فصلنامه علمی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۶۳، دوره ۱۶، شماره ۳، تابستان۱۴۰۲، صفحه ۱ تا ۱۸
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مستور خوابیده (*Eclipta prostrata*) بر فعالیت حرکتی، حافظه اجتنابی و استرس اکسیداتیو در مدل حیوانی بیماری پارکینسون در موش‌های صحرایی نر بالغ

شهربانو عالمی رستمی [۱] ، مریم رفیعی راد [۲]

۱.استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، مرکز گمیشان، واحد گرگان، گرگان، ایران . نویسنده مسئول : sh_alemi_r@yahoo.com

۲. دانشیار گروه زیست شناسی، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، ایذه، ایران

تاریخ دریافت:۱۴۰۲/۰۱/۱۵ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰**

چکیده

زمینه و هدف: بیماری پارکینسون با اختلال حرکتی و شناختی همراه است لذا تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه *Eclipta prostrata* را بر یادگیری، حافظه، فعالیت حرکتی واسترس اکسیداتیو در مدل پارکینسون بررسی کردیم.

مواد و روش ها: تعداد۵۰ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار به پنج گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه پارکینسونی و سه گروه تحت تیمار با عصاره اکلیپتا پرستراتا در سه غلظت مختلف ۵۰ و ۱۰۰و۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم. القای مدل پارکینسون با تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) انجام شد.. یک روز بعد از آخرین گاواژ، تست های حرکتی انجام شد. از تست شاتل باکس برای ارزیابی یادگیری و حافظه اجتنابی استفاده شد. استرس اکسیداتیوتوسط مالون دی‌آلدئید، گلوتاتیون پراکسیداز و میزان تیول مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: ۷ روز بعد از ضایعه درMFB، موشها متعاقب تجویز آپومورفین در جهت راست به میزان بیش از۱۰دور در هر دقیقه، چرخش۳۶۰درجه داشتند. در تست های حرکتی گروه پارکینسونی، حفظ تعادل در روتارود($p<0.001$)، کاتالپسی ($001/0>p$)، سفتی عضلانی($p<0.001$)،طول قدم($p<0.001$)و حافظه اجتنابی ($p<0.001$)نسبت به گروه کنترل، اختلاف معنی داری را نشان داد. همچنین عصاره *Eclipta prostrata* به طور معنی داری باعث بهبود انواع اختلالات حرکتی ناشی از بیماری پارکینسون شد و در دوز۵۰ و۱۰۰و ۲۰۰سبب بهبودحافظه در موش های پارکینسونی گردید ($p<0.001$)همچنین، عصاره به طور معنی داری سبب افزایش میزان تیول ($p<0.001$) و گلوتاتیون پراکسیداز ($p<0.001$) و کاهش MDA در بافت هیپوکامپ و استریاتوم ($p<0.001$) شد.

نتیجه گیری: به طور کلی، ما نشان دادیم که عصاره هیدروالکلی گیاه *Eclipta prostrata* تجویز شده در مدل حیوانی پارکینسون اثر مطلوبی بر حافظه، یادگیری، فعالیت حرکتی و استرس اکسیداتیو مغز دارد.

کلمات کلیدی: عصاره هیدرو الکلی *Eclipta prostrata* ، بیماری پارکینسون، فعالیت حرکتی، حافظه اجتنابی، استرس اکسیداتیو

مقدمه

بیماری پارکینسون یک بیماری آسیب عصبی پیشرونده است که به عنوان دومین بیماری شایع نورودژنراتیو بعد از آلزایمر در جهان شناخته شده است. مشخصه نوروپاتولوژی این بیماری تخریب نورون های دوپامینرژیک موجود در بخش متراکم جسم سیاه مغز میانی(SNc) و در نتیجه کاهش دوپامین اجسام مخطط است (۱). یکی از علایم غیر حرکتی که در مراحل پیشرفته این بیماری دیده می شود، کاهش عملکردهای شناختی است (۲-۳). بیماری زایی بیماری پارکینسون مشخص نیست ، اما آسیب نورون های دوپامینرژیک ناشی از افزایش رادیکال های آزاد یکی از مکانیسم های مهم شناخته شده می باشد ، بیماران معمولا مجموعه ای از آسیب های حرکتی شامل کندی حرکات ، لرزش و سفتی عضلانی ، ناتوانی در حفظ تعادل و راه رفتن و آسیب های غیرحرکتی مانند نقص در بویایی ، حافظه و گوارش را نشان می دهند (۴). در خصوص مکانیسم های پاتولوژیک و علت مرگ نورونی سلول های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه در این بیماری فرضیات متعددی شامل نقص در کمپلکس ۱ میتوکندریایی مربوط به زنجیره انتقال الکترون ، تجمع آهن ، اختلال عملکرد سیتوکروم کبدی p450و افزایش تشکیل رادیکال های آزاد مطرح می باشد. شواهد زیادی برای این موضوع وجود دارد که استرس اکسیداتیو به دنبال تشکیل بیش از حد رادیکال های آزاد نقش مهمی در تحلیل رفتن و مرگ نورونی در این بیماری دارد. براین اساس فرضیه استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین میزان عوامل پیش برنده اکسیداسیون و میزان عوامل آنتی اکسیدان برقرار می شود که منجر به تشدید پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن می گردد و سیستم دفاع آنتی اکسیدان نظیر سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز تضعیف می گردد(۵). گیاه مستور خوابیده (*Eclipta prostrata*) که در زبان تایلندی به عنوان "مربوط به کاذب" یا "ka-meng" نیز شناخته می‌شود، گیاهی از خانواده Asteraceae است. به طور گسترده در سراسر چین، هند و تایلند توزیع شده است. از دیرباز به عنوان یک داروی سنتی برای درمان های بهداشتی در برابر تصلب شرایین، دیابت شیرین و اختلالات کبدی استفاده می شود (۸-۶) ظرفیت های دارویی متنوعی از جمله آنتی اکسیدان، ضد التهاب، کاهش چربی خون، کاهش قند خون، ضد درد، ضد باکتری، ضد قارچ و ضد ویروس را نشان می دهد(۹). ترکیبات فیتوشیمیایی *E. prostrata* عمدتاً از آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، کومستان ها، تری ترپن ها، فلاونوئیدها و استرول ها تشکیل شده است (۱۰). فلاونوئیدها در این گیاه به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی عمل می کنند (۱۱). مطالعات قبلی نشان داد که یک بخش بوتانول از کل گیاه می تواند سطح استیل کولین را افزایش دهد و استرس اکسیداتیو را در مغز و سرم موش ها کاهش دهد، که استفاده از آن را برای جلوگیری از اختلال حافظه پیشنهاد می کند (۱۲). عصاره هیدروالکلی به دست آمده از اندام های هوایی به طور قابل توجهی ایسکمی را بهبود می بخشد. گزارش شده است که *E. prostrata* دارای محافظت کننده عصبی است (۱۳). مطالعات نشان داده *Eclipta prostrata (Linn)* تشکیل استیل کولین مغز را افزایش می دهد و استرس اکسیداتیو در مغز و سرم موش های سزارین شده را کاهش می دهد. ممکن است اثر حفاظتی *E. prostrata* در برابر این بیماری بدلیل خاصیت آنتی اکسیدانی آن باشد (۱۲). لذا با توجه به تاثیر مثبت اکلیپتا پرستراتا بر حافظه بخصوص در مدل های حیوانی پارکینسون.

هدف از این مطالعه بررسی اثر تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه مستور خوابیده (*Eclipta prostrata*) بر فعالیت حرکتی، حافظه اجتنابی و استرس اکسیداتیو موش های مدل پارکینسونی- ۶-هیدروکسی دوپامین شده می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، از ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (در محدوده وزنی۲۵۰-۲۰۰ گرم)، تهیه‌شده از دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز استفاده گردید. موش‌ها در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و دمای22±21درجه) و با دسترسی آزاد به آب و غذای کافی، درون قفس‌های انفرادی نگهداری شدند و روش کار این تحقیق با شناسه اخلاق IR.IAU.D.REC.1401.039مصوب گردید و حیوانات به‌صورت تصادفی به پنج گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

۱-گروه کنترل: به موش‌ها این گروه هیچ‌گونه ضایعه‌ای وارد نشد.

