



فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: www.jhd.iaushk.ac.ir



بررسی اثر الازیک اسید بر میزان تیول در بافت‌های مختلف مغزی در مدل حیوانی بیماری پارکینسون

مریم رفیعی راد^{۱*}، زینب عیدی پور^۲

۱. استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، ایذه، ایران؛

*مسئول مکاتبات: (E-mail: Rafieirad.m@Izehiau.ac.ir; Rafieirad.m@gmail.com)

۲. دانشجوی دکتری گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران؛

چکیده

شناسه مقاله

مقدمه و هدف: بیماری پارکینسون (PD) با از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه ایجاد می‌گردد که به‌طور گسترده‌ای با استرس اکسیداتیو در ارتباط است و کاهش گلوتاتیون (GSH)، بعنوان فراوان‌ترین و مهم‌ترین تیول بافتی و یکی از عوامل دفاع آنتی‌اکسیدانی از اولین وقایع بیوشیمیایی مرتبط با پارکینسون می‌باشد و مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها اثر حفاظتی دارد. در مطالعه حاضر اثر الازیک اسید بر میزان گروه‌های تیول در بافت‌های هیپوکامپ، استریاتوم، قشر مغز و مخچه در بیماری پارکینسون مورد بررسی قرار گرفته است. روش تحقیق: در این مطالعه از ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ استفاده گردید که به‌طور تصادفی به گروه‌های ۸ تایی کنترل، پارکینسونی، و سه گروه پارکینسونی که روزانه یک بار به مدت ۱۴ روز به ترتیب دوزهای ۱۰، ۲۵، و ۵۰ الازیک اسید را به روش گاوژ دریافت نمودند، تقسیم گردیدند. بیماری پارکینسون با تزریق ۸ میکروگرم سم عصبی ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) در ۲- میکرولیتر سالین دارای ۱٪ اسید اسکوربیک درون دسته میانی-قدامی (MFB) نیمکره چپ مغز موش‌ها القاء شد و پس از ۱۴ روز مغز تمامی موش‌ها جهت جداسازی بافت‌ها و سنجش تیول استخراج گردیدند. نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ، آنالیز و واریانس یک طرفه و تست پشتیبان LSD ارائه شدند. نتایج و بحث: در گروه پارکینسونی در تمامی بافت‌ها کاهش معنی‌داری در میزان تیول نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید و تجویز الازیک اسید به‌ویژه دوز ۲۵ و ۵۰ mg/kg توانست در تمامی بافت‌ها اثر افزایشی را القاء نماید که این افزایش در تمامی بافت‌ها بجز مخچه معنی‌دار بود. بحث: الازیک اسید با توان افزایش تیول قادر است با استرس اکسیداتیو ناشی از پارکینسون مقابله نماید. توصیه کاربردی/ صنعتی: با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و خاصیت آنتی‌اکسیدانی الازیک اسید می‌توان از آن جهت بهبود و منع پیشروی بیماری پارکینسون بهره برد.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۰۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۱/۲۷

نوع مقاله: علمی - پژوهشی

موضوع: فارماکولوژی

کلید واژگان :

- ✓ تیول
- ✓ الازیک اسید
- ✓ پارکینسون
- ✓ موش صحرایی

۱. مقدمه

قشر مغز را درگیر می‌سازد (Balarajah and Cavanna, 2013). تصور بر این است که رادیکال‌های آزاد، به صورت موضعی در هسته

بیماری پارکینسون یک اختلال عصبی پیشرونده است که نورون‌های دوپامینی در مغز میانی و پروجکت‌های پوتامن و استریاتوم مغزی، و

داشته و واکنش‌های اکسیدانی را خنثی نمایند (Moskaug *et al.*, 2005).

