداتیو بر روند ضایعات اکسیداتیو در پدیده Aging اثر دارد و تجمع گرانول-های لیپوفوشین را بدنبال می‌آورد (٤١).

مطالعات قبلی پیدایش گرانول لیپوفوشین در شرایط وجود محرومیت در دریافت مواد غذایی را نشان داده است. این موضوع در گروهی که تبعیض را احساس می‌کرد از گروهی که صرفا محرومیت غذایی داشته است بارزتر بوده و در هر دو گروه از گروه کنترل بیشتر بوده است (٤١). تحت شرایط استرس ایجاد شده شکل‌گیری گرانول‌های لیپوفوشین تسریع شده است به خصوص در شرایط فقدان ثبات اجتماعی ایجاد این گرانول‌ها حتی از فقر و محرومیت غذایی بیشتر بوده است(۱).

توجه به این نکته ضروری است که مطالعات قبلی میزان لیپوفوشین فقط بصورت کمی سنجش نشده بود بلکه در سطح بافت در زیر میکروسکپ الکترونی بررسی گردید.

این کاهش نسبی با افزایش نسبی کاتپسینD در همه گروه‌های مورد مطالعه هم خوانی دارد بطوریکه ثابت ماندن سطح کاتپسین Dدر مقایسه با گروه کنترل می-تواند بیانگر احتمالی این مطلب باشد که استرس‌های اعمال شده تغییر چندانی در میزان فعالیت کاتپسین D نداشته و میزان تولید لیپوفوشین هم با فعالیت کاتپسین D متناسب است.به عبارت دیگر استرس‌های تعریف در تحقیق کنونی نتوانسته تغییرات درون سلولی ناشی از بروز استرس اکسیداتیو را به سطح عدم عملکرد پروتئازهای لیزوزومی برساند گرچه سطح تولید MDA بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش دارد.

تجمع نورونی گرانولهای لیپوفوشین در شرایط استرس پایدار در سلولهای عصبی به وقوع می پیوندد. بنابراین لیپوفوشین می‌تواند مارکری برای ضایعات مداوم اکسیداتیو در نظر گرفته شود (٤٢). در بافت کلیه نیز مقایسه گروه‌ها تغییر معنی داری در میزان لیپوفوشین ایجاد نکرد .

طبق نتایج این تحقیق که میزان فعالیت کاتپسین D درمقایسه دو گروه کنترل و کنترل زردچوبه با وجود دریافت آنتی‌اکسیدان زردچوبه تغییر چندانی را نه در مغز و نه در کلیه نشان نمی‌دهد.

در این تحقیق عدم تغییر فعایت آنزیم هیدولازی کاتپسین و ثابت ماندن سطح لیپوفوشین بلیانگر این مطلب است که احتمالا اعمال استرس‌های اجتماعی اعمال شده در این تحقیق به راحتی نمی‌تواند سطح فعالیت کاتپسین را کاسته و منجر به افزایش تشکیل پیگمان‌های لیپوفوشینی بیشتری گردد. در واقع بر خلاف مطالعات قبلی فقر، تبعیض و بی ثباتی منجر به افزایش معنی دار کمی در بافت مغز و کلیه نشد که البته به علت فعالیت کاهش نیافته کاتپسین D نتیجه قابل توجیه است. در ضمن با اینکه سطح آنتی-اکسیدانی گلوتاتیون و NO در مغز نسبت به کلیه در شرایط حاکم در این تحقیق بالاتر است. تجمع لیپوفوشین در بافت کلیوی کمی بالاتر از مغز است بالاتر است هر چند این افزایش معنی دار نمی باشد. پس شاید با در نظر گرفتن همه این شرایط بتوان ادعا کرد که محدودیت غذایی (فقر)، تغییر هم خانه(عدم ثبات وضعیت اجتماعی) و مشاهده (تبعیض و نابرابری) قادر نیست همه عوامل اکسیدانی را افزایش و همه فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی را کاهش دهد. این بدین معنی است که همه استرس‌های اجتماعی در یک سطح نمی‌توانند منجر به القائ همه جانبه استرس اکسیداتیو، تغییر سطح اکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها گردد. با در نظر گرفتن این مطلب که حتی تغییرات ناشی از القائ استرس اکسیداتیو در دو بافت مغز و کلیه بصورت یکسان رخ نمی‌دهد. بافت کلیه در شرایط اعمال استرس گلوتاتیون بیشتری دارند.