۲-گروه پارکینسونی‌شده (PD) :حیوانات این گروه نرمال‌سالین را به میزان ۲ میکرولیتر (حاوی ۸ میکروگرم نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین) در ناحیه MFB دریافت کردند.

۳- سه گروه پارکینسونی درمان‌شده: این گروه همانند گروه پارکینسونی بوده و بعد از طی ۷ روز دوره نقاهت، عصاره اکلیپتا پرستراتا (بصورت پودر قهوه ای (indiamart) خریداری شده از شرکت رادین زیست یاخته) را (به میزان ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) هرروز یک‌بار به مدت ۱۴روز به‌صورت گاواژ دریافت کردند و در روز پانزدهم تست‌های رفتاری انجام شد(۱۳). چهارده روز پس از تیمار، تست‌های حفظ تعادل در روتارود، مدت زمان نگهداشتن دست‌ها روی میله افقی (کاتالپسی)، سفتی عضلانی، طول قدم و حافظه اجتنابی صورت گرفت . همچنین استرس اکسیداتیوتوسط بیومارکر مالون دی‌آلدئید (MDA) ، گلوتاتیون پراکسیداز و میزان تیول با روش تیوباربیتوریک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت.

ابتدا حیوانات وزن شدند، سپس با تزریق داخل صفاقی کتامین هیدروکلراید (دوز ۹۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (دوز ۱۰میلی‌گرم برکیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. در ادامه، موش‌ها در دستگاه استرئوتکس قرار گرفتند و به‌وسیله قطعه دهانی و میله‌های داخل گوشی بر روی دستگاه ثابت مانده و موهای ناحیه پشتی جمجمه آن‌ها تراشیده شد، سپس به‌وسیله پنبه الکلی، پوست سر حیوان ضدعفونی و یک برش طولی از میان سطح پشتی سر بین دو چشم تا فاصله نقطه سطح پشتی میانی گوش‌ها ایجاد گردید .بافت‌های پیوندی روی سطح جمجمه زدوده شدند و نقطه برگما نمایان گردید. نقطه برگما و لامبدا در یک سطح برابر قرار گرفتند و نشانگر دستگاه بر روی آن‌ها تنظیم گردید، سپس با توجه به مختصات استخراج‌شده از اطلس جراحی مغز، مختصات(MFB) قدامی خلفی=۴/۶، میانی جانبی=۱/۶ و پشتی شکمی= ۸/۲ -میلی‌متر) مشخص گردید. در این مطالعه برای ایجاد مدل حیوانی بیماری پارکینسون، از تزریق یک‌طرفه ۶- هیدروکسی دوپامین در دسته قدامی - میانی مغز استفاده شد و ۶- هیدروکسی دوپامین (شرکت سیگما امریکا) نیز با غلظت ۸ میکروگرم در ۲ میکرولیتر نرمال‌سالین (دارای ۰/۰۱٪اسید اسکوربیک) تهیه گردید(۱۴).

اپومورفین (شرکت سیگما، ساخت امریکا) در نرمال‌سالین ۰/۰۱ %اسید اسکوربیک حل شد. این دارو با توجه به وزن

حیوان با دوز ۰/۰۵ میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم وزن بدن به‌صورت زیرجلدی تزریق شد (آپومورفین برای تأیید پارکینسونی‌شدن حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد)، ۱۰-۵ دقیقه پس از تزریق آپومورفین، به مدت ۱۵ دقیقه تعداد چرخش‌های حیوان در سمت آسیب‌ندیده شمارش و ثبت گردید(۱۵). در ادامه، ۲ دست حیوان روی میله‌ای به ارتفاع ۹ سانتی‌متر قرار گرفت و درحالی‌که پاهای آن روی کف جعبه چوبی قرار داشت، مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان دست‌هایش را بردارد، یاداشت شد(۱۶).

تست روتارود با هدف اندازه‌گیری میزان تعادل حرکتی و هماهنگی در حرکت (Motor Performance and Coordination) انجام می‌شود؛ به‌همین منظور حیوانات روی میله دستگاه روتارود (Rotarod) که سرعت حرکت آن متغیر است، قرار داده شدند، (سرعت اولیه چرخش میله ۵ دور در دقیقه بود.)، سپس سرعت چرخش میله در طی مدت ۳۰۰ ثانیه (۵ دقیقه (به‌تدریج تا ۴۰ دور در دقیقه افزایش یافت (حیوانات قبلاً برای انجام این تست آشنایی پیدا می‌کنند.) آموزش شامل: ۳ جلسه در ۳ روز متوالی (روزی یک‌جلسه) و هر جلسه شامل ۲ بار تست جداگانه بود. فاصله بین ۲ بار تست در هر روز ۶۰-۴۵ دقیقه و زمان تحمل‌شده روی میله چرخان دستگاه روتارود (با سرعت های افزایش یابنده) برحسب ثانیه، ثبت و در گروه‌های مختلف مقایسه گردید (۱۵-۱۷).

این دستگاه متشکل از یک جعبه چوبی تاریک با درب کشویی (با ابعاد 10*17*20سانتی‌متر) بوده که تونل باریکی با ابعاد ۴۵*۱۰*۴/۵ سانتی‌متر به آن متصل می‌شود، انتهای تونل باز و مرز بین بخش مربعی و تونل نیز به‌وسیله یک تیغه گیوتینی از هم جدا می‌شود. در انتهای باز تونل، یک جعبه مربعی پلاستیکی که کف آن جوهری است قرار گرفته و کف تونل با یک کاغذ سفید نواری به پهنای سه‌چهارم سانتی‌متر فرش شده است. درادامه، کف انگشتان اندام‌های حرکتی موش به شکلی که دم آن با دست بالا باشد در جعبه جوهری قرار داده شد، سپس حیوان به سمت تونل هدایت و به محض وارد شدن به جعبه تاریک، تیغه گیوتینی رها و حیوان به‌منظور ممانعت از برگشت و راه رفتن روی کاغذ، درون کف تونل (درون جعبه تیره) محبوس شد تا برنگردد. سپس نوار کاغذی از کف تونل برداشته شد تا اثر انگشتان موش خشک شود؛ به این ترتیب طول قدم‌ها روی کاغذ ثبت گردید. قابل‌ذکر است قبل از تست، حیوان با جعبه آشنا شد(۱۸).

در مرحله بعد، دست راست حیوان روی سکویی به ارتفاع ۳ سانتی‌متر قرار داده شد و چنانچه موش حداقل به مدت ۱۰ ثانیه دست خود را از روی سکو برنمی‌داشت، ۰/۵ نمره می‌گرفت. سپس دست چپ حیوان بر روی سکویی به ارتفاع ۳ سانتی متر گذاشته شد و چنانچه حیوان حداقل به مدت ۱۰ ثانیه دست خود را از روی سکو برنمی‌داشت، مجدداً ۰/۵ نمره می‌گرفت.

دست راست حیوان نیز بر روی سکویی به ارتفاع ۹ سانتی‌متر قرار داده شد؛ به‌طوری‌که سایر قسمت‌های بدن با سکو تماس نداشتند و چنانچه حیوان حداقل به مدت ۱۰ ثانیه دست خود را از روی سکو برنمی‌نداشت، یک نمره می‌گرفت، سپس دست چپ حیوان بر روی سکویی به ارتفاع ۹ سانتی‌متر گذاشته شد؛ به‌طوری‌که سایر قسمت‌های بدن با سکو تماس نداشت و چنانچه حیوان حداقل به مدت ۱۰ ثانیه دست خود را روی سکو برنمی‌نداشت مجدداً یک نمره می‌گرفت (۱۸).در مرحله بعد، حیوان روی سطح صاف روی میز یا موزائیک کف اتاق آزمایشگاه گذاشته شد، که درصورت شروع به راه رفتن نمره صفر می‌گرفت و چنانچه