نتایج گذشته مطالعات پیشنهاد می‌کنند که الاژیک اسید تاثیرات حفاظت عصبی مفیدی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو در موش‌های دیابتی و ایسکمی مغزی ارائه می‌دهد (Rafieirad *et al.*, 2012; Uzar *et al.*, 2014). بدین ترتیب مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر پلی فنول الاژیک اسید بر سطح تیول بافت‌های مختلف مغزی در مدل حیوانی پارکینسونی انجام گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر، با استفاده از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار تولیدی مرکز تکثیر و نگهداری خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اهواز با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انجام گرفت. حیوانات در شرایط استاندارد 2 ± 2 درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته (روشنایی از ۷ صبح آغاز می‌شود) و دسترسی کافی به غذای فشرده شرکت های دام پارس تهران و چاودانه شهرهای اصفهان و آب لوله کشی تصفیه شهر اهواز و در مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز در درون قفس های استاندارد به صورت گروه های چهارتایی نگهداری شدند. برای آسان شدن کار و سازش با شرایط محیط و آزمایش کننده، حیوانات، از قبل روزانه به مدت چند دقیقه دست آموز می شدند. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه به تصویب رسید. حیوانات به طور تصادفی به گروه های زیر تقسیم شدند:

۱- گروه سالم (کنترل)، ۲- گروه پارکینسونی ۳- گروه پارکینسونی، به مدت ۱۴ روز، روزانه مقدار ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم الاژیک اسید را به روش تجویز داخل معدی یا گاوژ دریافت نمودند (الاژیک اسید ۱۰ mg/kg + پارکینسون). ۴- گروه پارکینسونی، به مدت ۱۴ روز، روزانه مقدار ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم الاژیک اسید را به روش تجویز داخل معدی یا گاوژ دریافت نمودند (الاژیک اسید ۲۵ mg/kg + پارکینسون) و ۵- گروه پارکینسونی، به مدت ۱۴ روز، روزانه مقدار ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم الاژیک اسید را به روش تجویز داخل معدی یا گاوژ دریافت

های قاعده‌ای تولید شده و استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد منجر به آسیب پیشرونده و مرگ سلول های عصبی دوپامینرژیک جسم سیاه در افراد بیمار می‌گردد (Golembiowska *et al.*, 2008). از سوی دیگر مکانیسم‌های دفاعی درونی سبب افزایش اکسیداسیون دوپامین و تشکیل نوروملانین، افزایش غلظت آهن و غلظت کم فریتین، کاهش تولید گلوپروتئین و افزایش مقدار گلوپروتئین اکسید شده می‌گردند (Lovell *et al.*, 2000). تخلیه گلوپروتئین در جسم سیاه در بیماری پارکینسون در نتیجه از بین رفتن نورون‌ها می‌باشد (Dias *et al.*, 2013).

بافت‌های مختلف از جمله مغز دارای یک سیستم تنظیم کننده ردکس تیولی هم در درون و هم بیرون سلول می باشند و پروتئین‌های دارای SH را از اکسیداسیون زیاد حفظ می‌کنند. از این جمله، دهنده‌های گروه SH و آنزیم‌های با وزن مولکولی پائین هستند که می‌توانند احیاء گروه‌های SH در پروتئین‌ها را کاتالیز کنند و مسمومیت پرواکسیدانت‌ها که بخش مهمی از رادیکال‌های آزاد هستند را با اتصال گلوپروتئین احیاء (GSH) رفع کنند (Gungor *et al.*, 2011; Deneke, 2000).

تری پتید گلوپروتئین (L-γ-glutamyl-L-Cysteinyglycine) رایج‌ترین 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 اکسیداسیون ۲۳ گونه اکسیژن فعال و رادیکال‌های آزاد درگیر است (Liu *et al.*, 2011). سطوح GSH درون سلولی، پاسخ‌های سلولی به استرس اکسیداتیو را تعدیل کرده و تخلیه GSH، آسیب‌های اکسیداتیو را تشدید می‌کند (Martin and Teismann, 2009). الاژیک اسید، (۲، ۳، ۷، ۸- تترا هیدروکسی - کرومنو (۳، ۴، ۵- سی دی ای) کرومنو- ۵، ۱۰- دیون- با وزن مولکولی ۳۰۲ گرم بر مول)، یک ترکیب فعال زیستی است که کاربردهای دارویی و صنعتی بسیاری دارد (Haddad and Harb, 2005). الاژیک اسید پلی فنلی است که در میوه‌ها از جمله انار، توت فرنگی، تمشک و انگور یافت می‌شود (Ascacio-Valdes *et al.*, 2013). این مولکول دارای خواص متنوعی از جمله خواص آنتی اکسیدانی می باشد (Ascacio-Valdes *et al.*, 2013; Rafieirad *et al.*, 2014a). بسیاری از پلی فنول‌ها در رژیم غذایی، آنتی اکسیدان هستند، و این امکان وجود دارد که مستقیماً در برابر آسیب اکسیداتیو اثر محافظتی