تشکر و قدردانی

از همه اساتید گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد و کارشناس محترم آزمایشگاه که امکان اجرای این تحقیق را فراهم کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1.Vaez Mahdavi M.R., Mojarab S.H., Tarihi T., Roghani M., Faghihzadeh S., Hashempour-Ezati M., 2010. The effect of food deprivation, social statusand inequality on myocardial cell of aging in male rabbits. *Daneshvar Medicine Journal*, 17(86): 11-18.

2. Kaplan J.R., Manuck S.B., Lusso F.M., Taub D.M., 1982. Social status, environment and atherosclerosis in cynomolgus Monkey. *Arteriosclerosis*, 2(5): 359-682.

3. Ahmad R., Tripathi K., Tripathi P., Singh S., Singh R, Siingh, R.K., 2008. Malondialdehyde and protein carbonyl as biomarkers for oxidative stress and disease progression in patients with chronic myeloid leukemia.*Invivo, International Society for the Study of Comparative Oncology*, 22(4): 525-258.

4.Halliwell B., Gutteridge J.M.C., (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd Edition, Oxford University Press, 1-25.

5.Sivonova M., Tatarkova z., Duurackova Z., 2007. Relationship between antioxidant potential and oxidative damage to lipids, proteins and DNA in aged rats, *Physiological Research*, (6): 757-764.

6.Drigen R., 2000. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology*, 62: 649-671.

7. Kazemi M., Marandi S.M., Movahedian Attar A., Mohammadian H., Sharifi Jebeli HR., 2018. Action of L- Arginin on oxidative - nitrosative stress induced by acute exercise in liverof rats. *Medical Journal of Tabriz University oF Medicl Science*, 40(2): 65-71.

8.Radha K., Maheshwari A.K., Jaya S., 2006. Multiple biological activities of curcumin. A short review. *Life Science*, 78(18): 2081-2087.

9.Manikandan P., Sumitra M., Aishvarya S., Manohar B.M., 2004. Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischemia in rats. *International Journal* of *Biochemistry* & *Cell Biology*, 36 (10): 1967-80.

10.Hung M., Lysz T., Ferraro T., Abidi T.T.F., Laskin J.D., conney A.H., 1991. Inhibitory effects of curcumin on in vitro lipoxy genase and cyclooxygenase activities in mouse epidermis. *Cancer Reserch*, 51(3): 813-819.

11.Natio M., Wu X., Normura H., Kodama M., 2002. The protective effect of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol – fed rabbits . *Journal of Atherosclerosis* and *Thrombosis*, 9(5): 243-250.

12.Sun J., Zhang X., Broderick M., Fein H., 2003. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. *Sensors*, *3*(8): 276-284.

13.Encinas J.M., Manganas L., Enrkolopov G., 2005. Nitric oxide and multiple scelerosis. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 5(3): 232-23.

14.Minarowaska A., Miarowski L., 2007. Regulatory role of cath D in apoptosis. *ET Cytobiol*, 45(3): 159-163.

15.Zhang L., Sheng R., Qin Z., 2009. The lysosome and neurodegeneration diseases. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 41(6):437-45.

16.Benes P., Netvicka V., Fusek M., 2008. Cathepsin D-Mny functions of one aspartic protease. *Critical Reviews* in *Oncology*/*Hematology*, 68(1): 12-28.

17.Kagedal K., Johnsson U., Ollinger K., 2001. The lysosomal proteas cathepsin D mediates induced by oxidative stress. *FASEB J*, 15(9): 1592-4.

18.Jung T., Hohn A., Grune T., 2010. Methods in molecular biology: Lipofuscin detection and quantificcatin by microscope techniques. *Springer Protocol*, 173-193.

19.Terman A., Brunk U.T., 1998. Lipofuscin: Mechanisms of formation and increase with age. Acta pathologica, microbiologica, immunologica Scandinavica (APMIS), 106(2):265-76.

20.Almorth B., Struve J., Berglund A., 2005. Oxidative damage in fish used as biomarker in field and laboratory studies. *Aquatic Toxicology*, 73(2):171-80.

21.Ayoubi A., Valizadeh R., Omidi A., Abolfazli M., 2014. Evaluation of Turmeric (Curcuma longa) effects in preventing consequences of lead acetate in male rats. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 21(1): 68-76. (In Persian).

22.Levay EA., Govic A., Penman J., Paolini AG., Kent S., 2007. Effect of adult – onset caloric restriction on anxiety – like behavior in rats. Phsiology and Behavior, 92(5): 889-96.

23.Owen J.B, Buttertfield D.A., 2010. Meaesurment of oxidized/reduced glutation ratio. *Methods in Molecular Biology*, 648: 269-77.