حرکتی نمی‌کرد و یا با تماس دست شروع به حرکت می‌کرد، نمره ۰/۵ را می‌گرفت.نتایج این تست به همراه تست سکوهای ۳و ۹ سانتی‌متری جهت ارزیابی و نمره تست سختی عضلانی لحاظ گردید(۱۸).با استفاده از دستگاه شاتل باکس شامل دو محفظه یکی تاریک و دیگری روشن که کف آنها از مفتول‌های فلزی استیل با قطر ۲-۱ میلی‌لیتر و فواصل یک سانتی‌متر پوشیده شده است} به‌وسیله یک دستگاه تولید جریان الکتریکی، شوک خفیفی به میزان ۷۵ ولت، ۰/۳ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه جریان متناوب در محفظه تاریک و تنها یک‌بار به کف پای موش‌ها وارد شد . برای انجام این عمل، ابتدا موش‌ها هرکدام برای مدت ۱۰دقیقه، به‌منظور آشنایی با دستگاه (آموزش) درون شاتل‌باکس با درب گیوتینی باز قرار داده شدند تا آزادانه در محفظه گردش کنند، سپس حیوان درون جعبه روشن قرار می‌گرفت و به محض ورود حیوان به محفظه تاریک، درب گیوتینی بسته و شوک الکتریکی به کف پای موش اعمال می‌شد. ۲۴ ساعت بعد، مدت زمان تأخیر ورود موش‌ها به محفظه تاریک (که قبلاً شوک داشت، ولی این‌بار فاقد شوک بود) به‌عنوان حافظه اجتنابی غیرفعال برحسب ثانیه اندازه‌گیری می‌شد. این عمل برای همه موش‌ها در تمام گروه‌های مورد تحقیق انجام گرفت(۱۹).

ارزیابی میزان مانول دی آلدئید (MDA)

در این آزمایش از گروه‌های ۱۰تایی موش استفاده شد، بافت مورد نظر بلافاصله وزن شده و با ازاء هر ۱ گرم بافت ۱۰میلی لیتر محلول KCL ۱/۵٪ هموژنه شدند. از محلول هموژنه شده ۰/۵ میلی لیتر برداشته و۲/۵ میلی لیتر TCA ۳٪ اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد، سپس ۱۰ دقیقه در دور۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی بعد از سانتریفیوز برداشته شد و به هریک ۳ میلی لیتر محلول ۰/۱ اسید فسفریک و ۱ میلی لیتر محلول TBA ۰/۶۷٪ اضافه شد و ۴۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند، لوله‌ها در ظرف یخ خنک شدند و به هریک ۴ میلی‌لیتر بوتانول اضافه شد بعد از ورتکس‌کردن ۲۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شده و در نهایت جذب با طول موج ۵۳۲nm و پس از قراردادن اعداد حاصل از اسپکتروفتومتری و جذب در معادله خطی‌منحنی‌استاندارد میزان غلظت MDA براساس (nmol/g/ wet tissue) مورد ارزیابی قرار گرفت(۲۰).

منحنی استاندارد

در ابتدا باید منحنی استاندارد رسم شود که لازم است محلول استانداردMDA تهیه شده و با استفاده ازدستگاه اسپکتروفتومتر، طول موج‌ها اندازه‌گیری می‌شوند. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد با غلظت‌های ۸، ۱۰، ۴، ۶، ۲، ۱، ۰/۵ میکرومولار برداشته خواهد شدسپس ۳ میلی‌لیتر محلول ۱٪اسید فسفریک اضافه خواهدشد. و بقیه مراحل همچون مراحل قبل انجام گردید.

سنجش میزان تیول

در این آزمایش از گروه های ۱۰ تایی موش استفاده شد. بافت مورد نظر بلافاصله وزن شده و با ازاء هر ۱ گرم بافت ۱۰ میلی‌لیتر محلول KCL۱٪۵ اضافه شد و هموژن گردید. از محلول هموژن شده ۰/۵ میلی لیتر برداشته شده و ۲/۵ میلی لیتر TCA۳ ٪ اضافه شد و مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه نگهداری شد. سپس ۱۰دقیقه در دور ۳۰۰۰سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی بعد از سانتریفیوژ برداشته شد. برای ارزیابی گروه تیول از DTNB (معرف‌المن) استفاده گردید. در یک لوله‌ی آزمایش ۱ میلی‌لیتر از بافر

تریس (PH=6) را به ۵۰ میکرو لیتر محلول هموژن بافت اضافه نمودیم و جذب نوری آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (A1). سپس به لوله‌ها ۲۰ میکرولیتر معرف DTNBاضافه نموده ،۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب آن در همان طول موج اندازه‌گیری گردید (A2). میزان جذب شاهد (حاوی بافرتریس و) نیز در ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید (B). مقادیر A1، A2 و B بدست آمده در رابطه‌ی ۱ قرار داده و میزان گروه های تیولی محاسبه گردید(۲۰).

میزان گروه های تیول = (mM)=(A2-A1-B) × 1/07/0/05 ×13/6

اندازه گیری سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

تهیه نمونه و نحوه سنجش سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مطابق با دستورالعمل قید شده در کیت تجاری (BioVision Incorporated,Milpitas,CA,USA) انجام شد. یک واحد فعالیت به معنی مقداری از آنزیم که موجب اکسیداسیون 1میکرومول از NADPH به +NADP در دقیقه تحت شرایط کیت و در دمای 25°C است.

داده‌های این تحقیق به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شدند. همچنین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel ،SPSS، آزمون واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی (در هرگروه ۱۰ نفر) آنالیز شدند. سطح معنی‌داری، ۰/۰۵ >pدر نظر گرفته شد.

نتایج

تمامی حیوانات، اعمال جراحی استریوتاکسیک را به‌خوبی تحمل کرده و هیچ‌گونه مرگ ومیری در طی مطالعه مشاهده نشد. طبق آنالیز آماری، نتایج مطالعه رفتارهای حرکتی و تعادل حرکتی القاشده به‌وسیله آپومورفین به مدت یک‌ساعت نشان داد ۲ هفته بعد از جراحی در گروه آسیب‌دیده، آپومورفین موجب بروز رفتار چرخشی به سمت مقابل ناحیه آسیبَدیده شده است (p < ۰/۰۰۱). پس از ایجاد ضایعه MFB بر اثر تزریق ۶ - هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی نیز میزان چرخش در گروه‌های پارکینسونی نسبت به گروه کنترل سالم، افزیش معنی‌داری یافت(p < ۰/۰۰۱) در گروه‌های پارکینسون درمان، دریافت‌کننده گیاه اکلیپتا پرستراتا (به میزان ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) به‌صورت گاواژ به مدت ۱۴ روز؛ چرخش در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا (۵۰ و۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) در مقایسه با گروه پارکینسون، به‌طور قابل‌توجهی کاهش معنی‌داری یافت (p< ۰/۰۰۱) و چرخش در گروه دریافت‌کننده عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا (به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)، کاهش معنی‌داری (p < ۰/۰۰۱) نسبت به گروه پارکینسون نشان داد (جدول شماره ۱). در این مطالعه، پس از ایجاد ضایعه MFB بر اثر تزریق ۶- هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی کاتالپسی در گروه‌های پارکینسونی نسبت به گروه کنترل سالم، افزیش معنی‌داری مشاهده گردید (p < ۰/۰۰۱). همچنین در گروه‌های پارکینسون درمان (دریافت‌کننده عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا به میزان ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به مدت ۱۴ روز و به‌صورت خوراکی)، کاتالپسی در گروه‌های دریافت‌کننده گیاه اکلیپتا پرستراتا (به میزان ۵۰،۱۰۰، ۲۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم) در مقایسه با گروه پارکینسون، کاهش معنی‌داری نشان داد(p < ۰/۰۰۱)، و در گروه دریافت‌کننده عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا (به میزان۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه پارکینسون مشاهده گردید (p<۰/۰۰۱).

تعادل حرکتی در گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). در مقایسه میان‌گروه‌های پارکینسونی دریافت‌کننده عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا و پارکینسون بدون درمان با عصاره، تجویز ۱۴ روز عصاره عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا (به میزان ۵۰ و ۱۰۰و۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)، تعادل حرکتی در موش‌ها پارکینسونی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (p<۰/۰۰۱) .