لیتر TCA ۳٪ اضافه شد و مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه نگهداری شد. سپس ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی بعد از سانتریفیوژ برداشته شد. برای ارزیابی گروه تیول از DTNB (معرف المن) استفاده گردید. در یک لوله ی آزمایش ۱ میلی لیتر از بافر تریس (PH=۸/۶) را به ۵۰ میکرو لیتر محلول هموزن بافت اضافه نمودیم و جذب نوری آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری شد (A1). سپس به لوله ها ۲۰ میکرولیتر معرف DTNB اضافه نموده، ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب آن در همان طول موج اندازه گیری گردید (A2). میزان جذب شاهد (حاوی بافر تریس و DTNB) نیز در ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری گردید (B). مقادیر A1, A2, B بدست آمده در رابطه ی ۱ قرار داده و میزان گروه‌های تیولی محاسبه گردید.

رابطه ۱

$$\text{میزان گروه‌های تیول (mM)} = (A2-A1-B) \times 1/0.7 \times 1/0.5 \times 13/6$$

(Mansouri et al., 2013).

۳-۲. تجزیه و تحلیل آماری

داده های این تحقیق به صورت Mean ± SEM ارائه و سپس با روش های مناسب آماری در محیط های نرم افزارهای Excel و SPSS و با استفاده از روش ANOVA یک طرفه و تست پشتیبان LSD آنالیز شدند و تفاوت نتایج بین گروه های مختلف با حداقل $p < 0/05$ معنی دار تلقی گردید.

۳. نتایج و بحث

تمام حیوانات اعمال جراحی استریوتاکسیک را به خوبی تحمل کرده و هیچ گونه مرگ و میری در طول مدت مطالعه مشاهده نشد. و تمامی بافت‌ها در سنجش میزان تیول کاهش معنی داری را با ($p < 0/001$) در هیپوکامپ، استریاتوم و قشر مغز و ($p < 0/05$) در مخچه در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. نتایج تجویز چهارده روزه الاژیک اسید با سه دوز (۱۰، ۲۵ و ۵۰ mg/kg) نشان داد که دوز ۱۰ mg/kg اثر معنی داری در هیچ یک از بافت‌ها در مقایسه با گروه پارکینسونی نداشت ولیکن دوز ۲۵ mg/kg الاژیک اسید سبب افزایش معنی دار میزان تیول در هیپوکامپ و قشر مغز (۰/۰۱)

نمودند (الاژیک اسید +50 mg/kg پارکینسون) (Girish et al., 2012; Rafieirad et al., 2014a);

