دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و دوم، شماره ۱، صفحه ۱۵ - ۱ (فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸)

Iran South Med J 2019; 22(1): 1-15

اثرات کوئرستین در بهبود آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد در مدل موشی بیماری ام اس

الینا میرزازاده (Bsc) [۱*]، شیوا خضری (PhD) [۱**]، سید میثم ابطحی فروشانی (PhD) [۲]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[۲] گروه میکروب‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(دریافت مقاله: ۹۶/۱۰/۵- پذیرش مقاله: ۹۷/۹/۱۱)

چکیده

زمینه: سال‌ها است که استفاده از گیاهان دارویی در کنترل بیماری‌های مختلف مرسوم می‌باشد. کوئرستین به عنوان یک عضو فلاونوییدی دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی است. این مطالعه به منظور تحقیق بر روی اثرات احتمالی سودمند کوئرستین در تخفیف علایم آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE) انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، EAE توسط نخاع هموژنیزه شده خوکچه هندی و ادجوانت کامل فروند در رت‌های نژاد ویستار القا شد. سپس رت‌ها در سه گروه ۱۰ سر قرار گرفتند. درمان با کوئرستین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه خوراکی) از روز ۱۲ بعد از ایمن‌سازی زمانی که رت‌ها اولین نشانه‌ی علایم درمانگاهی را نشان دادند آغاز شد. نمونه‌های مغز و خون از حیوانات در روز ۳۶ اخذ شده و جهت آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: درمان با کوئرستین منجر به بروز نتایج مناسبی در رت‌های مبتلا به EAE در مقایسه با رت‌های مبتلا بدون درمان شد. میزان آنزیم‌های میلوپراکسیداز و نیتریک اکساید سرمی و مالون دی آلدئید در بافت مغز رت‌های مبتلا نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). میزان اسیداوریک در سرم رت‌های مبتلا نسبت به گروه کنترل سالم کاهش یافت (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد درمان با کوئرستین می تواند به عنوان یک استراتژی سودمند جهت افزودن به پروتکل افراد مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: کوئرستین، آنسفالومیلیت تجربی خود ایمن، مالتیپل اسکلروز، استرس اکسیداتیو

** ارومیه، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

Email: sh.khezri@urmia.ac.ir
***ORCIDL 0000-0003-2672-5838**
****ORCID: 0000-0001-8692-8915**

مقدمه

بیماری اسکلروز متعدد MS یک بیماری مزمن و التهابی دستگاه عصبی مرکزی است که در آن غلاف‌های میلین سلول‌های عصبی در نتیجه ترکیبی از حملات ایمونولوژیک و اختلال در الیگودندروسیت‌ها آسیب می‌بینند. این بیماری به دلیل اثرات شدیداً ناتوان کننده و همچنین گرانی داروهای مورد نیاز جهت کنترل آن، دارای اثرات اقتصادی و اجتماعی گسترده‌ای می‌باشد. بیشتر موارد این بیماری در افراد بالغ جوان (محدوده سنی ۳۰ سال) رخ می‌دهد (۱). در سال‌های اخیر پیشرفت‌های مناسبی در امر کنترل پیشرفت بیماری اسکلروز متعدد ایجاد شده است، با این حال بسیاری از بیماران به درمان‌های رایج به‌طور مناسبی پاسخ نمی‌دهند. بنابراین مطالعه و تحقیق در مورد ترکیبات اثرگذار بر سیر پاتوژنز بیماری امری لازم و ضروری است (۲ و ۳).

خوشبختانه آنسفالومیلیت تجربی خود ایمن (EAE)[1] فرصت مناسبی جهت مطالعه کارآمدی ترکیبات با خصلت احتمالی دارویی فراهم آورده است (۴). هر دو بیماری MS و EAE داری یک ماهیت خود التهابی می‌باشند (۲ و ۳). حمله لنفوسیت‌های T کمکی +CD4 به بافت عصبی نقش مهمی در آغاز بیماری بازی می‌نماید (۱).

