

بررسی اثرات سالین و عصاره سماق فعال شده با پلاسما بر رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده با تزریق درون بطنی- مغزی استرپتوزوتوسین در مدل حیوانی بیماری آلزایمر

بیبا کیانی لاریمی^۱، اکبر حاجی زاده مقدم^۱، فرشاد صحبت زاده^۲ و صدیقه خانجانی جلودار^۱

^۱ گروه علوم جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

^۲ گروه فیزیک اتمی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

*آدرس رایانامه نویسنده مسئول: bita.kiani.larimi@gmail.com

چکیده

آلزایمر نوعی تحلیل نورونی پیشرونده و چند عاملی است که با اختلالات رفتاری همراه می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سالین فعال شده با پلاسما و عصاره سماق فعال شده با پلاسما بر رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده با استرپتوزوتوسین در موش صحرایی مدل بیماری آلزایمر می‌باشد. در این پژوهش، ۳۵ سر موش صحرایی نژاد ویستار به پنج گروه تقسیم شدند: گروه کنترل و گروه‌های آلزایمری دریافت کننده سالین، سالین فعال شده با پلاسما، عصاره سماق و عصاره سماق فعال شده با پلاسما. مدل آلزایمر با تزریق درون بطنی-مغزی استرپتوزوتوسین القاء شد. محلول‌های فعال شده با پلاسما توسط دستگاه تخلیه سد دی الکتریک با استفاده از گاز ورودی هوا تهیه و به مدت ۲۱ روز به صورت خوراکی گاوژ شدند. در نهایت رفتارهای شبه اضطرابی با استفاده از تست ماز صلیبی بالاتر از زمینه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد سالین فعال شده با پلاسما و عصاره سماق فعال شده با پلاسما به طور معناداری درصد مدت زمان و تعداد دفعات ورود به بازوی را افزایش می‌دهد که نشان دهنده کاهش رفتارهای شبه اضطرابی در مدل حیوانی بیماری آلزایمر است.

کلید واژه: پلاسمای سرد، محلول فعال شده با پلاسما، آلزایمر، اضطراب.

Evaluation of the effects of plasma-activated saline (PAS) and sumac extract (PASE) on anxiety-like behaviors induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin in animal model of Alzheimer's disease

B. Kiani Larimi¹, A. Hajizadeh Moghaddam¹, F. Sohbatzadeh² and S. Khanjani Jelodar¹

¹ Dept. of Animal Science, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

² Department of Atomic and Molecular Physics, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

*corresponding e-mail: bita.kiani.larimi@gmail.com

Abstract

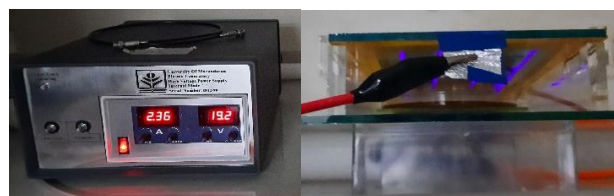
Alzheimer's is a progressive and multifactorial neurodegenerative disease associated with behavioral disorders. The aim of this study was investigating the anti-anxiety effects of plasma-activated saline (PAS) and plasma-activated sumac extract (PASE) on rat model of Alzheimer's disease. In this research, 35 Wistar rats were divided into five groups: control group and Alzheimer's groups receiving saline, plasma-activated saline (PAS), sumac extract (SE) and plasma-activated sumac extract (PASE). The Alzheimer's model was induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin (STZ). Plasma-activated solutions were prepared by dielectric barrier discharge (DBD) device using air intake gas and gavaged orally for 21 days. Finally, anxiety-like behaviors were evaluated using by Elevated Plus Maze (EPM) test. The results of this study showed that PAS and PASE significantly increased the percentage of duration and frequency of open-arm entry, which indicates a reduced the anxiety-like behaviors in the animal model of Alzheimer's disease.