در موش‌های صحرایی اندازه طول‌قدم در گروه‌های پارکینسونی نسبت به گروه کنترل سالم، کاهش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۰۱). همچنین طول قدم در گروه پارکینسون درمان (دریافت‌کننده عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به‌صورت گاواژ به مدت ۱۴ روز)، در مقایسه با گروه‌های پارکینسونی، به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد (p<۰/۰۵)، در گروه دریافت‌کننده عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا (به میزان ۵۰ و۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) نیز تأثیری نداشت و با گروه پارکینسون، اختلاف معنی‌داری نشان نداد .

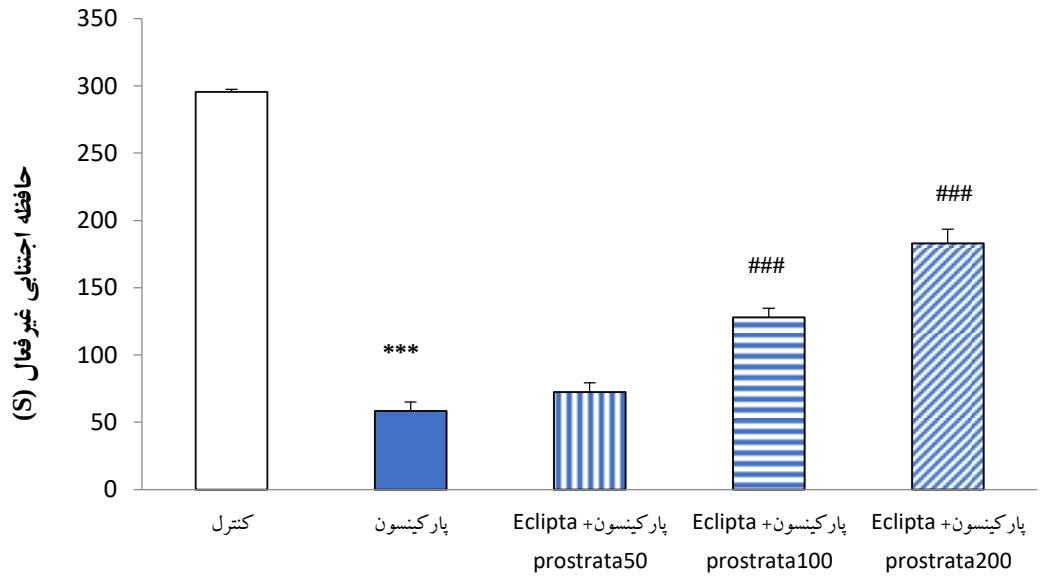
جدول ۱- تأثیر ۱۴ روز تجویز خوراکی عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا به‌صورت گاواژ داخل معدی

گروه ها / آزمون های حرکتی	کنترل	پارکینسون	پارکینسون+ Ec Pro50	پارکینسون+Ec Pro۱۰۰	پارکینسون+Ec Pro200
تعداد چرخش	0±0	137±9/52***	53/5±2/9###	55/75±2/1###	42/5±3/58###
کاتالاپسی(زمان تاخیر در بارفیکس(S)	0±0	105±2/2***	39/5±7/4###	48/5±3###	37±3/3###
تعادل حرکتی(s)/روتارود	189±26/31	30±2/76***	129/5±7/5###	146/25±23/8###	147/5±8/3###
طول قدم(cm)	8/62±0/37	3/75±0/25***	5/6±0/46	5/7±0/49#	5/1±0/66
سختی عضلانی(نمره)	0±0	3/5±0	1/93±0/33##	1/75±0/31##	1/68±0/23###

در مقادیر ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در آزمون های حرکتی در مدل حیوانی بیماری پارکینسون،نتایج به‌صورت mean± SEM ارائه شده‌اند. آنالیز با واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی (n=10) صورت گرفته است. علامت * روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و علامت # روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه پارکینسونی‌شده را نشان می‌دهد.

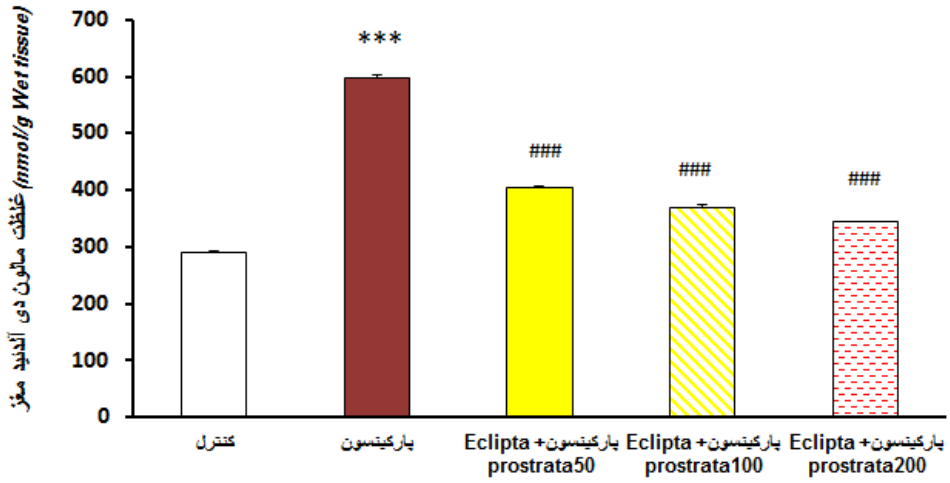
در این مطالعه، سختی عضلانی در گروه پارکینسونی، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (p<۰/۰۰۱)، همچنین درمان با عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا (در دوزهای ۲۰۰(p<۰/۰۰۱)، ۱۰۰(p<۰/۰۱) و ۵۰(p<۰/۰۱) میلی‌گرم برکیلوگرم)، سختی عضلانی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد ؛بنابراین تجویز هر ۳ دوز عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا باعث

بهبود سختی عضلانی در موش‌های پارکینسونی شد. در اندازه‌گیری میزان حافظه اجتنابی غیرفعال در گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل سالم، کاهش معنی‌داری مشاهده گردید (p < ۰/۰۰۱)، و نتایج تجویز ۱۴ روزه عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا با ۳ دوز نشان داد دوز۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا اثر معنی‌داری با گروه پارکینسونی ندارد، ولی عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم سبب افزایش معنی‌داری شده است (p<۰/۰۰۱) (نمودار شماره ۱).

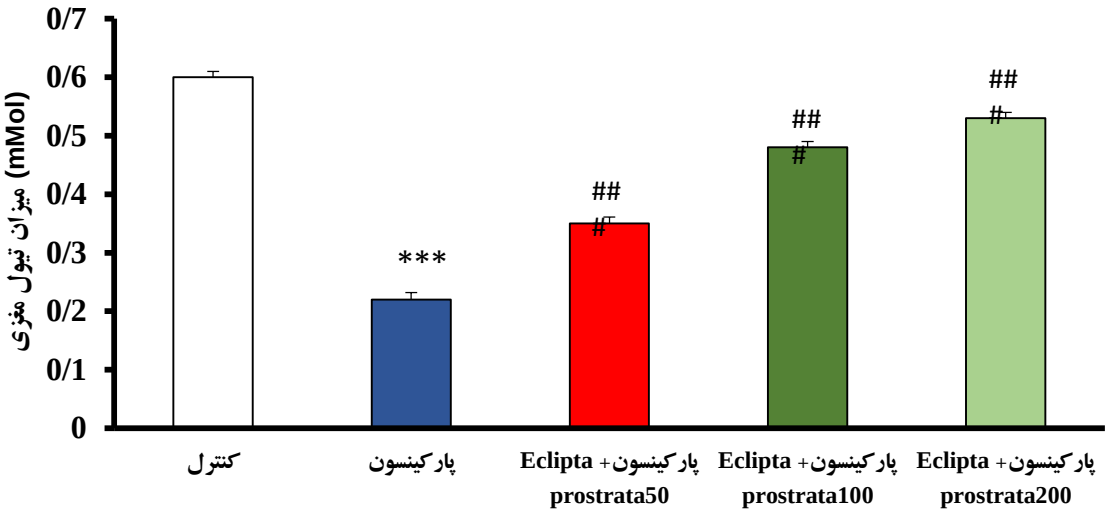


نمودار ۱- تأثیر ١٤ روز تجویز خوراکی عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا به‌صورت گاواژ داخل معدی (در مقادیر ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) بر حافظه اجتنابی در مدل حیوانی بیماری پارکینسون.نتایج به‌صورت mean± SEM ارائه شده‌اند. آنالیز با واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی(n=10) صورت گرفته است. علامت * روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و علامت # روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه پارکینسونی‌شده را نشان می‌دهد.