اگرچه علت بیماری مشخص نیست اما مکانیزمِ اصلیِ آن آسیب زدن توسط سیستم ایمنی بدن یا اختلال در سلول‌های تولیدکننده غلافِ میلین است (۱). سه ویژگی اصلی ام اس عبارتست از تشکیل ضایعات در سیستم اعصاب مرکزی که پلاک‌ها نیز نامیده می‌شود، تورم، و تخریب غلاف میلین نورون‌ها. این ویژگی‌ها به طرز پیچیده و به گونه‌ای که هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است در تعامل هستند تا تجزیه بافت عصبی و به نوبه خود نشانه‌ها و علائم بیماری را ایجاد کنند (۵).

امروزه توجه زیادی به مواد طبیعی با منشاء گیاهی جهت درمان بیماری‌ها شده است. البته مواد گیاهی برخلاف تصور عمومی کاملاً بی‌خطر نیستند ولی در موارد زیادی به دلیل خصوصیات جمع کنندگی رادیکال‌های آزاد، سمیت دیگر داروها را نیز کم می‌کنند (۶). کوئرستین در بیشتر میوه‌ها و سبزیجات، (مخصوصاً مرکبات، پیاز قرمز سیب و توت) ، برگ‌ها و دانه‌ها یافت می‌شود (۷). در اکثر موارد کوئرستین در گیاهان به شکل گلیکوزید یدیده می‌شود که قابلیت جذب کمی دارد و در صورت هیدرولیز جذب آن به حدود ۷۰ درصد خواهد رسید (۸). از جمله اثرات فارماکولوژیک کوئرستین می‌توان به خواص جلوگیری کننده از تجمعات پلاکتی، جلوگیری از اکسیداسیون LDL، شل کردن عضله صاف عروق، کاهش سطوح چربی سرمی، کاهش فشارخون، کاهش وزن، کاهش انسولین و قند خون، کاهش سطح مارکرهای التهابی پلاسما و اثرات ضد سرطانی اشاره نمود (۹). حاشیه سلامت این ترکیب نیز نسبتاً بالا می‌باشد به طوری که تجویز دوزهای وریدی۵۰۰–۱۰۰ میلی‌گرم کوئرستین به ازای کیلوگرم وزن بدن در خرگوش عارضه خاصی ایجاد نکرده است (۸).

علاوه بر این اثرات کوئرستین یک ترکیب زیست فعال با منشاء گیاهی است که به واسطه ساختار شیمیایی پلی فنلی دارای خصوصیت رادیکال گیرندگی وآنتی اکسیدانی می‌باشد. آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به طور قابل توجهی اکسیداسیون سوبسترا را به تأخیر انداخته یا از آن جلوگیری می‌کنند (۷). آنتی اکسیدان‌ها از نظر بیولوژیکی ترکیبات فعالی محسوب می‌شوند که بدن را در مقابل

[1] Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن و گونه‌های فعال نیتروژن محافظت می‌کند (۱۲-۱۰). اثرات سلامتی بخش و مفید مواد غذایی و برخی گیاهان دارویی تا حدودی به حضور مواد فنلی نسبت داده می‌شود که با خطرات ناشی از بیماری‌های تحلیل دهنده بدن در تقابل هستند این اثرات از طریق جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها و اتصالات متقاطع پروتئین‌ها و در مراحل بعدی آسیب بافتی ایجاد می‌شوند (۱۰). فلاونوئیدها از جمله مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها به شمار می‌آیند. کوئرستین نیز از جمله از مهم‌ترین فلاونوئیدها به شمار می‌آید (۱۳).

همان‌طور که انتظار می‌رود هر دو بیماری EAE و اسکلروز متعدد دارای ماهیت التهابی به دلیل حمله سلول‌های ایمنی می‌باشند. در شرایط التهابی غلظت گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و یا نیتروژن (سوپراکسید، نیتریک اکسید و پراکسی نیتریت) به حدی افزایش می‌یابد که بر سازوکارهای ذاتی آنتی اکسیدانی موجود غلبه می‌کند. چنین استرس‌های اکسیداتیو و یا نیتراتیوی موجب تخریب گسترده اجزای حیاتی سلول از قبیل DNA، لیپیدها، پروتئین‌ها و و بالاخص DNA میتوکندری می‌گردد (۱۴ و ۱۵).

