مقاله پژوهشی

تاثیر نرولیدول بر میزان مالون دی آلدئید و تغییرات بیانی عامل نوروتروفیک مشتق از مغز در مدل آلزایمر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

پیمان طاهری[1]، زهرا حاج ابراهیمی[2*]، پریچهره یغمایی[3]، کاظم پریور[3]

۱- دکتری تخصصی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲- دانشیار، پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم تحقیقات و فناوری، تهران، ایران
۳- استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.22, No.1, Spring 2024

چکیده

مقدمه: آلزایمر عامل زوال عصبی است که استرس اکسیداتیو نقش مهمی در ایجاد و پیشرفت آن دارد. عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) نقش مهمی در بقا و رشد نورون‌ها ایفا می‌کند. تاثیر نرولیدول که ترکیبی گیاهی با ویژگی آنتی‌اکسیدانی است، بر بیان ژن BDNF و میزان مالون دی آلدئید (MDA) در مدل آلزایمر القا شده با بتاآمیلوئید در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بررسی شد.

روش کار: تعداد ۴۸ سر موش صحرایی به هشت گروه شامل کنترل، شم، مدل آلزایمری، حلال دارو، تیمار با دونپزیل، تیمار با نرولیدول دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه پیشگیری تیمار شده با نرولیدول قبل از القای آلزایمر تقسیم شدند. تغییرات بیانی ژن BDNF ازطریق واکنش PCR زمان واقعی و میزان مالون دی آلدئید به کمک کیت سنجش پراکسیداسیون لیپید در بافت هیپوکامپ با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی بررسی شد.

یافته‌ها: القای آلزایمر موجب کاهش بیان ژن BDNF و افزایش MDA در گروه آلزایمر در مقایسه با گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). دونپزیل و نرولیدول در هر دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ در گروه‌های تیمار با دونپزیل، تیمار با نرولیدول و گروه پیشگیری موجب کاهش علایم آلزایمر از طریق افزایش بیان ژن BDNF و کاهش MDA در مقایسه با گروه آلزایمر شد (P<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: داده‌ها حاکی از خواص آنتی‌اکسیدانی نرولیدول و تاثیر آن در بهبود بیماری آلزایمر و آسیب های ناشی از آن است و احتمالاً می‌تواند در پیشگیری آلزایمر در افراد مستعد و با سابقه فامیلی آلزایمر موثر باشد.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، نرولیدول، BDNF، مالون دی آلدئید

Pars J Med Sci 2024;22(1):23-30

مقدمه

آلزایمر یکی از مهمترین بیماری‌های نورودژنراتیو در سیستم عصبی افراد مسن و عامل ۷۰ درصد موارد زوال عقل در سراسر جهان با شیوع ۲۴/۳ میلیون نفر است. این بیماری یک سندرم مزمن است که باعث زوال پیش‌رونده سیستم عصبی مرکزی و نقص پیش‌رونده در تصمیم‌گیری، زبان، حافظه، یادگیری، جهت‌گیری و قضاوت می‌شود [۱]. عامل خطر اصلی برای آلزایمر افزایش سن است. با این حال، ورزش کردن می‌تواند موجب کاهش میزان زوال عقل شود [۱، ۲]. آنزیم کولین استراز یک هدف درمانی مهم برای این بیماری است. اعتقاد بر این است که علت اولیه بیماری آلزایمر کاهش تولید استیل کولین است [۳، ۴]. در بیماری آلزایمر مقدار استیل کولین که یکی از واسطه‌های شیمیایی مداخله‌گر در حافظه است، کم می‌شود و باعث آسیب نورون‌های کولینرژیک مغز و از دست دادن انتقال عصبی می‌شود. این مورد یکی از دلایل اصلی کاهش عملکرد شناختی در بیماران مبتلا به آلزایمر محسوب می‌شود [۳، ۴]. بنابراین، یکی از راهبردهای درمانی بالقوه، افزایش مقادیر کولینرژیک در مغز با

* نویسنده مسئول، نشانی: دانشیار، پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، شهرک غرب، خ مهستان، کوچه پانزدهم (هوافضا)، پژوهشگاه هوافضا، تهران، ایران.
تلفن: ۸۸۳۶۶۰۳۰-۰۲۱؛ فاکس: ۸۸۳۶۲۰۱۱-۰۲۱ پست الکترونیک: hajebrahimi@ari.ac.ir
دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۹ اصلاح: ۱۴۰۳ /۰۳/۲۰ پذیرش:۱۴۰۳/۰۶/۱۷

مهار فعالیت بیولوژیکی آنزیم استیل کولین استراز است. برای محدود کردن فرایند تخریب استیل کولین از مهارکننده‌های این آنزیم استفاده می‌شود که با افزایش غلظت استیل کولین، عملکرد سلول‌های عصبی را ارتقا می‌دهد [۵].

عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) نیز نقش مهمی در بقا و رشد نورون‌ها ایفا می‌کند. این عامل از اعضای خانواده نوروتروفین‌ها بوده، به عنوان تعدیل‌کننده انتقال دهنده پیام عصبی عمل می‌کند و در انعطاف‌پذیری عصبی که در یادگیری و حافظه ضروری است، نقش دارد. BDNF گسترده‌ترین نوروتروفین در سیستم عصبی مرکزی است و به میزان زیادی در قشر جلوی مغز و هیپوکامپ بیان می‌شود [۶، ۷].

سنتز و تجمع پیش‌رونده بتاآمیلوئید، یک قطعه پروتئولیتیک مشتق شده از پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید، در بخش خارج سلول‌های مغزی عامل حیاتی دیگری است که در پاتوژنز بیماری آلزایمر دخیل است [۸]. علاوه بر این، تغییرات ساختاری پروتیین تائو (پروتیین τ) یک جنبه مهم دیگر از آسیب‌شناسی بیماری آلزایمر است و هیپرفسفوریلاسیون آن منجر به تشکیل گره‌های نوروفیبریلاری پروتئین τ در بخش درون سلولی آکسون نورون‌ها می‌شود که خود باعث تخریب عصبی و از بین رفتن ارتباط نورون‌ها می‌شود [۸].

استرس اکسیداتیو در ایجاد بیماری آلزایمر و تشکیل پلاک‌های بتاآمیلوئیدی و نوروفیبریلارهای پروتئین τ نقش اساسی دارد. استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل بین آنتی‌اکسیدان‌ها و اکسیدان‌ها به نفع اکسیدان‌ها است. این عدم تعادل می‌تواند در نتیجه افزایش رادیکال‌های آزاد یا کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی رخ دهد. رادیکال‌های آزاد گونه‌ای حاوی یک یا چند الکترون جفت نشده در لایه بیرونی خود هستند. منبع اصلی رادیکال‌های آزاد قوی، کاهش اکسیژن مولکولی در آب است که در ابتدا با تولید رادیکال سوپراکسید و سپس افزودن یک الکترون، پراکسید هیدروژن تولید می‌کند. کاهش پراکسید هیدروژن باعث تولید رادیکال‌های هیدروکسیل بسیار واکنش‌پذیر به نام گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species, ROS) می‌شود که می‌توانند با لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و سایر مولکول‌ها واکنش داده و ساختار و عملکرد آن‌ها را تغییر دهند. مغز نیز به عنوان یک اندام بسیار آسیب‌پذیر به دلیل ترکیبات آن، تحت تأثیر ROS قرار می‌گیرد. مغز با وجودی که مصرف اکسیژن بالایی دارد، به میزان زیادی از لیپیدهایی تشکیل شده‌است که به راحتی قابل اکسید شدن هستند [۹]. پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع منجر به تشکیل مالون دی آلدئید (MDA) می‌شود که یک دی آلدئید سه کربنه است و اغلب به عنوان نشانگر زیستی برای استرس اکسیداتیو در بسیاری از مشکلات سلامتی کاربرد دارد. MDA محصول جانبی پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده، متابولیسم اسید آراشیدونیک و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از آسیب اکسیداتیو است. به عبارت دیگر، افزایش رادیکال‌های آزاد در اندام‌ها باعث پراکسیداسیون لیپیدی و تولید بیش از حد MDA می‌شود. تجمع MDA که نشانه افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن است، به عنوان نشانگر استرس اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود [۱۰].

امروزه گیاهان دارویی و اسانس‌ها به دلیل این که از نظر بیولوژیکی بسیار فعال و دارای ترکیبات شیمیایی منحصر به فرد و عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای غیرگیاهی هستند، به طور فزاینده‌ای در پزشکی مدرن مورد توجه واقع شده‌اند. اسانس‌ها مخلوطی از ترکیبات معطر و فرار هستند که بسیار سبک بوده و وزن مولکولی آن‌ها معمولاً کمتر از ۵۰۰ دالتون است. این مواد به دلیل وزن مولکولی کم و محلول بودن در چربی می توانند به راحتی در حلال‌ها و لیپیدهای آلی حل شده و از غشای سلولی عبور کنند [۱۱، ۱۲]. نرولیدول روغن زرد رنگی است که در گیاهانی همچون زنجبیل، نارنج، گل لوندر و یاسمن وجود دارد و از لحاظ خواص شیمیایی جزء خانواده سزکوئی‌ترپن‌ها (Sesquiterpene) دسته‌بندی می‌شود [۱۳]. دانشمندان خواص بسیاری برای نرولیدول متصور هستند، از جمله مهمترین آن‌ها فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد درد، ضد التهاب و همچنین آنتی کولین استرازی است که موجب مهار آنزیم استیل کولین استراز و افزایش میزان استیل کولین می‌شود [۱۴] با این اوصاف، به نظر می‌رسد این ماده می‌تواند در درمان بیماری های نورودژنرتیو از جمله آلزایمر کارآمد باشد.

هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر نرولیدول بر میزان مالون دی آلدئید و تغییرات بیانی ژن عامل نوروتروفیک مشتق از مغز در مدل آلزایمر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

روش کار

در مطالعه حاضر ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ ±۲۵ گرم از انستیو پاستور تهران خریداری و در حیوان خانه دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران در شرایط آزمایشگاهی استاندارد، سیکل ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت ۱۰ ± ۵۰ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

موش‌ها به‌صورت تصادفی در هشت گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

- گروه کنترل (Control): حیواناتی که تحت جراحی یا تیمار دارویی قرار نگرفتند.
- گروه مدل آلزایمر (AD): حیواناتی که بتا آمیلوئید را به میزان دو میکرولیتر به صورت تزریق داخل هیپوکمپ در دو طرف با جراحی دریافت کردند.
- گروه شم (Sham): حیواناتی که تحت جراحی حلال بتا آمیلوئید (بافر فسفات، PBS) را به میزان دو میکرولیتر دریافت کردند.
- گروه حلال دارو (Solv): حیوانات آلزایمری شده که به مدت چهار هفته حلال نرولیدول (توئین) دریافت کردند.
- گروه دونپزیل (DNPZ): حیوانات آلزایمری شده که به مدت چهار هفته دونپزیل به میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.
- گروه نرولیدول ۵۰ (NRD-50): حیوانات آلزایمری شده که به مدت چهار هفته نرولیدول به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.
- گروه نرولیدول ۱۰۰ (NRD-100): حیوانات آلزایمری شده که به مدت چهار هفته نرولیدول به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.
- گروه پیشگیری (Prot): حیوانات سالمی که در ابتدا و برای چهار هفته نرولیدول به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند و سپس آلزایمر در آن‌ها ایجاد شد.

به منظور ایجاد مدل آلزایمر، بعد از ثبت وزن، موش‌ها با کتامین و زایلازین به ترتیب به میزان ۱۰۰و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به روش تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. پس از سوار کردن استریوتاکس، بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون در ناحیه CA1 هیپوکامپ با مختصات قدامی- خلفی ۳/۸، طرفی ۲/۴ و پشتی ۳/۹-۳/۲ میلی‌متر [۱۵]، مقدار دو میکرولیتر بتاآمیلویید با غلظت ۱ میکروگرم در هر میکرولیتر با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه در هر دو طرف هیپوکامپ تزریق شد. بعد از یک هفته ریکاوری، موش‌ها به مدت چهار هفته با دارو تیمار شدند. پس از اتمام دوره تیمار حیوانات بی‌هوش و مغز آن‌ها خارج و بافت ناحیه هیپوکامپ جدا شد. ایجاد آلزایمر با مشاهده تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی در ناحیه هیپوکامپ مغز تایید شد.

RNA کل سلولی با استفاده از کیت RNX پلاس شرکت پارس توس و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. به طور خلاصه، ۲۰ میلی‌گرم از بافت در یک میلی لیتر از محلول RNX و به کمک هموژنایزر هموژن و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه و پس از ۱۵ ثانیه تکان شدید و ۵ دقیقه انکوبه شدن در یخ، در دور ۱۲۰۰۰g و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس فاز آبی بالایی حاوی مولکول‌های RNA به ویال جدید منتقل و هم حجم آن، ایزوپروپانول سرد اضافه شد و بعد از مخلوط کردن، ۱۵دقیقه در یخ انکوبه و بار دیگر در دور ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. رسوب حاصل در یک میلی لیتر اتانول ۷۵ درصد حل شد و پس از سانتریفیوژ در دور ۷۵۰۰g به مدت هشت دقیقه و خشک شدن رسوب در دمای محیط، در آب تیمار شده با DEPC (۰/۱ درصد) حل و در دمای ۷۰- سانتی‌گراد تا زمان ساخت cDNA نگهداری شد. کیفیت و کمیت RNA های استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی شد. برای این منظور، جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر نمونه‌ها قرائت شد که حدود ۱/۹ تا ۲ بود. برای حذف هرگونه باقیمانده DNA ژنومی، نمونه ها با آنزیم DNase I به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار شدند.