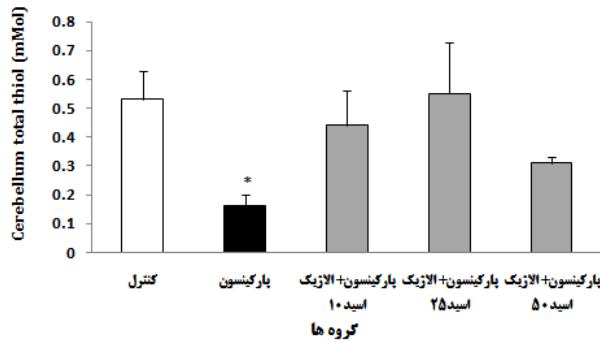
۱-۲. روش انجام عمل جراحی استرنو تاکسیک

ابتدا موش صحرایی وزن شده و سپس با تزریق داخل سفافی ۹۰ mg/kg با ازای هر کیلو گرم وزن بدن کتامین هیدرو کلراید و ۱۰ mg/kg به ازای هر کیلو گرم وزن بدن زیلازین بیهوش شدند (هر دو دارو تولید شرکت آلوسفان هلند). آنگاه موش در دستگاه استرنوتکس قرار گرفت و توسط قطعه دهانی و میله های داخل گوشی بر روی دستگاه ثابت شد و موهای ناحیه پشتی جمجمه تراشیده شدند. توسط پنبه الکلی پوست سر حیوان ضد عفونی شده و یک برش طولی از میان سطح پشتی سر بین دو چشم تا فاصله نقطه سطح پشتی میانی گوش‌ها ایجاد گردید. بافت های پیوندی روی سطح جمجمه زدوده شد و نقطه برگما نمایان گردید. نقطه برگما و لامبدا در یک سطح برابر قرار داده شده و نشانگر دستگاه بر روی آن تنظیم شد. سپس با توجه به مختصات استخراج شده از اطلس جراحی مغز، مختصات (MFB) (با مختصات AP; - ۴/۸ نسبت به نقطه برگما $\pm 1/6$ ، ML، - ۸/۲، DV; مشخص گردید) (Sarkaki et al., 2013). در این مطالعه برای ایجاد مدل حیوانی بیماری پارکینسون از تزریق یک طرفه ۶- هیدروکسی دوپامین در دسته قدامی- میانی مغز (MFB) استفاده شد. طرز تهیه محلول ۶- هیدروکسی دوپامین: ۶- هیدروکسی دوپامین (شرکت سیگما امریکا) با غلظت ۸ میکروگرم در ۲ میکرولیتر سالین نرمال دارای ۰/۰۱ درصد اسید اسکوربیک تهیه شد (Sarkaki et al., 2013).

تهیه الاژیک اسید: الاژیک اسید (شرکت سیگما آلدريج-آلمان) تهیه و پس از حل شدن در نرمال سالین به روش داخل معدی / گاوژ تجویز شد (Rafieirad et al., 2014b).

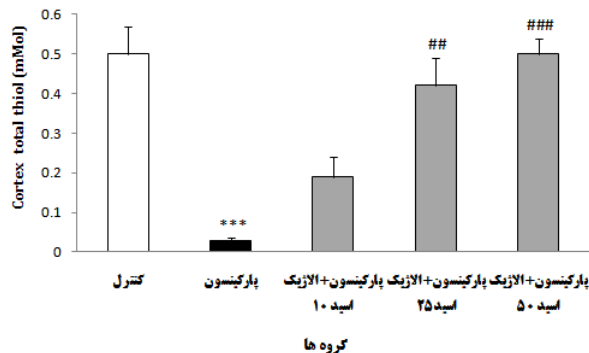
۲-۲. سنجش میزان تیول

در این آزمایش از گروه های ۸ تایی موش استفاده شد و از سر هر موش ۴ بخش کورتکس، مخچه، استریاتوم و هیپوکامپ استخراج گردید. بافت های مورد نظر بلافاصله وزن شده و با ازاء هر ۱ گرم بافت ۱۰ میلی لیتر محلول ۰/۱٪ KCL اضافه شد و هموزن گردید. از محلول هموزن شده ۰/۵ میلی لیتر برداشته شده و ۲/۵ میلی



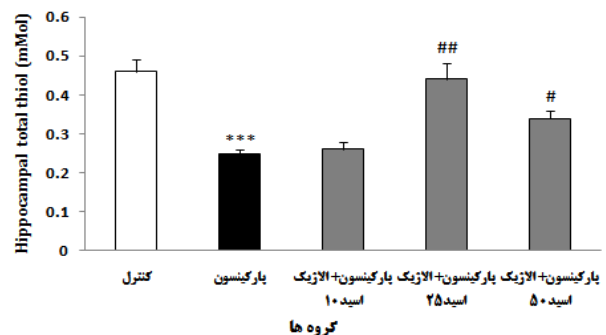
شکل ۳. مقایسه میانگین \pm انحراف معیار از میانگین گروه تیول (-SH) درون بافت قشر مغز بین گروه‌های کنترل، پارکینسون و پارکینسون دریافت کننده الایزیک اسید (۱۰، ۲۵، ۵۰ mg/kg). علامت (*) بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه پارکینسون و کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه پارکینسون و پارکینسون درمان شده با الایزیک اسید است.

در این تحقیق همچون نتایج تحقیقات گذشته پارکینسون سبب کاهش معنی‌دار میزان تیول در بافت‌های مغزی گردید و در تحقیق حاضر تجویز پلی فنول الایزیک اسید بویژه در دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ mg/kg توانست این کاهش را جبران نموده و سبب افزایش میزان تیول گردد. مشخص شده است که مرگ نورون‌های دوپامین‌ساز مهمترین شاخصه بیماری پارکینسون در مقیاس سلولی است (Henchcliffe and Beal, 2008).