مقایسه سطح پراکسیداسیون لیپیدی گروهها در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است.باتوجه به نتایج به دست آمده سطح مالون دی آلدئید مغز در گروه پارکینسونی افزایش معنی داری را در بافت های مغزی (P<۰/۰۰۱) در مقایسه باگروه کنترل نشان دادند. نتایج تجویز چهارده روزه عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا با سه دوز (۲۰۰،۱۰۰و۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نشان داد که سطح مالون دی آلدئید در بافت های مغزی (هیپوکامپ و استریاتوم) کاهش معنی داری در مقایسه با گروه پارکینسونی داشت(P<۰/۰۰۱).

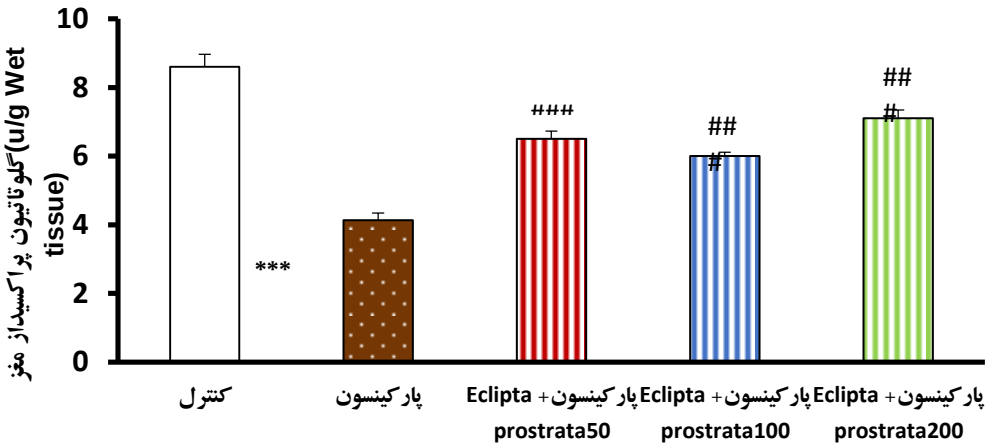


نمودار ۲- تأثیر ۱۴ روز تجویز خوراکی عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا به‌صورت گاواژ داخل معدی (در مقادیر ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) برغلظت مالون دی آلدئید مغز در مدل حیوانی بیماری پارکینسون.نتایج به‌صورت mean± SEM ارائه شده‌اند. آنالیز با واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی (n=10) صورت گرفته است. علامت * روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و علامت # روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه پارکینسونی‌شده را نشان می‌دهد.



نمودار ۳- تأثیر ۱۴ روز تجویز خوراکی عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا به‌صورت گاواژ داخل معدی (در مقادیر ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) بر میزان تیول مغزی در مدل حیوانی بیماری پارکینسون.نتایج به‌صورت mean± SEM ارائه شده‌اند. آنالیز با واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی (n=10) صورت گرفته است. علامت * روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و علامت # روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه پارکینسونی‌شده را نشان می‌دهد.

همان طور که در نمودار ۳ نشان داده شده است، بافت های مغزی (هیپوکامپ و استریاتوم) در سنجش میزان تیول گروه پارکینسونی کاهش معنی داری را (P<۰/۰۰۱) با گروه کنترل نشان دادند. نتایج تجویز چهارده روزه عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا با سه دوز(۲۰۰،۱۰۰و۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نشان داد که میزان تیول در بافت هیپوکامپ و استریاتوم در مقایسه با گروه پارکینسونی افزایش معنی داری داشته است(P<۰/۰۰۱).



نمودار ۳- تأثیر ۱٤ روز تجویز خوراکی عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا به‌صورت گاواژ داخل معدی (در مقادیر ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) بر میزان گلوتاتیون پراکسیداز مغز در مدل حیوانی بیماری پارکینسون.نتایج به‌صورت mean± SEM ارائه شده‌اند. آنالیز با واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی (n=10) صورت گرفته است. علامت * روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و علامت # روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه پارکینسونی‌شده را نشان می‌دهد.

بحث :

بیماری پارکینسون به طور عمده بخش متراکم جسم سیاه را به نام منطقه A9متأثر میکند. این بخش از مغز خروجی هایی به هسته های دم دار و پوتامن می فرستد و سیستم مزواستریاتال نام دارد. بنابراین، تخریب در این مسیر موجب قطع عملکردی مدار هسته های قاعده ای می شود و چندین نشانهٔ فیزیکی بیماری پارکینسون مانند برادی کینزی، رعشه و سفتی عضلات را ایجاد میکند(۲۱).

کاتالپسی زمانی رخ می دهد که بیش از ۸۰ درصد گیرنده های D2 توسط دارو اشغال شده باشد. .کاتالپسی همچنین توسط ورودی های آدنوزین تحریکی و گلوتاماترژیک بر روی گیرنده های آدنوزین A2A و-N متیل-D-آسپارتات (NMDA)در جسم مخطط ارسال می شود. دلیل این امر آنتاگونیست های گیرنده NMDA است. تولید رادیکال آزاد را می توان با سیستم مهار رادیکال آزاد غیرفعال کرد. در PD، ماده سیاه رسانای تشکیل رادیکال‌های آزاد سیتوتوکسیک است. این رادیکال های آزاد باعث پراکسیداسیون لیپیدی و مرگ سلولی می شوند که نشان می دهد منجر به یک حالت اکسیداتیو شدید در SN می شود . افزایش استرس اکسیداتیو منجر به مصرف بیش از حد SOD، GPX و اختلالات حرکتی می شود. مطالعات متعدد نشان می دهد که کاهش پپتید آنتی اکسیدانی گلوتاتیون (GSH) در

سلول های PD ، که ممکن است به دلیل کاهش سنتز و بازیافت آن باشد. مشخصه بیماری پارکینسون ایدیوپاتیک (PD) از دست دادن نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه ه (SNpc) است که منجر به ناهنجاری‌های بالینی و دارویی عمده‌ای می‌شود که این بیماری را مشخص می‌کند. قوی ترین و قابل توجه ترین تغییر در دفاع آنتی اکسیدانی کاهش غلظت GSH است. در ابتدا، عدم وجود کامل GSH در حضور غلظت های بالای GSSG گزارش شد. با این حال، در مغز بیشتر GSH در گلیا قرار دارد. در مطالعه ما فعالیت GSH توسط ۶هیدروکسی دوپامین در گروه های مختلف به دلیل استرس اکسیداتیو یا تولید رادیکال های آزاد کاهش می یابد(۲۲).