مقدار یک میکروگرم از RNA مطابق پروتکل کیت سنتز cDNAشرکت پارس توس و توسط آنزیم ترانسکریپتاز معکوس مورد رونوشت برداری معکوس قرار گرفت. cDNAهای سنتز شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

واکنش PCR به کمک دستگاه Rotator gene QIAGEN و سایبرگرین Bio Fact™ 2X Real-Time PCR Smart mix انجام شد. برای این منظور، واکنش با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر مستر سایبرگرین بایوفکت، یک میکرولیتر از پرایمر Forward، یک میکرولیتر از پرایمر Reverse، یک میکرولیتر cDNA، هفت میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز آماده شد و با استفاده از دستگاه PCR زمان واقعی و چرخه تکثیر ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۴۰ چرخه شامل ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه در ۵۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد تکثیر شد. محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪/۵ الکتروفورز شد. بیان ژن‌ها به روش 2-ΔΔCT محاسبه شد. تمام واکنش‌ها سه بار تکرار شدند. از بتااکتین به عنوان ژن مرجع برای نرمال کردن داده‌ها استفاده شد [۱۶]. پرایمر مربوط به ژن BDNF و بتااکتین (جدول ۱) با استفاده از نرم افزارهای ویژه Primer3 وGene Runner طراحی شدند.

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده در واکنش PCR زمان واقعی

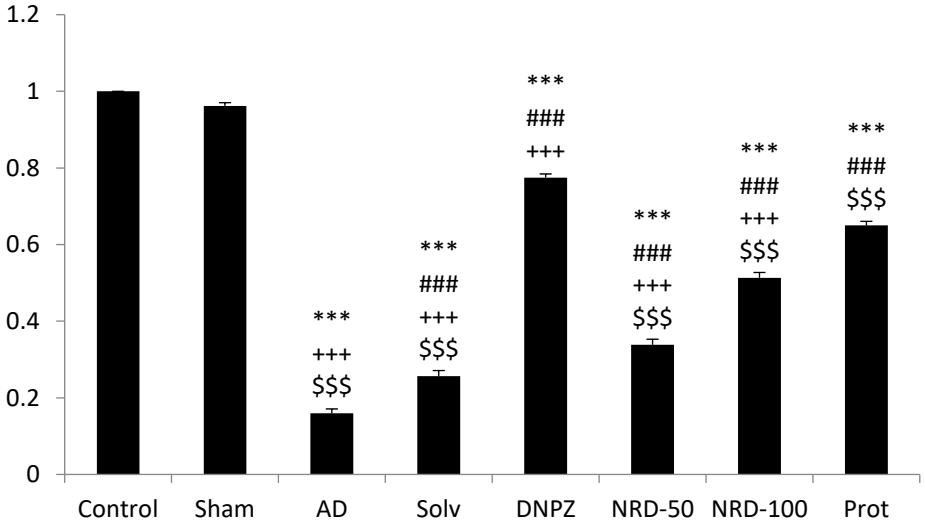
نام پرایمر	توالی پرایمر (۳–۵)	طول محصول (جفت باز)
BDNF-F	5'- GCCTCCTCTGCTCTTTCTG -3'	۱۵۰
BDNF-R	5'- TTATCTGCCGCTGTGACC -3'	
β-actin-F	5'- GCCATGGATGACGATATCGCTG-3'	۱۴۶
β-actin-R	5'- CCCATACCCACCATCACACC-3'	

سنجش مالون دی آلدئید مطابق روش کار کیت سنجش پراکسیداسیون لیپید MDA و با روش Substances Reactive Acid T (TBARS) ساخت شرکت نوند سلامت (ارومیه، ایران) انجام شد. برای این منظور، ۱۰ میلی‌گرم از بافت مغزی در ناحیه هیپوکامپ جدا شد و با بافر فسفات به طور کامل شسته شد. سپس مقدار ۳۰۰ میکرولیتر بافر لیزکننده به آن اضافه و هموژن شد. سپس بافت مزبور به مدت سه دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰g گذاشته شد و مایع رویی آن برای ادامه کار جدا شد. در نهایت تغییرات جذب با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر بررسی شد.

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام شد. نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب با آزمون شاپیرو- ویلک و آزمون لوین تایید شد. نتایج به صورت Mean ± S.E.M ارائه شده است. سطح معناداری آماری آزمون‌ها $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

شکل ۱ میزان بیان ژن BDNF را در هیپوکامپ موش‌ها نشان می‌دهد. براساس نتایج تحلیل‌های آماری، القای آلزایمر موجب کاهش بیان ژن BDNF در گروه آلزایمری و گروه حلال دارو به طور معناداری در مقایسه با گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). داروی دونپزیل این بیان را در مقایسه با گروه آلزایمری به طور معناداری افزایش داد (P<۰/۰۰۱). داروی نرولیدول نیز موجب افزایش بیان این ژن به صورت وابسته به دوز شد (P<۰/۰۰۱). همچنین تیمار با نرولیدول قبل از القای آلزایمر در گروه پیشگیری موجب افزایش معنادار بیان این ژن شد (P<۰/۰۰۱) و افزایش آن به طور معناداری بیشتر از گروه آلزایمری تیمار شده با نرولیدول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بود (P>۰/۰۵).