Keywords: Cold Plasma, Plasma activated solution, Alzheimer, Anxiety

مقدمه

حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه مازندران با کد اخلاق زیستی IR.UMZ.REC.1399.013 انجام شده است. در این پژوهش، موش‌ها به ۵ گروه کنترل، بیمار تیمار شده با سالین، بیمار تیمار شده با سالین فعال شده با پلاسما (PAS)، بیمار تیمار شده با عصاره‌ی سماق (SE) و بیمار تیمار شده با عصاره‌ی سماق فعال شده با پلاسما (PASE) تقسیم شدند. گروه کنترل به مدت ۲۱ روز به صورت گاوژ آب مقطر دریافت نمودند و در سایر گروه‌ها بیماری آلزایمر با انجام جراحی و تزریق درون بطنی-مغزی استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) القاء شد، سپس به مدت ۲۱ روز محلول‌های سالین، سالین فعال شده با پلاسما، عصاره سماق (دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عصاره سماق فعال شده با پلاسما را به صورت گاوژ دریافت کردند.

محلول‌های پلاسمای مورد استفاده در این پژوهش، با استفاده از دستگاه DBD سطحی ساخت دانشگاه مازندران با گاز ورودی هوا، تهیه شد. ۸ سی‌سی از محلول سالین و ۸ سی‌سی از عصاره‌ی سماق دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در پلیت‌های شیشه‌ای قرار داده شدند و هرکدام به صورت جداگانه در فاصله‌ی ۱۲ mm از منبع، تعبیه شده و با ولتاژ $(V) 18.5 \pm 0.7$ و جریان $(A) 2.4 \pm 0.3$ ، به مدت ۵ دقیقه تحت اثر پلاسمای هوا قرار گرفتند. دارو در تمام مدت آزمایش به صورت تازه و روزانه ساخته می‌شد و برای گاوژ حیوانات گروه‌های مبتلا به آلزایمر تیمار شده با محلول‌های فعال شده با پلاسما، مورد استفاده قرار می‌گرفت.



شکل ۱. تولید پلاسمای هوا توسط دستگاه پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک (DBD)

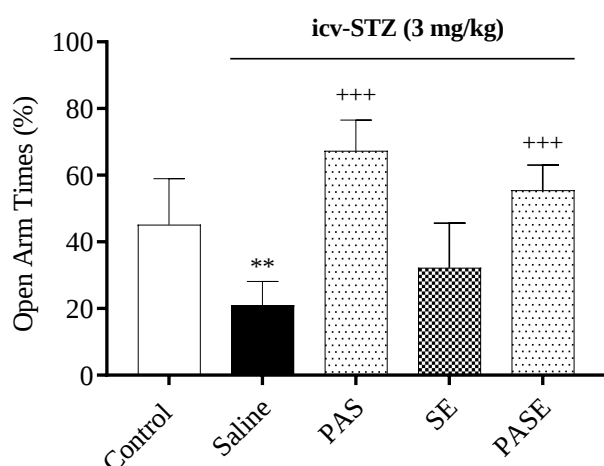
بیماری آلزایمر (AD)، نوعی اختلال عصبی پیشرونده‌ی چندعاملی است که عمدتاً با رسوب پروتئین آمیلوئید- β ($A\beta$)، فسفوریلاسیون پروتئین تاو، افزایش تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن در نواحی مختلف مغز، به آرامی موجب اختلال در حافظه و ایجاد رفتارهای شبه اضطرابی می‌شود [۱،۲،۳].