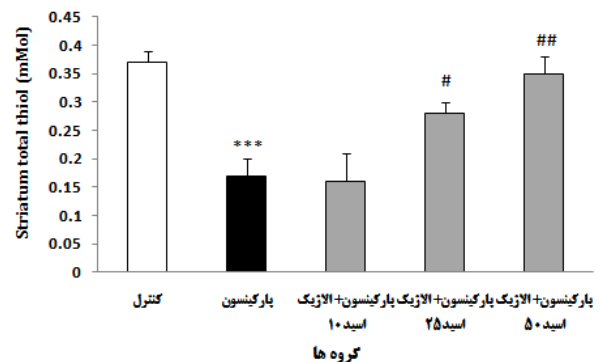


شکل ۴. مقایسه میانگین \pm انحراف معیار از میانگین گروه تیول (-SH) درون بافت مخچه بین گروه‌های کنترل، پارکینسون و پارکینسون دریافت کننده الایزیک اسید (۱۰، ۲۵، ۵۰ mg/kg). علامت (*) بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه پارکینسون و کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه پارکینسون و پارکینسون درمان شده با الایزیک اسید است.

و استریاتوم ($p < 0.05$) و گردید ولی این افزایش درون بافت مخچه معنی‌دار نبود. در تجویز دوز ۵۰ mg/kg نیز نسبت به گروه پارکینسونی در سنجش میزان تیول افزایش قابل ملاحظه ای در بافت‌های هیپوکامپ، استریاتوم و قشر مغز به ترتیب با ($p < 0.05$)، ($p < 0.01$) و ($p < 0.001$) مشاهده گردید (شکل ۱ تا ۴).



شکل ۱. مقایسه میانگین \pm انحراف معیار از میانگین گروه تیول (-SH) درون بافت هیپوکامپ بین گروه‌های کنترل، پارکینسون و پارکینسون دریافت کننده الایزیک اسید (۱۰، ۲۵، ۵۰ mg/kg). علامت (*) بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه پارکینسون و کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه پارکینسون و پارکینسون درمان شده با الایزیک اسید است.



شکل ۲. مقایسه میانگین \pm انحراف معیار از میانگین گروه تیول (-SH) درون بافت استریاتوم بین گروه‌های کنترل، پارکینسون و پارکینسون دریافت کننده الایزیک اسید (۱۰، ۲۵، ۵۰ mg/kg). علامت (*) بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه پارکینسون و کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه پارکینسون و پارکینسون درمان شده با الایزیک اسید است.

افزایش می‌دهد (Han et al., 2006)، حال اینکه بیشترین تیول مغزی گلوپاتیون همراه با گلوپاتیون پراکسیداز عمدتین نقش محافظتی در برابر پراکسید و گونه‌های اکسیژن فعال در سلول را دارا هستند (Damier et al., 1993).

۴. نتیجه گیری

تجویز پلی فنول الاژیک اسید بویژه در دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ توانست کاهش تیول بافتی را جبران نموده و سبب افزایش میزان تیول که فاکتوری مهم جهت مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از بیماری‌های نورودژنراتیو است گردد که احتمالاً علاوه بر اثر آنتی اکسیدانی با تاثیر بر فعالیت آنزیمهای اکسیدانی و بیان ژن‌های دخیل در سنتز گلوپاتیون از اکسیده شدن گلوپاتیون و نیز پروتئین-های حاوی گروه‌های تیول جلوگیری کرده و با افزایش تیول سبب بهبود استرس اکسیداتیو ناشی از پارکینسون می‌گردد و می‌توان از این ماده به عنوان مکمل دارویی جهت جلوگیری از پیشروی بیماری پارکینسون استفاده نمود.

۵. تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند که از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه که در اجرای این تحقیق ما را همراهی کردند، تشکر و قدردانی نمایند.

۶. منابع

- Ascacio-Valdes, J., E. Burboa, A. F. Aguilera-Carbo, M. Aparicio, R. Perez-Schmidt, R. Rodriguez, C. N. Aguilar, and F. Aguilera. 2013. Antifungal ellagitannin isolated from *Euphorbia antisiphilitica* Zucc. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine.*, 3: 41-46
- Balarajah, S., and A. E. Cavanna. 2013. The pathophysiology of impulse control disorders in Parkinson disease. *Behavioural neurology* 26: 237-244
- Damier, P., E. C. Hirsch, P. Zhang, Y. Agid, and F. Javoy-Agid. 1993. Glutathione peroxidase, glial cells and Parkinson's disease. *Neuroscience* 52: 1-6.