شکل ۱. بررسی میزان بیان ژن BDNF در ناحیه هیپوکامپ موش‌های صحرایی

*** اختلاف معناداری با گروه کنترل P< ۰/۰۰۱ .

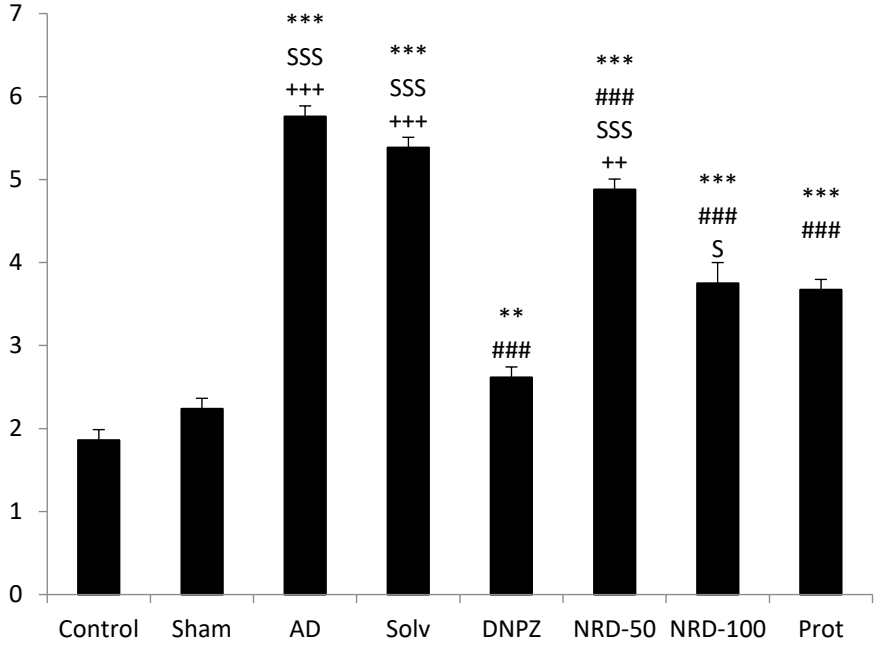
اختلاف معناداری با گروه آلزایمری شده P< ۰/۰۰۱ .

اختلاف معناداری با گروه آلزایمری شده P< ۰/۰۰۱ .

$$$ اختلاف معنادار با گروه تیمار شده با دونپزیل P< ۰/۰۰۱ .

+++ اختلاف معنادار با گروه پیشگیری توسط نرولیدول P< ۰/۰۰۱ .

شکل ۲ میزان مالون دی آلدئید را در ناحیه هیپوکامپ موش‌ها نشان می‌دهد. داده‌ها نشان داد که القای آلزایمر موجب افزایش معنادار مالون دی آلدئید در گروه آلزایمری و حلال دارو در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (P<۰/۰۰۱). داروی دونپزیل به طور معناداری موجب کاهش میزان آن در مقایسه با گروه آلزایمری شد (P<۰/۰۰۱). داروی نرولیدول به صورت وابسته به دوز موجب کاهش میزان آن شد (P<۰/۰۰۱). همچنین میزان آن در گروه پیشگیری نیز به طور معناداری در مقایسه با گروه آلزایمری کاهش یافت (P<۰/۰۰۱) و کاهش آن معادل با گروه تیمار شده با نرولیدول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بود (P>۰/۰۵).



شکل ۲. بررسی میزان مالون دی آلدئید در ناحیه هیپوکامپ موش‌های صحرایی.

** اختلاف معناداری با گروه کنترل ۰/۰۱ >P .
*** اختلاف معناداری با گروه کنترل ۰/۰۰۱ >P .
اختلاف معناداری با گروه آلزایمری شده ۰/۰۰۱ >P .
$ اختلاف معنادار با گروه تیمار شده با دونپزیل ۰/۰۵ >P .
$$$ اختلاف معنادار با گروه تیمار شده با دونپزیل ۰/۰۰۱ >P .
++ اختلاف معنادار با گروه پیشگیری توسط نرولیدول ۰/۰۱ >P .
+++ اختلاف معنادار با گروه پیشگیری توسط نرولیدول ۰/۰۰۱ >P .