24.Brunk UT., Eur J., 2002. Biochem. The mitochondrial lysysom axis theory of aging accumulation of damage mitochondria as a result of imperfect autophagosytosis, 269(8): 1996-2002.

25.Zeraatpishe A., Oryan SH., Bagheri MH., Pilevarian AA., Malekirad AA., Baeeri M., Abdollahi M., (2011). Theeffect of Melissa officinalisl. (Lemonbalm) infusion on enzymatic antioxidants activity in radiology staff . *Toxicology and industrialhealth*, 27(3): 205-212.

26.Malekirad A.A., Oryan S., Fani A., Babapour V., 2010. Study on clinical and biochemical toxicity biomarkers in zinc – lead mine workers. *Toxiocology Industrial Health*, 26(6): 331-337.

27.Oparinde DP., Salawu AA, Atiba AS, Duduyemi BM., 2013.Significance of body weight measurement along with malondialdehyde :Review of published research articles. *Key Research Journal of Biotechnology*, 1(1):1-3.

28.Kasperska Z.A., Brzoza Z., Rogala B., Polaniak R., Brikner E., 2006. Antioxidant enzyme activity and malondialdehyde

36. Rezaei S., Vaez Mahdavi M.H., Noorbala A.A., Roghani M., Faghih Zadeh S., Effect of food restriction, food deprivation and food inequality on anxiety-like behavior in rats. *Daneshvar Medicine Journal*, 21(112): 35-45. (In Persian).

37.Lu S.C., 2009. Regulation syntethesis. *Moleular Aspect of Medicine*, 30(1-2): 42-59.

38.Valipour1 A., Valipour M., A review of Curcumin and its role in disease prevention and treatment *Clinical Excellence*, 6(1): 35-54. (In Persian).

39.Mahdidoost S., Vaeez Mahdavi M.R., Kabvdanian Ardestani S., Sedaghat R., Jalilvand M., Khalili M., 2012. The effect of stress due to food deprivation social inequality and instability and quantityive lipofuscin in brain. *Iranian Society of Physiology and Pharmacology*, 16(4): 350-359.

40.Mojarab S.H., 2010.Effect of food inequality and unstable socialstatus on myocardial cell of male rabbits. *Daneshvar Medicine*, 17(86): 1-10. (In Persian).

41.Heydari F., Vaeez Mahdavi M.R., Minaei B., Roghani M, Fallah N., Heydary R., Gharebaghi K., 2008. Food inequality negatively impacts on cardiac health in rabbits. *Plos one*, 3(11): 370-375.

42.Vaez Mahdavi M.R., Roghani M., Khalili M., Dalir R., 2009. The effect of food restriction on learning and memory of male wister rat. *Behavorial analysis Basic and Clinical Nature Scienc*,1(2): 20-23.

concentration in the plasma and erythrocytes of patient with urticarial induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 18(5): 327-375.

29.Bian K., Dourosout M.F., Murad F., 2008. Vascular system: Role of nitric oxide in cardiovascular disease. *Journal of clinical hypertension (Greenwich)*, 10(4): 304- 310.

30.Girouard H., Wang G., Gallo E.F., 2009. NMDA receptor activation increase free radicalsproduction through nitric oxide and NOX_2. The journal of neuroscience. *The Official Journal of The Society for Neuroscience*, 29(8): 2545-52.

31.Calabrese V., Mancuso C., Calvai M., Rizzarelli E., Butterfield A.D., Stella A.M., 2007. Nitric oxide in central Nervous syetem. Nature reviews, *Neuroscience*, 8(10): 766-75.

32.Rodrigo J., Femandez A.D., Alosso D., Serrano J., Femandez–vizarra P., Martinez – Murrillo K., 2004. Nitric oxide in the rat cerebellum after hypoxia / ischemia. *Cerebellum* (London, England), 3(4): 194-203.

33.Nath N., Morinanga O., Singh I., 2010. S-nitrosoglutathione a physiologic nitric oxide carrier attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 5(2): 240-251.

34.Nishikawa M., Sato E.F., Kuroki T., Utsumi K., 1998. Inue apoptosis of rat hepatoma ceu invivo. *Hepatology*, 28(6): 1474-1480.

35.Kim Y.M., Chang H.T., kim S.S., Han J.A., Yoo Y.M., Kim K.M., 1999. Nitric oxide protects PCL2 cells from serum deprivation – induced apptosis by cGMP – dependent inhibition of caspase signaling.The journal of neuroscience. *The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(16): 6740-6747.