براساس نتایج این مطالعه، افزایش چرخش در گروه‌های پارکینسونی در تمام فواصل ۱۰ دقیقه‌ای و مجموع کل چرخش در یک‌ساعت در مقایسه با گروه کنترل، بیانگر ایجاد ضایعه و تخریب نورون‌های دوپامینرژیک است؛ درحالی‌که در گروه درمان چرخش در تمام فواصل ۱۰ دقیقه‌ای نسبت به گروه پارکینسونی، بسیار کمتر بوده است که می‌تواند نشان‌دهنده جلوگیری از تخریب نورون‌های دوپامینرژیکی و کاهش عدم تقارن حرکتی ایجادشده در پی این تخریب به‌وسیله تجویز گیاه اکلیپتا پرستراتا باشد. درمان با عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا (با دوزهای مختلف ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) توانسته است اختلالات حرکتی ناشی از تجویز ۶- هیدروکسی دوپامین (شامل: طول قدم، تعادل حرکتی، کاتالپسی، سفتی عضلانی و حافظه) را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه درمان‌نشده بهبود بخشد. در نتایج به‌دست‌آمده، آزمون یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال در دستگاه شاتل‌باکس که برای همه گروه‌ها با شرایط یکسان انجام شد و مجموع زمان ماندن در اتاق روشن، بیانگر بهبود حافظه اجتنابی غیرفعال با عصاره اکلیپتا پرستراتا بود. در مطالعات اپیدمیولوژیکی، آثار مفید مواد غذایی غنی از گیاهان و میوه‌ها در کاهش خطر ابتلا به بیماری‌ها به اثبات رسیده است (۲۳). بی‌حرکتی یا آکینزی که در بیماری پارکینسون به‌وجود می‌آید؛ غالباً به این دلیل است که در پی کاهش ترشح دوپامین در عقده‌های قاعده‌ای، ترشح آن در سیستم لیمبیک کاهش می‌یابد که این امر ممکن است تحریک روانی برای انجام فعالیت حرکتی را به‌طور شدید کاهش داده و در نتیجه آکنیزی ایجاد شود (۲۴). از طرف دیگر، از آنجا که طرح‌های حرکت نیاز به تغییرات متوالی بین تحریک و مهار دارند؛ لذا فقدان اثر مهاری دوپامین، از شروع و پیشرفت طرح‌های متوالی که نیاز به مراحل تحریکی علاوه بر مراحل مهاری دارند، جلوگیری می‌کند (۲۵). اختلالات شناختی نیز در بیماری پارکینسون می‌تواند زندگی روزمره بیماران را تحت تأثیر قرار دهد و حتی با عملکرد شغلی و اجتماعی آنها تداخل کند (۲۶). عدم تعادل بین تولید رادیکال آزاد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به سمت اکسیدان‌هایی است که منجر به آسیب بیشتر می‌شوند، همچنین دارای نقش محوری در پاتوژنز بیماری‌های نورودژنرتیو و نورولوژیک مانند پارکینسون، تروما، آلزایمر و سکته مغزی هستند (۲۷). همسو با نتایج مطالعه حاضر، تحقیق محمودی و همکاران، ایجاد بیماری پارکینسون و اختلالات حرکتی ناشی از تزریق یک‌طرفه ۶- هیدروکسی دوپامین در MFB را نشان دادند(۱۹) .ابراهیمی و همکاران نیز نشان دادند مصرف عصاره برگ زیتون که ترکیبی از فلاوونوئیدها می باشد، در درازمدت سبب محافظت نورونی و کاهش اختلال حافظه در برابر آسیب ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین می گردد(۲۸).

جعفری و همکاران (۲۰۲۰) در یافته¬های بدست آمده از مطالعات خود نشان دادند که پارکینسون باعث افزایش میزان چرخش، کاهش تعادل حرکتی، افزایش بی حرکتی، افزایش سفتی عضلانی و کاهش طول قدم نسبت به گروه کنترل می‌شود و تجویز خوراکی اولئوروپئین توانسته اختلالات حرکتی ناشی از تجویز ۶-هیدروکسی دوپامین را به طور معنی داری نسبت به گروه درمان نشده بهبود ببخشد (۲۹). در یک تحقیق دیگر گودرزی و همکاران در سال ۱۳۹۶نشان دادند آلفاپینن با محافظت نورون های دوپامینرژیک سبب بهبود تعادل حرکتی، حافظه اجتنابی و کاهش سطح مالون دی آلدئید در مدل پارکینسونی میشود. مونوترپنها نیز با تداخل در سیستم مونوآمینی و مهار مونوآمین اکسیداز، سبب افزایش دوپامین شده که احتمالاً آلفاپینن نیز با تأثیر بر این تداخلات منجر به بهبود عوارض پارکینسون و اختلال حافظه در آن میگردد (۱۵). علی پور نسرانی و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان داد که پارکینسون القا شده با ۶-هیدروکسی دوپامین منجر به اختلال در یادگیری، حافظه و فعالیت چرخشی می‌شود. تجویز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عناب باعث بهبود یادگیری وحافظه شد. علاوه بر این، دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عناب چرخش‌های ناشی از آپومورفین را کاهش داد. همچنین، عناب باعث کاهش سطح مالون دی‌آلدئید (MDA)در مغز میانی و هیپوکمپ شد(۳۰).

Xiaو همکاران در سال ۲۰۱۹ نقش عصاره *Eclipta prostrata*در بهبود یادگیری فضایی و نقص حافظه در پیری ناشی از دی گالاکتوز در موش صحرایی مورد بررسی قرار دادند. تجویز عصاره *E. prostrata* می‌تواند منجر به بهبود اختلالات یادگیری و حافظه شود که توسط درمان-D گالاکتوز در موش‌ها ایجاد می‌شود. این بهبود ممکن است نتیجه افزایش توانایی آنتی اکسیدانی، کاهش سطوح iNOS و NO و القای بیانDA ، NEو ۵ HT-در مغز باشد(۳۱).

در پژوهشی عصاره اتانولی *Eclipta prostrata* L. اختلال شناختی ناشی از اسکوپولامین را در موش بهبود می بخشد(۳۲).

نتایج این بررسی نشان داد موش هایی که ۶OHDA-دریافت کرده بودند کاهش معنی داری در میزان تیول و فعالیت آنزیم GPX و همچنین افزایش قابل ملاحظه ای در سطح MDA مغز داشتند. درمان با عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا سبب افزایش میزان تیول و گلوتاتیون پراکسیداز و همچنین باعث کاهش قابل توجهی در سطح MDA در گروه تیمار عصاره می شود.

بررسی ها نشان داده است که اکسیدان های رادیکال های آزاد علاوه بر ایجاد آسیب نورونی در ایسکمی، درتخریب نورونی آلزایمر، در پارکینسون وپیری طبیعی دخیل می باشند (۳۳). براساس مطالعات انجام شده، بیماری پارکینسون باتخریب اکسیداتیو نورونی همراه است.بیماران بامرحله اولیه پارکینسون نشان دهنده آتروفی هیپوکامپ وپیش فرونتال هستند و حافظه ضعیف مربوط به آتروفی هیپوکامپ است (۳۴) و در تحقیقی دیگر آتروفی استریاتال و هیپوکامپ در بیماران مبتلا به بیماری پارکینسون ایدیوپات بدون ضایعه ارائه شده است (۳۵). در مطالعات گذشته به بررسی اثر آنتی اکسیدان ها در بافت های مغزی بویژه هیپوکامپ ستریاتوم، قشر مغز و مخچه در مدل حیوانی پارکینسونی با۶-هیدروکسی دوپامین پرداخته شده است که نتایج آنها با مطالعات ما همخوانی دارد (۳۶-۴۰).

پراکسیداسیون لیپید منجربه افزایش رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو می شود و آنتی اکسیدان ها درجلوگیری و

یا به تأخیر انداختن بیماری پارکینسون مؤثرهستند. ویتامین هایC، AوEآنتی اکسیدان هایی هستند که قادر به جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی می باشند.براساس برخی مطالعات درمان با هردو ویتامینCوA نیازبه مصرف لودوپا و آگونیست های دوپامین را به تأخیر می اندازد (۴۱). تحقیقات نشان داده اند ترکیب های فنولی وفلاوونوئیدی قادرهستند آسیبهای ناشی ازپراکسیداسیون لیپید و اکسیداسیون پروتئین ها را کم کنند (۴۲). مطالعات دیگر نشان داده است که این ترکیب های فنولی میتوانند سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی مغز را افزایش دهند (۴۳). مغز دارای سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی است که به عنوان سد دفاعی دربرابر رادیکال های آزاد عمل میکنند، اما با افزایش سن و بروزکهنسالی این سیستم های دفاعی تضعیف می شوند (۴۴).

تری گلوتاتیون پپتید (L-γ-glutamyl-L Cysteinylglycin)رایج تیول درون سلولی غیر پروتئینی است که در بسیاری از عملکردهای بدن از جمله تنظیم بالانس ردوکس سلولی، عملکرد ایمنی، تکثیر سلولی، انتقال و ذخیره سیستئین و آنتی ا کسیداسیون۲۳گونه اکسیژن فعال و رادیکال های آزاد درگیر است (۴۵). سطوح GSHدرون سلولی، پاسخ های سلولی به استرس اکسیداتیو را تعدیل کرده و تخلیهGSH،آسیب های اکسیداتیو را تشدید میکند (۴۶).