امروزه شواهد فراوانی در دسترس است که حاکی از دخالت رادیکال‌های آزاد در گسترش ضایعات ناشی از اسکلروز متعدد می‌باشد. به طور کلی در بیماری‌های خود ایمن از قبیل مالتیپل اسکلروزیس فعال شدن سلول‌های نوتروفیل و سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی توسط لنفوسیت‌های رده Th17 و Th1 منجر به تولید مقادیر بسیار زیادی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌گردد. ترکیبات یاد شده در ایجاد و گسترش آسیب‌های نیتراتیو و اکسیداتیو نقش بسیار گسترده و مهمی را بازی می‌کند (۱۵). بنابراین استفاده از یک ترکیب آنتی اکسیدان جهت کمک به بهبود بیماری دور از ذهن نمی‌باشد.

همان طور که ذکر شد، بیماری اسکلروز متعدد دارای یک ماهیت التهابی همراه با آسیب‌های گسترده ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در عین حال در گذشته به اثرات ضد التهاب و آنتی اکسیدانتی کوئرستین اشاره شده است. ولی اطلاعات چندانی در مورد اثرات مفید این ترکیب بر بیماری اسکلروز متعدد در منابع علمی موجود نمی‌باشد. لذا در این تحقیق بر آن شدیم که بررسی اثرات احتمالی کوئرستین در کاهش علائم بالینی مدل حیوانی اسکلروز متعدد از طریق کاهش شدت آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن بپردازیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، جامعه مورد مطالعه، شامل ۳۰ سر رت نژاد ویستار با محدوده سنی ۵ تا ۶ هفته و متوسط وزن ۱۱۰ گرم بودند که از خانه حیوانات دانشکده علوم دانشگاه ارومیه خریداری شدند. حیوانات در شرایط استاندارد آب، غذا، دما و نور کافی نگهداری شدند. کلیه مراحل این تحقیق با رعایت حقوق حیوانات در مطالعات آزمایشگاهی انجام شد. مراحل این تحقیق به تأیید کمیته پژوهشی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه (کد۳۷۱۰/ تد.ت/۲) قرار گرفت.

روش القا EAE

در ابتدا هموژن بافت نخاع خوکچه هندی به نسبت ۱ به ۱ با ادجوانت کامل فروند (CFA)[2] محتوی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پیکره کشته شده مایکوباکتریوم، به حالت امولوسیون در آمد. جهت تهیه سوسپانسیون

[2] Compound Freund`s Adjuvant

مزبور از دو سرنگ شیشه‌ای که توسط رابطی از جنس استیل به هم متصل هستند، استفاده گردید. در یکی از سرنگ‌ها محلول بافت مغز و نخاع هموژن شده خوکچه و سرنگ دیگر محتوی هم حجم آن CFA وارد شده و عمل پر و خالی کردن سرنگ‌ها به نوبت تا حصول امولسیونی سفید رنگ، یکنواخت و با قوام ادامه یافت. پس از بیهوشی رت‌ها (کتامین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم- شرکت، Alfasan هلند)، ۴۰۰ میکرولیتر مخلوط آنتی ژن و ادجوانت مزبور به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت و ۱۰۰ میکرولیتر در ناحیه بالشتک هر حیوان با سوزن گیج ۲۵ تزریق گردید. مقدار 10^9 باکتری بروتدلا پاراپرتوسیس (مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران IBRC-M 10710) نیز در حجم ۳۰۰ میکرولیتر PBS در روز ایمن سازی و ۴۸ ساعت بعد به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. روند بیماری (شدت ناتوانی حرکتی) در هر رت موجود در گروه‌ها، به صورت روزانه مورد ارزیابی قرار گرفت. از مقیاس زیر جهت ارزیابی شدت بیماری استفاده گردید: صفر: عدم بروز بیماری، یک: اختلال در حرکت دم، دو: فلج شدن دم، سه: فلجی دو پا، چهار: فلجی چهار دست و پا، پنج: مرگ (۱۶).