علائم سلولی پارکینسون را در لوله آزمایش و نیز در مدل‌های حیوانی تولید می‌کند (Esmaeilzadeh et al., 2012). در مدل تجربی پارکینسون، کاهش گلوپاتیون مرتبط با اکسیداسیون آن و در نتیجه استرس اکسیداتیو است (Drechsel et al., 2007). ناحیه جسم سیاه و بسیاری کاتکول آمین‌ها و به ویژه دوپامین منبع مهمی برای اثر رادیکال‌های آزاد در مغز می‌باشند (Lovell et al., 2000).

در جسم سیاه بیماران فوت شده با این بیماری مقدار گلوپاتیون کاهش نشان داده، و گلوپاتیون اکسید شده - افزایش داشته است (Dias et al., 2013). مصرف سریع گلوپاتیون در مغز یک عامل خطرناک برای افزایش مقدار رادیکال آزاد هم‌چون H₂O₂ بوده و بروز استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (Martin and Teismann, 2009). کاهش تبدیل گلوپاتیون اکسید شده به گلوپاتیون احیاء و کاهش سنتز از نو گلوپاتیون در اثر استرس اکسیداتیو در بیماری پارکینسون گزارش داده شده است (Dauer and Przedborski, 2003). مطالعات نشان داده، فلاونوئیدها با خود اکسیداسیون سبب تبدیل گلوپاتیون اکسید شده به فرم احیاء می‌شوند و نیز با منع اکسیده شدن پروتئین‌های تیولی سطح تیول را بالا نگه می‌دارند (Moskaug et al., 2005). در مطالعات گذشته ما هم‌چون بسیاری مطالعات گذشته اثر آنتی اکسیدانی پلی فنول الاژیک‌اسید به خوبی مشخص شده است (Rafieirad., Seeram et al., 2005; 2014). فلاونوئیدها با مهار و به دام- انداختن رادیکال‌های آزاد، از استرس اکسیداتیو جلوگیری کرده و با نقش تعدیلی در تنظیم غلظت گلوپاتیون از پیشروی بیماری‌های نورودژنراتیو جلوگیری می‌کنند (Moskaug et al., 2005). غلظت نسبتاً کم از فلاونوئیدها رونویسی یک ژن مهم برای سنتز گلوپاتیون در سلول‌ها را تحریک می‌کند (Myhrstad et al., 2002). مطالعات گذشته نشان داده است که الاژیک اسید سطح کاهش یافته گلوپاتیون در کبد را بهبود بخشیده (Ozkaya et al., 2010)، و نیز فلاونوئیدهای مشابه در مدل پارکینسونی سبب بهبود و افزایش میزان تیول مغزی شده اند (Mansouri et al., 2013). هم‌چنین مشخص شده‌است که الاژیک اسید فعالیت سه آنزیم آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز و گلوپاتیون پراکسیداز را که میزانشان در بیماری‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد تغییر می‌یابند