درمان آنتی اکسیداتیو در مراحل اولیه ی بیماری پارکینسون، امروزه درکلینیک مطرح است. یکی از روش های درمانی برای کاهش دادن اثرات استرس اکسیداتیو و محافظت نورونهای دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون استفاده ازآنتی اکسیدان ها می باشد (۴۷). در این پژوهش تجویز۲۰۰،۱۰۰و۵۰ میلی گرم برکیلوگرم عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا سبب افزایش میزان تیول وگلوتاتیون پراکسیداز و همچنین باعث کاهش قابل توجهی درسطح MDAبافت های مختلف مغزی درگروههای تیمار عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا شد Jung و همکاران در سال ۲۰۰۳ برخی خصوصیات گیاه اکلیپتا پرستراتا از جمله ترکیبات آنتی اکسیدانی وضدمیکروبی آن راگزارش کرده اند (۴۸). همچنین Kim و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند *Eclipta prostrata* به عنوان یک گیاه دارویی سنتی برای جلوگیری از زوال عقل و تقویت حافظه در آسیا استفاده می شود. پتانسیل آن به عنوان یک نوتروپیک و به عنوان یک آنتی اکسیدان در موش ها گزارش شده است *Eclipta* ممکن است بر شکل گیری انتقال دهنده های عصبی و مهار استرس اکسیداتیو تأثیر بگذارد واثرات *E prostrata* را بر تشکیل استیل کولین در مغز و مهار استرس اکسیداتیو در مغز و سرم موش‌ها نشان داد. این یافته ها ممکن است پیامدهایی برای پیشگیری از زوال عقل و تقویت عملکرد حافظه در انسان داشته باشد(۴۹) .

Jaisinو همکاران در سال ۲۰۱۶ اثرات محافظتی عصاره اتیل استات *Eclipta prostrata* در برابر سمیت عصبی ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین در سلول های SH-SY5Y را نشان دادند. عصاره اتیل استات *E. prostrata* دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بالقوه است و با مسدود کردن سیگنال آپوپتوز ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین، مرگ سلولی-SH SY5Yرا کاهش می دهد. بنابراین *E. prostrata* می تواند به عنوان یک گیاه دارویی بالقوه برای جلوگیری از تخریب عصبی ناشی از استرس اکسیداتیو در بیماری پارکینسون استفاده شود (۵۰). زیست فعالی *E. prostrata* به عنوان یک آنتی اکسیدان توسط Chen و همکاران (۵۱) ، و Lee و همکاران (۵۲) گزارش شده است. عصاره آبی *E. prostrata*در از بین بردن ۱،۱ دی فنیل ۲ پیکریل هیدرازیل

(DPPH) ، رادیکال های سوپراکسید و یون های کلات آهن با مقادیر IC50 0.23 میلی گرم در میلی لیتر، ۰.۴۸ میلی گرم در میلی لیتر، و ۱.۲۵ میلی گرم در میلی لیتر اثر قوی داشت.

گزارشات مشخص کرده است که شریان های کاروتید مشترک دو طرفه باعث کاهش قابل توجهی در سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، گلوتاتیون کاهش یافته (GSH)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون-S- ترانسفراز (GST)، گلوتاتیون رودکتاز (GR) و افزایش قابل توجهی در مالون دی آلدئید(MDA) شدند. در مغز پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی *Eclipta alba* به طور قابل توجهی سطوح پارامترهای بیوشیمیایی را معکوس کرد و به طور قابل توجهی ادم و اندازه انفارکتوس مغزی را در مقایسه با گروه کنترل ایسکمیک کاهش می دهد. *Eclipta alba* در دوز بالاتر به طور قابل توجهی از دست دادن عصبی ناشی از ایسکمی مغز را کاهش داد. کاهش ادم مغزی، یکی از علائم اولیه ایسکمی، یکی از مهم ترین راه حل ها برای کاهش آسیب های عصبی مزمن بعدی در سکته مغزی است(۱۳).

بدین ترتیب عصاره گیاه *E. prostrata* به دلیل دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی با مطالعات انجام شده همخوانی دارد و نتایج مطالعات انجام شده تایید کننده اثر درمانی گیاه *E. prostrata* در بیماری پارکینسون می باشد.

نتیجه گیری

مصرف عصاره گیاه اکلیپتا پرستراتا به‌واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی، به‌طور چشمگیری سبب محافظت نورون در برابر آسیب ناشی از ۶- هیدروکسی دوپامین، همچنین کاهش رفتارهای القایی، بهبود بخشیدن اختلالات حافظه و حرکت با این سم می‌شود . همچنین این اثر محافظت نورونی عصاره گیاه *E. prostrata* درکاهش میزان مالون دی آلدئید گلوتاتیون آنزیم و تیول سطح افزایش و پراکسیداز در بافت های مغز بویژه هیپوکامپ و استریاتوم موش های پارکینسونی انعکاس یافته است.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل یک طرح پژوهشی باکد **۱۷۳۰۱۰۳۳۰۰۰۰۱** می باشد و بدین وسیله نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان و ایذه تشکر و قدردانی می نمایند.

فهرست منابع

1. Luef G, and Rauchenzauner M. Epilepsy and hormones: a critical review. Epilepsy & behavior.2009; 15(1): 73–77.

2. Doherty MJ, Rostad SW, Kraemer DL, Vossler DG, Haltiner AM. Neocortical gliosis in temporal lobe epilepsy: gender-based differences. Epilepsia. 2007 ; 48(8):1455–1459.

3. Kaboutari J, Zendehdel M, Habibian S, Azimi M, Shaker M, Karimi B. The antiepileptic effect of sodium valproate during different phases of the estrous cycle in PTZ-induced seizures in rats. Journal of

hysiology and biochemistry. 2012; 68(2):155–161.

4. Frank S, Tyson NA. A Clinical Approach to Catamenial Epilepsy: A Review. The Permanente journal. 2020; 24: 1–3.

5. Morris GL, Vanderkolk C. Human sexuality, sex hormones, and epilepsy. Epilepsy & behavior. 2005; 7: S22–S28.

6. Harden CL. Sexuality in men and women with epilepsy. CNS spectrums. 2006; 11: 13–18.

7. Frye CA. Role of androgens in epilepsy. Expert review of neurotherapeutics. 2006; 6(7): 1061–1075.

8. Reddy DS. Role of neurosteroids in catamenial epilepsy. Epilepsy research. 2004; 62(2-3): 99–118.

9. Edwards HE, Burnham WM, Mendonca A, Bowlby DA, MacLusky NJ. Steroid hormones affect limbic afterdischarge thresholds and kindling rates in adult female rats. Brain research. 1999; 838(1-2): 136–150.

10. Reddy DS, Castaneda DC, O'Malley BW, Rogawski MA. Anticonvulsant activity of progesterone and neurosteroids in progesterone receptor knockout mice. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 2004; 310(1): 230–239.

11. Sherwin BB. Progestogens used in menopause. Side effects, mood and quality of life. The Journal of reproductive medicine. 1999; 44(2): 227–232.

12. Borowicz KK, Czuczwar SJ. Aminoglutethimide but not spironolactone enhances the anticonvulsant effect of some antiepileptics against amygdala-kindled seizures in rats. Journal of neural transmission. 2005; 112(7): 891–903.

13. Guille C, Spencer S, Cavus I, Epperson CN. The role of sex steroids in catamenial epilepsy and premenstrual dysphoric disorder: implications for diagnosis and treatment. Epilepsy & behavior. 2008; 13(1): 12–24.

14. Freeman ME. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. In: Konbil E, Neil J (eds) Physiology of Reproduction, 2. Raven Press, New York. 1975;613–709.

15. Rattka M, Brandt C, Bankstahl M, Bröer S, Löscher W. Enhanced susceptibility to the GABA antagonist pentylenetetrazole during the latent period following a pilocarpine-induced status epilepticus in rats. Neuropharmacology. 2011; 60(2-3): 505–512.

16. Zendehdel M, Kaboutari J, Ghadimi D, Hassanpour S. The antiepileptic effect of ghrelin during different phases of the estrous cycle in PTZ-induced seizures in rat. Int J Pept Res Ther. 2014; 20: 511–517.

17. Krnjevic K. Chemical nature of synaptic transmission in vertebrates, Physiol Rev. 1974; 54: 418-540.

18. Wood JD. The role of gamma-aminobutyric acid in the mechanism of seizures. Progress in neurobiology. 1975; 5(1): 77–95.