بحث

در مطالعه حاضر تزریق بتاآمیلوئید به موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار منجر به ایجاد آلزایمر، کاهش بیان ژن BDNF و افزایش میزان مالون دی آلدئید در ناحیه هیپوکامپ شد. تیمار موش‌های آلزایمری با دونپزیل و یا نرولیدول در دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن قبل و بعد از ایجاد آلزایمر منجر به بهبود علائم آلزایمر، افزایش بیان ژن BDNF و کاهش میزان مالون دی آلدئید شد. نتایج این مطالعه حاکی از کاهش معنادار بیان ژن BDNF در موش‌های آلزایمری شده در مقایسه با موش‌های گروه کنترل بود. تیمار با دونپزیل و یا نرولیدول موجب جبران کاهش BDNF در ناحیه هیپوکامپ و افزایش بیان آن شد. پروتئین BDNF توسط ژن BDNF کدگذاری می‌شود و عضوی از خانواده عامل‌های رشد نوروتروفین شامل NGF، NT-3 و NT-4/NT-5 است [۶]. BDNF روی نورون‌های خاصی از سیستم عصبی مرکزی و سیستم عصبی محیطی که گیرنده آن (TrkB) را بیان می‌کنند، عمل کرده و باعث بقای نورون‌های موجود می‌شود که به رشد و تمایز نورون‌ها و سیناپس‌های جدید کمک می‌کند. BDNF در مغز، در هیپوکامپ و کورتکس مغز که نقش حیاتی در یادگیری، حافظه و تفکر دارند، فعال است [۶]. از آن‌جایی که اختلال شناختی در

بیماری آلزایمر ناشی از تخریب سلول‌های عصبی است، عوامل نوروتروفیک از جمله BDNF ممکن است پیشرفت تخریب عصبی را کند کرده و به عنوان یک راهبرد امیدوارکننده برای مداخله در آلزایمر و درمان آن عمل کند. مطالعات نشان داده‌است که کاهش BDNF با فسفوریلاسیون پروتئین τ، تجمع پلاک‌های آمیلوئیدی (Aβ)، التهاب عصبی و آپوپتوز سلول‌های عصبی در آلزایمر و پیشرفت آن دخیل است [۱۷]. از سوی دیگر، تحریک BDNF منجر به دفسفوریلاسیون پروتئین τ از طریق فعال سازی مسیرهای سیگنالینگ TrkB و فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز ۳ (PI3K) می‌شود [۱۸]. همچنین مشخص شده‌است که افزایش بیان ژن BDNF می‌تواند مانع از دست رفتن سلول‌های عصبی توسط پلاک‌های بتاآمیلوئیدی و آتروفی دندریت‌ها شود [۱۹]. نتایج مطالعه حاضر در راستای نتایج مطالعات قبلی است. در سال ۲۰۱۹، بررسی سرم بیماران آلزایمری نشان داد که با پیشرفت بیماری، میزان BDNF در سرم این افراد کاهش می‌یابد [۲۰]. همچنین در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۴، مشخص شد که مقادیر بالاتر سرمی BDNF با بهبود عملکرد شناختی در بیماران آلزایمری همبستگی دارد [۲۱]. این یافته‌ها منجر به توجه بیشتر پژوهشگران به BDNF به عنوان یک نشانگر زیستی بالقوه برای تشخیص بیماری آلزایمر و یا به عنوان یک عامل درمانی برای درمان بیماران آلزایمری شده‌است.

داده‌های مطالعه حاضر نشان داد که میزان مالون دی آلدئید (نشانگر زیستی استرس اکسیداتیو) به طور معناداری در موش‌های آلزایمری در مقایسه با موش‌های گروه کنترل افزایش داشته است که بیانگر افزایش استرس اکسیداتیو به دنبال القای آلزایمر است. مالون دی آلدئید محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع توسط رادیکال‌های آزاد است. تیمار با دونپزیل و یا نرولیدول منجر به کاهش میزان مالون دی آلدئید در موش‌های آلزایمری شد که بیانگر خواص آنتی‌اکسیدانی نرولیدول و تاییدی بر مطالعات قبلی است. مطالعات نشان داده است که نرولیدول توانایی عبور از سد خونی- مغزی را دارد و در نتیجه، این احتمال وجود دارد که بتواند ویژگی های آنتی‌اکسیدانی خود را در تمامی بخش‌های مغز و از جمله هیپوکامپ اعمال کرده [۲۲] و درمانی برای بیماری های نورودژنراتیو باشد. همچنین این احتمال وجود دارد که تاثیرات نرولیدول بر کاهش پاتوژنز بیماری آلزایمر ناشی از خواص آنتی‌استیل کولین استرازی آن [۱۴] باشد. افرادی که مبتلا به آلزایمر هستند دارای سطح پایین تری از استیل کولین در مقایسه با فراد طبیعی هستند [۳، ۴]. استیل کولین نوروترانسمیتری است که توسط نورون‌های کولینرژیک ترشح می‌شود و در انتقال سیگنال‌های مربوط به حافظه و یادگیری نقش دارد. بنابراین کاهش این نوروترانسمیتر در افراد مبتلا به آلزایمر منجر به کاهش عملکرد شناختی و اختلال در حافظه و فعالیت‌های یادگیری می شود. آنزیم استیل کولین استراز مسئول شکستن استیل کولین و کاهش آن می‌باشد بنابراین یکی از استراتژی‌های درمان بیماری آلزایمر، افزایش میزان استیل کولین در این بیماران با استفاده از داروهای مهار کننده آنزیم استیل کولین استراز است [۳، ۴].