از منظر فیزیک، پلاسما به عنوان حالت چهارم ماده در کنار مواد جامد، گازها و مایعات در نظر گرفته می‌شود [۴]. پلاسمای سرد اتمسفری (CAP) منبع گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن و نیتروژن است که قادراند زنجیره‌ای از واکنش‌های ثانویه ایجاد کنند و درواقع همانند شمشیرهایی دولبه با توجه به موارد مختلفی، هم می‌توانند نقش سمی داشته باشند و هم می‌توانند نقش‌های مفیدی را در سیستم‌های بیولوژیکی ایفا کنند [۵]. امروزه "پزشکی پلاسما" به عنوان یک موضوع پرکاربرد تحقیقاتی جهت درمان بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های عصبی مورد توجه قرار گرفته است [۶]. مطالعات نشان می‌دهد کاربرد درمانی CAP وابسته به دوز بوده و می‌تواند به طور مستقیم و یا غیرمستقیم با استفاده از واسطه‌های فعال شده با پلاسما مورد استفاده قرار گیرد. نتایج تحقیقات اخیر حاکی از آن است که استفاده از پلاسما جهت درمان بیماری‌های عصبی همچون آلزایمر می‌تواند چشم انداز امیدوارکننده‌ای را به دنبال داشته باشد [۷،۸]. در این پژوهش از محلول سالین قابل تزریق و عصاره سماق فعال شده با CAP، جهت ارزیابی رفتارهای شبه اضطرابی مدل حیوانی بیماری آلزایمر استفاده خواهد شد.

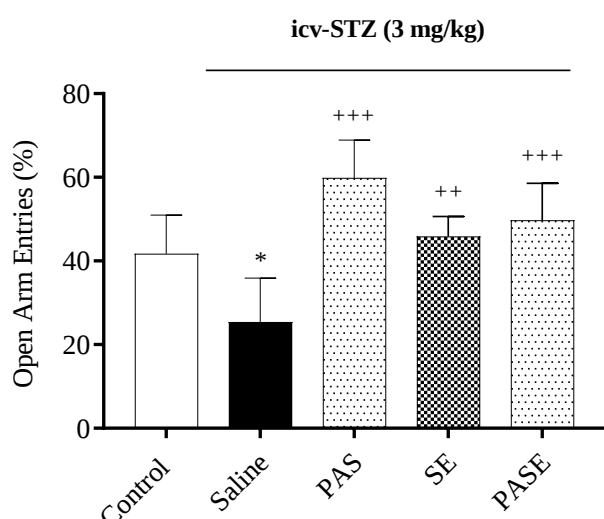
مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم با دوره‌ی روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای 24 ± 3 درجه سانتی‌گراد در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شد و در طول دوره‌ی آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی دارند. تمامی آزمایشات بر اساس منشور اخلاق زیستی کار با

نمودار ۲ نشان می‌دهد که درصد ورود به بازوی باز (%OAE) در گروه آلزایمر به حد قابل توجهی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. ($P < 0.01$) و در گروه‌های تیمار با SE، PAS و PASE نسبت به گروه بیمار، افزایش معنی‌داری ($P < 0.001$) در %OAE مشاهده شده است.



نمودار ۱. اثر سالیین فعال شده با پلاسما و عصاره سماق فعال شده با پلاسما بر شاخص درصد زمان سپری شده در بازوی باز در تست ماز صلیبی بالاتر از زمینه در مدل حیوانی آلزایمر.



نمودار ۲. اثر سالیین فعال شده با پلاسما و عصاره سماق فعال شده با پلاسما بر شاخص درصد ورود به بازوی باز در تست ماز صلیبی بالاتر از زمینه در مدل حیوانی آلزایمر.

سرانجام پس از طی دوره‌ی ۲۱ روزه‌ی آزمایش، حیوانات با تست رفتاری ماز صلیبی بالاتر از زمینه جهت بررسی رفتارهای شبه اضطرابی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. دستگاه مورد استفاده یک ماز چوبی به شکل بعلاوه است که دارای دو بازوی باز بدون دیواره و دو بازوی بسته با دیوارهایی به ارتفاع ۴۰ cm می‌باشد. بازوهای باز به صورت عمود به بازوهای بسته در ناحیه مرکز، متصل هستند و کل این مجموعه بر روی پایه‌های به ارتفاع ۵۰ cm از سطح زمین قرار دارد [۹]. هر موش در مرکز دستگاه گذاشته شده و به مدت ۵ دقیقه فرصت خواهد داشت که در بازوهای باز و بسته حرکت کند. در نهایت درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز (%OAT) و درصد ورود حیوان به بازوی باز (%OAE) به عنوان فاکتورهای استاندارد اندازه‌گیری اضطراب، به این شکل محاسبه شدند [۱۰]:

$$\%OAT = \frac{\text{مدت زمان گذرانده شده بازوی باز}}{\text{مدت زمان گذرانده شده بازوی باز} + \text{مدت زمان گذرانده شده بازوی بسته}} \times 100$$

$$\%OAE = \frac{\text{تعداد ورود به بازوی باز}}{\text{تعداد ورود به بازوی باز} + \text{تعداد ورود به بازوی بسته}} \times 100$$