- chromatography. *International Research Journal of Pharmacy* 3: 201-204
- Liu, S., T. H. Zeng, M. Hofmann, E. Burcombe, J. Wei, R. Jiang, J. Kong, and Y. Chen. 2011. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress. *ACS nano* 5: 6971-6980
- Lovell, M. A., C. Xie, and W. R. Markesbery. 2000. Acrolein, a product of lipid peroxidation, inhibits glucose and glutamate uptake in primary neuronal cultures. *Free radical biology & medicine* 29: 714-720
- Mansouri, M. T., Y. Farbood, M. J. Sameri, A. Sarkaki, B. Naghizadeh, and M. Rafeirad. 2013. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *Food chemistry* 138: 1028-1033
- Martin, H. L., and P. Teismann. 2009. Glutathione--a review on its role and significance in Parkinson's disease. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 23: 3263-3272
- Moskaug, J. O., H. Carlsen, M. C. Myhrstad, and R. Blomhoff. 2005. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *The American journal of clinical nutrition* 81: 277S-283S
- Myhrstad, M. C., H. Carlsen, O. Nordstrom, R. Blomhoff, and J. O. Moskaug. 2002. Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the gamma-glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free radical biology & medicine* 32: 386-393
- Ozkaya A, Yılmaz Ö, Sahin Z, Yuce A, and C. S. 2010. The Effects of Ellagic Acid on Some Biochemical Parameters in the Liver of Rats Against Oxidative Stress Induced by Aluminum. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 16: 263-268
- Rafieirad M, Ghasemzadeh Dehkordi M, and R. L. 2014a. The Effect of Ellagic Acid on Memory and Pain Induced by Brain Ischemia in Adult Male Rats. *Zanjan University of Medical Sciences Journal* 22: 33-42
- Rafieirad M, and G.-D. Kh. 2014. Effect of ellagic acid on oxidative stress duo to brain ischemia/hypoperfusion in male rat. *Herbal Drugs* 5 (1):1-6.
- Rafieirad M, Zangeneh Nezhad Z, and A. E. 2014b. Neuroprotective Effects of Oral Ellagic Acid on Locomotor Activity and Anxiety-Induced
- Dauer, W., and S. Przedborski. 2003. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 39 (6):889-909.
- Deneke, S. M. 2000. Thiol-based antioxidants. *Current topics in cellular regulation* 36: 151-180
- Dias, V., E. Junn, and M. M. Mouradian. 2013. The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's disease* 3: 461-491
- Drechsel, D. A., L. P. Liang, and M. Patel. 2007. 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced alterations of glutathione status in immortalized rat dopaminergic neurons. *Toxicology and applied pharmacology* 220: 341-348.
- Esmailzadeh E , Gardaneh M, and V. H.R. 2012. The Concomitant Effect of Shikonin and Glutathione Peroxidase-1 on Enhanced Survival of Dopaminergic Neurons against Parkinsonian Toxicity. *Journal of Cell & Tissue* 3: 153-194
- Girish, C., V. Raj, J. Arya, and S. Balakrishnan. 2013. Involvement of the GABAergic system in the anxiolytic-like effect of the flavonoid ellagic acid in mice. *European journal of pharmacology* 710: 49-58
- Golembiowska, K., A. Dziubina, M. Kowalska, and K. Kaminska. 2008. Paradoxical effects of adenosine receptor ligands on hydroxyl radical generation by L-DOPA in the rat striatum. *Pharmacological reports : PR* 60: 319-330
- Gungor, N., M. Ozyurek, K. Guclu, S. D. Cekic, and R. Apak. 2011. Comparative evaluation of antioxidant capacities of thiol-based antioxidants measured by different in vitro methods. *Talanta* 83: 1650-1658.
- Haddad, J. J., and H. L. Harb. 2005. L-gamma-Glutamyl-L-cysteinyl-glycine (glutathione; GSH) and GSH-related enzymes in the regulation of pro- and anti-inflammatory cytokines: a signaling transcriptional scenario for redox(y) immunologic sensor(s)? *Molecular immunology* 42: 987-1014
- Han, D. H., M. J. Lee, and J. H. Kim. 2006. Antioxidant and apoptosis-inducing activities of ellagic acid. *Anticancer research* 26: 3601-3606
- Henchcliffe, C., and M. F. Beal. 2008. Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis. *Nature clinical practice Neurology* 4: 600-609
- Krishna Veni N, Meyyanathan S.N, and S. B. 2012. Analysis of ellagic acid in fresh and processed fruit products by high performance thin layer

- by Ischemia/Hypoperfusion in Rat. *Advances in Environmental Biology* 8 (1):83-88.
- Sarkaki A, Norooz Zare F, Farbood Y, and P. A.A. 2013. Impaired movements in 6-OHDA induced Parkinson's rat model improves by pomegranate seed hydroalcoholic extract. *HealthMED journal* 7:348-358.
- Seeram, N. P., L. S. Adams, S. M. Henning, Y. Niu, Y. Zhang, M. G. Nair, and D. Heber. 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of nutritional biochemistry* 16: 360-367.
- Uzar, E., H. Alp, M. U. Cevik, U. Firat, O. Evliyaoglu, A. Tufek, and Y. Altun. 2012. Ellagic acid attenuates oxidative stress on brain and sciatic nerve and improves histopathology of brain in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology.*, 33: 567-574