همچنین داده‌های گروه پیشگیری نشان داد که نرولیدول می‌تواند نقش محافظتی و کاهش علائم آلزایمر نیز داشته باشد، به طوری که تیمار موش‌ها با نرولیدول قبل از القای آلزایمر در گروه پیشگیری، موجب افزایش معنادار BDNF و کاهش قابل توجه مالون دی آلدئید در مقایسه با گروه آلزایمری شد. این نتایج بیانگر این نکته است که استفاده از نرولیدول به عنوان مکمل‌های غذایی در افرادی که دارای ریسک خطر ابتلا به آلزایمر هستند مانند افرادی که در فامیل دارای سابقه ابتلا به آلزایمر هستند، در دوران جوانی ممکن است بروز آلزایمر را در این افراد در میانسالی به تاخیر انداخته و یا سرعت پیشرفت آن را کاهش دهد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی داده های حاصل از سنجش میزان بیان ژن BDNF و میزان مالون دی آلدئید در مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب نرولیدول دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌تواند موجب کاهش پاتوژنز بیماری آلزایمر و بهبود علائم آن شود. این امر احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش بیان ژن BDNF و به دنبال آن فعال شدن عامل‌های رونویسی دخیل در ایجاد حافظه بلند مدت در مغز باشد. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده در گروه پیشگیری می‌توان پیشنهاد کرد که مصرف نرولیدول در افراد مستعد به آلزایمر و افرادی که دارای سابقه فامیلی ابتلا به آلزایمر هستند در دوران جوانی ممکن است موجبر تاخیر بروز بیماری در میانسالی و یا کند کردن روند پیشرفت آن موثر باشد.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که تضاد منافعی ندارند.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی وابسته به دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1398.185 تصویب شده‌است.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از کلیه مسئولان آزمایشگاه رازی دانشگاه ازاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران کمال تقدیر و تشکر را دارد.

References

1- Bhardwaj D, Mitra C, Narasimhulu CA, Riad A, Doomra M, Parthasarathy S. Alzheimer's disease current status and future directions. J Med Food 2017;20(12):1141-51.

2- Cheng ST. Cognitive reserve and the prevention of dementia: The role of physical and cognitive activities. Curr Psychiatry Rep 2016;18(9): 85.

3- Bartus RT, Dean RL III, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Science 1982; 217(4558): 408-17.

4- Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. Molecules 2022; 27(6): 1816.

5- Tabet N. Acetylcholinesterase inhibitors for alzheimer's disease: Anti-inflammatories in acetylcholine clothing. Age Ageing 2008; 35: 336-8.

6- Gibon J, Barker PA. Neurotrophins and proneurotrophins: focus on synaptic activity and plasticity in the brain. Neuroscientist 2017; 23:587–604.

7- Gliwińska A, Czubilińska-Łada J, Więckiewicz G, Świętochowska E, Badeński A, Dworak M, et al. The role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in diagnosis and treatment of epilepsy, depression, schizophrenia, anorexia nervosa and Alzheimer's disease as highly drug-resistant diseases: A narrative review. Brain Sci 2023; 13(2):163.

8- Karran E, Mercken M, De Strooper B. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: An appraisal for the development of therapeutics. Nat Rev Drug Discov 2011; 10(9):698-712.

9- Huang WJ, Zhang X, Chen WW. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. Biomed Rep 2016; 4(5): 519–22.

10- Dharmajaya R, Sari DK. Malondialdehyde value as radical oxidative marker and endogenous antioxidant value analysis in brain tumor. Ann Med Surg 2022; 77:103231.

11- Napoli E, Di Vito M. Toward a new future for essential oils. Antibiotics (Basel, Switzerland) 2021; 10(2):207.

12- Mueed A, Shibli S, Al-Quwaie DA, Ashkan MF, Alharbi M, Alanazi H, et al. Extraction, characterization of polyphenols from certain medicinal plants and evaluation of their antioxidant, antitumor, antidiabetic, antimicrobial properties, and potential use in human nutrition. Front Nutr 2023; 10:1125106.