19. Meldrum BS. Epilepsy and gamma-aminobutyric acid-mediated inhibition. International review of neurobiology. 1975; 17: 1–36.

20. Haefely W, Polc P, Schaffner R, Keller HH, Pieri L, Mohler H. GABA-Neurotransmitters. Krogsgaard-Larsen et al.(eds), Copenhagen. 1979; 357.

21. Yosten GL, Lyu RM, Hsueh AJ, Avsian-Kretchmer O, Chang JK, Tullock CW, Dun SL, Dun N, Samson WK. A novel reproductive peptide, phoenixin. Journal of neuroendocrinology.2013; 25(2): 206–215.

22. Billert M, Rak A, Nowak KW, Skrzypski M. Phoenixin: More than

Reproductive Peptide. International Journal of Molecular Sciences. 2020; 21(21): 8378.

23. Kalamon N, Błaszczyk K, Szlaga A, Billert M, Skrzypski M, Pawlicki P, Górowska-Wójtowicz E, Kotula-Balak M, Błasiak A, Rak A. Levels of the neuropeptide phoenixin-14 and its receptor GRP173 in the hypothalamus, ovary and periovarian adipose tissue in rat model of polycystic ovary syndrome. Biochemical and biophysical research communications. 2020; 528(4): 628–635.

24. Pałasz A, Rojczyk E, Bogus K, Worthington JJ, Wiaderkiewicz R. The novel neuropeptide phoenixin is highly co-expressed with nesfatin-1 in the rat hypothalamus, an immunohistochemical study. Neuroscience letters. 2015; 592: 17–21.

25. Schalla MA, Stengel A. Phoenixin-A Pleiotropic Gut-Brain Peptide. International journal of molecular sciences. 2018; 19(6): 1726.

26. Stein LM, Tullock CW, Mathews SK, Garcia-Galiano D, Elias CF, Samson WK, Yosten GL. Hypothalamic action of phoenixin to control reproductive hormone secretion in females: importance of the orphan G protein-coupled receptor Gpr173. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology. 2016; 311(3): R489–R496.

27. Amado D, Cavalheiro EA. Hormonal and gestational parameters in female rats submitted to the Pilocarpine model of epilepsy. Epilepsy Res. 1998; 32: 266–274.

28. Zendehdel M, Kaboutari J, Salimi S, Hassanpour S. The Antiepileptic Effect of Carbamazepine during Estrous Cycle in Pentylenetetrazol-Induced Seizures in Rat. International Journal of Peptide Research and Therapeutics. 2015; 21: 133-138.

29. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 6th Edition, Academic Press, San Diego. 2007.

30. Azadi A, Zendehdel M, Kaboutari J, Panahi N, Asghari A. Central Phoenixin Protective Role on Pentylenetetrazol-Induced Seizures during Various Stages of the Estrous Cycle among Rats. Archives of Razi Institute. 2022; 77(2): 689–695.

31. Gonsalves SF, Twitchell B, Harbaugh RE, Krogsgaard-Larsen P, Schousboe A. Anticonvulsant activity of intracerebroventricularly administered glial GABA uptake inhibitors and other GABAmimetics in chemical seizure models. Epilepsy research. 1989; 4(1): 34–41.

32. Reddy DS. Neuroendocrine aspects of CE. Epilepsy Behav. 2013; 63: 254–266.

33. Morrell MJ. Epilepsy in women: the science of why it is special. Neurology1999; 53: 42–48.

34. Nicoletti F, Speciale C, Sortino MA, Summa G, Caruso G, Patti F, Canonico PL. Comparative effects of estradiol benzoate, the antiestrogen clomiphene citrate, and the progestin medroxyprogesterone acetate on kainic acid-induced seizures in male and female rats. Epilepsia. 1985; 26(3): 252–257.

35. Wong M, Moss R. Long-te l seizure activity in adult female rats. Soc Neurosci Abstr. 1998; 24(1): 472–474.

36. Cramer JA, Gordon J, Schachter S, Devinsky O. Women with epilepsy: hormonal issues from menarche through menopause. Epilepsy & behavior. 2007; 11(2): 160–178.

37. Backstorm T. Epileptic seizures in women related to plasma estrogen and progesterone during the menstrual cycle. Acta Neurol Scand. 1976; 54:149–159.

38. Khoshnood-Mansoorkhani MJ, Moein MR, Oveisi N. Anticonvulsant activity of Teucrium polium against seizure induced by PTZ and MES in mice. Iran J Pharm Res. 2010; 9(4): 395–401.

39. Herzog AG. Hormonal therapies: progesterone. Neurotherapeutics. 2009; 6: 383–391.

40. Reddy DS, Rogawski MA. Neurosteroid replacement therapy for CE. Neurotherapeutics. 2009; 6: 392–401.

41. Lambert JJ, Cooper MA, Simmons RD, Weir CJ Belelli D. Neurosteroids: endogenous allosteric modulators of GABAAreceptors. Psychoneuroendocrinol. 2009; 34(1): 48–58.

42. Lan NC, Chen JS, Belelli D, Pritchett D, Seeburg PH, Gee KW. A steroid recognition site is functionally coupled to an expressed GABAA-benzodiazepine receptor. Eur J Pharmacol Mol Pharmacol Sect. 1990; 188: 403–406.

43. Samokhina E, Samokhin A. Neuropathological profile of the pentylenetetrazol (PTZ) kindling model. Int J Neurosci. 2018; 128(11):1086-96.

44. Rajeswari JJ, Unniappan S. Phoenixin-20 Stimulates mRNAs Encoding Hypothalamo-Pituitary-Gonadal Hormones, is Pro-Vitellogenic, and Promotes Oocyte Maturation in Zebrafish. Sci Rep. 2020;10(1): 62-64.

Journal of Animal Physiology and Development
Volume 16, Issue 3, Number 63, Pages 1-18
Qjaphd.sinaweb.net **ISSN: 9880-1735**

Investigating the effect of Eclipta prostrata hydroalcoholic extract on motor activity, avoidance memory and oxidative stress in an animal model of Parkinson's disease in adult male rats

Shahrbanoo Alami Rostami [1], Maryam Rafieirad [2]

1- Assistant Professor,Department of Biology, Islamic Azad University, Gomishan Center, Gorgan Branch, Gorgan, Iran Corresponding author: sh_alemi_r@yahoo.com
2- Associate Professor, Department of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran

Received:2023.04. 04 **Accepted: 2023.06.20**

Abstract

Background and Aims: Parkinson's disease is associated with motor and cognitive disorders, so we investigated the administration of Eclipta prostrata hydroalcoholic extract on learning, memory, motor activity and oxidative stress in Parkinson's model.

Materials and methods: 50 adult Wistar rats were divided into five groups: control group, parkinsonian group and three groups treated with eucalyptus perstrata extract in three different concentrations of 50, 100 and 200 mg/kg. Induction of Parkinson's model was done by injecting 6-hydroxydopamine (6-OHDA). One day after the last gavage, motor tests were done. The shuttle box test was used to evaluate learning and avoidance memory. Oxidative stress was evaluated by malondialdehyde, glutathione peroxidase and thiol content.

Results: 7 days after the lesion in the MFB, after the administration of apomorphine, the rats turned 360 degrees in the right direction at a rate of more than 10 revolutions per minute. In the movement tests of the parkinsonian group, maintaining balance in rotarod ($p<0.001$), catalepsy ($p<0.001$), muscle stiffness ($p<0.001$), stride length ($p<0.001$) and avoidance memory ($p<0.001$) showed a significant difference to the control group. Also, Eclipta prostrata extract significantly improved all kinds of movement disorders caused by Parkinson's disease, and in doses of 50, 100, and 200, it improved memory in Parkinsonian rats ($p<0.001$). Also, the extract significantly increased the amount of thiol ($p<0.001$). and glutathione peroxidase ($p<0.001$) and decreased MDA in hippocampus and striatum tissue ($p<0.001$).

Conclusion: In general, we showed that the hydroalcoholic extract of Eclipta prostrata administered in the animal model of Parkinson's has a favorable effect on memory, learning, motor activity and oxidative stress of the brain.

Keywords: Eclipta prostrata hydroalcoholic extract, Parkinson's disease, motor activity, avoidance memory, oxidative stress