بحث

در محلول‌های فعال شده با پلاسما مورد استفاده در این پژوهش، گونه‌های یونی با نیمه عمر نسبتاً بلند همچون NO_2^- ، NO_3^- ، O_2 ، O_2^- ، O_3 و همچنین گونه‌هایی با نیمه عمر نسبتاً کوتاه از جمله H_2O_2 ، OH^- ، ONOOH ، H^+ ، O_2NOOH تولید می‌شوند که نقش اصلی این روش درمانی را در اثرگذاری بر بافت‌های بیولوژیکی ایفا می‌کنند [۱۱].

باتوجه به نمودار ۱، درصد زمان سپری شده در بازوی باز (%OAT) در گروه آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی‌داری کاهش ($P < 0.01$) یافت. در حالیکه در گروه‌های بیمار تیمار شده با PAS و PASE نسبت به گروه بیمار، افزایش معناداری ($P < 0.001$) مشاهده شده است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد محلول های عصاره سماق و سالیین که با دوز کم و مناسب پلاسما فعال شده اند، می توانند به واسطه ی تقویت سیستم آنتی اکسیدانی سبب کاهش رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده در بیماری آلزایمر شده و به عنوان محلول درمانی پیشنهادی در آینده مطرح گردند.

مرجع ها

[7] Karakas, E., Munyanyi, A., Greene, L., & Laroussi, M. (2010). Destruction of α -synuclein based amyloid fibrils by a low temperature plasma jet. *Applied Physics Letters*, 97(14), 143702.

[8] Xiong, Z. (2018). Cold Atmospheric Plasmas: A Novel and Promising Way to Treat Neurological Diseases. *Trends in biotechnology*, 36(6), 582-583.

[9] Braun, A. A., Skelton, M. R., Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2011). Comparison of the elevated plus and elevated zero mazes in treated and untreated male Sprague–Dawley rats: effects of anxiolytic and anxiogenic agents. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 97(3), 406-415.

[10] Rodgers, R. J., & Johnson, N. J. T. (1995). Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacology biochemistry and behavior*. 52(2), 297-303.

[11] Graves, D. B. (2012). The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 45(26), 263001.

[1] Kametani, F., & Hasegawa, M. (2018). Reconsideration of amyloid hypothesis and tau hypothesis in Alzheimer's disease. *Frontiers in neuroscience*, 12, 25.

[2] Moghaddam, A. H., & Zare, M. (2018). Neuroprotective effect of hesperetin and nano-hesperetin on recognition memory impairment and the elevated oxygen stress in rat model of Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 1096-1101.

[3] Pentkowski, N. S., Berkowitz, L. E., Thompson, S. M., Drake, E. N., Olguin, C. R., & Clark, B. J. (2018). Anxiety-like behavior as an early endophenotype in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 61, 169-176.

[4] Von Woedtke, T., Schmidt, A., Bekeschus, S., Wende, K., & Weltmann, K. D. (2019). Plasma medicine: a field of applied redox biology. *in vivo*, 33(4), 1011-1026.

[5] Rezaeinezhad, A., Eslami, P., Mirmiranpour, H., & Ghomi, H. (2019). The effect of cold atmospheric plasma on diabetes-induced enzyme glycation, oxidative stress, and inflammation; in vitro and in vivo. *Scientific reports*, 9(1), 1-11.

[6] Yan, X., Ouyang, J., Zhang, C., Shi, Z., Wang, B., & Ostrikov, K. K. (2019). Plasma medicine for neuroscience—an introduction. *Chinese Neurosurgical Journal*, 5(1), 1-8.