13- Silva MP, Oliveira GL, de Carvalho RB, de Sousa DP, Freitas RM, Pinto PL, et al. Antischistosomal activity of the terpene nerolidol. Molecules 2014;19(3):3793-803.

14- De Carvalho RBF, De Almeida AAC, Campelo NB, Lellis DROD, Nunes LCC. Nerolidol and its pharmacological application in treating neurodegenerative diseases: A review. Recent Pat Biotechnol 2018;12(3):158-68.

15- Motaghinejad M., Mashayekh R., Motevalian M., Safari S. The possible role of CREB-BDNF signaling pathway in neuroprotective effects of minocycline against alcohol induced neurodegeneration: Molecular and behavioral evidences. Fundam Clin Pharmacol 2021; 35(1):113–30.

16- Kondo Y, Saruta J, To M, Shiiki N, Sato C, Tsukinoki K. Expression and role of the BDNF receptor-TrkB in rat adrenal gland under acute immobilization stress. Acta Histochem Cytochem 2010; 43(6): 139–47.

17- Wang Z-H, Xiang J, Liu X, Yu SP, Manfredsson FP, Sandoval IM, et al. Deficiency in BDNF/TrkB neurotrophic activity stimulates δ-secretase by upregulating C/EBPβ in Alzheimer's disease. Cell Rep 2019;28(3):655-69.

18- Elliott E, Atlas R, Lange A, Ginzburg I. Brain-derived neurotrophic factor induces a rapid dephosphorylation of tau protein through a PI-3 Kinase signalling mechanism. Eur J Neurosci 2005;22(5):1081–9.

19- Meng C, He Z, Xing D. Low-level laser therapy rescues dendrite atrophy via upregulating BDNF expression: implications for Alzheimer's disease. J Neurosci 2013;33(33):13505.

20- Ng TKS, Ho CSH, Tam WWS, Kua EH, Ho RC. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in patients with Alzheimer's disease (AD): a systematic review and meta-analysis. Int J Mol Sci 2019;20(2):257.

21- Weinstein G, Beiser AS, Choi SH, Preis SR, Chen TC, Vorgas D, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor and the risk for dementia: the Framingham Heart Study. JAMA Neurol 2014;71(1):55–61.

22- Nogueira Neto JD, Cardoso de Almeida AA, Silva Oliveira J, Santos PS, Pergentino de Sousa D, Mendes de Freitas R. Antioxidant effects of nerolidol in mice hippocampus after open field test. Neurochem Res 2013;38: 1861–70.

Original Article

The effect of Nerolidol on the level of malondialdehyde and expression changes of brain-derived neurotrophic factor in the Alzheimer's model of male Wistar rats

Peyman Taheri[1], Zahra Hajebrahimi[2*], Parichehreh Yaghmaei [3], Kazem Parivar[3]

Received:28.04.2024 Revised: 09.06.2024 Accepted: 07.09.2024

1. Ph.D., Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Associate professor, Aerospace Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran
3. Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.22, No.1, Spring 2024

Pars J Med Sci 2024;22(1):23-30

Abstract:

Introduction: Alzheimer's disease is the cause of neurological deterioration. Oxidative stress plays an important role in the development and progression of Alzheimer's disease. Nerolidol is an herbal compound with antioxidant properties. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plays an important role in the survival and growth of neurons. The effect of nerolidol was investigated on BDNF gene expression and malondialdehyde (MDA) amount in Alzheimer's model of male Wistar rats induced by beta-amyloid.

Materials and Methods: The number of 48 rats was divided into 8 groups including control, sham, Alzheimer's model, drug solvent, Alzheimer's and treatment with donepezil, Alzheimer's and treatment with 50 and 100 mg/kg nerolidol, and prevention group (treatment with nerolidol before induction of Alzheimer's). The expression changes of the BDNF gene was assayed by real-time PCR and the amount of malondialdehyde was assayed with a lipid peroxidation assay kit in hippocampus tissue with one-way analysis of variance and Tukey's test.

Results: Alzheimer's induction decreased BDNF gene expression and increased MDA in Alzheimer's group compared to the control group ($P<0.001$). Donepezil and nerolidol in both doses of 50 and 100 in donepezil, nerolidol, and prevention groups reduced Alzheimer's symptoms by increasing BDNF gene expression and reducing MDA compared to Alzheimer's group ($P<0.001$).

Conclusion: The data suggest the antioxidant properties of nerolidol, its effect in improving Alzheimer's disease pathogenesis, and it can probably be effective in preventing Alzheimer's in susceptible people with a family history of Alzheimer's.

Keywords: Alzheimer’s Disease, Nerolidol, BDNF, MDA

* Corresponding author Email: hajebrahimi@ari.ac.ir