درمان رت‌های مبتلا به EAE با کوئرستین

۱۰ سر از رت‌ها به عنوان گروه سالم (کنترل) در نظر گرفته شدند. بیماری در ۲۵ سر دیگری از رت‌ها به ترتیب گفته در بالا القاء شد. حیوانات از روز اول مورد ارزیابی دقیق از نظر رفتارهای حرکتی و همچنین وضعیت دم قرار گرفتند. در روز ۱۲ پس از القاء اولین علائم (شلی و کاهش تونوسیته دم) در ۲۰ سر از رت‌های القاء شده دیده شد. این تعداد از رت‌ها وارد مرحله بعد مطالعه شدند و ۵ سر دیگر از فرایند بررسی خارج شدند. این حیوانات به تصادفی در دو گروه با شرایط سنی و وزنی یکسان قرار گرفتند و به شرح زیر تحت درمان قرار گرفتند.

گروه تحت درمان با کوئرستین

به منظور ارزیابی اثرات درمانی دارو، بر روی بیماری در حال جریان، پس از بروز اولین علایم درمانگاهی (روز ۱۲ پس از القای بیماری) اقدام به تجویز روزانه داروی کوئرستین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به رت‌های گروه مطالعه به صورت داخل صفاقی گردید.
گروه مبتلا: شامل رت‌های مبتلا به EAE بودند که در حجم مشابه با گروه قبلی پس از بروز اولین علایم در تمام رت‌های گروه (روز ۱۲ پس از القا) تحت درمان با دارونما (آب مقطر) با حجم ۲۰۰ میکرولیتر قرار گرفتند.
گروه کنترل (سالم): ۱۰ سر موش که از نظر سن، جنس و وزن مشابه با دو گروه قبلی بودند، به عنوان گروه سالم غیر بیمار در نظر گرفته شدند. این رت‌ها فرآیند القاء بیماری را نداشته ولی همزمان با آن‌ها تحت درمان با دارونما قرار گرفتند. یک ماه پس از آغاز مطالعه اقدام به خون‌گیری از قلب رت‌ها و تهیه سرم جهت انجام مطالعات بعدی صورت گرفت.
اندازه‌گیری نیتریک اکسید: میزان تولید نیتریک اکسید توسط روش رنگ سنجی گریس[3] و استفاده از منحنی استاندارد نیتریت سدیم تعیین گردید. اساس این واکنش تشکیل رنگ از دیآزوتاسیون[4] یک سولفانامید به کمک نیتریت در محیط اسیدی و سپس کنژوگاسیون آن با یک آمین آروماتیک مثل N-1 NEDD((naphthyl)ethylenediamine)

[3] Griess
[4] diazotization

می‌باشد. به‌طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از سرم به صورت دوتایی به داخل چاهک‌های پلت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد سولفانیل آمید (شرکت Sigma– ایالات متحده) به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق نگهداری شد. آنگاه به تمام حفره‌ها ۱۰۰میکرولیتر از محلول ۱ درصد N- ۱-۱ نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدرو کلراید (شرکت Sigma– ایالات متحده) اضافه شد و بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق نگهداری شد. در نهایت جذب نوری نمونه در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا نگار قرائت گردید. همزمان با استفاده از غلظت‌های مختلف نیتریت سدیم، منحنی استاندارد ترسیم شده و از طریق رگرسیون و معادله خطی، غلظت نیتریت موجود در نمونه‌ها تعیین گردید.

سنجش سطح میلو پراکسیداز (MPO)

به این منظور ۱۰ میکرولیتر از نمونه با ۸۰ میکرولیتر از H_2O_2 mM ۷۵/۰ و ۱۱۰ میکرولیتر از محلول TMB (TMB۹/۲ mM در ۱۴/۵ درصد DMSO و mM ۱۵۰ بافر سدیم فسفات با PH= ۵/۴) در یک پلیت ۹۶ خانه مخلوط شد. در ادامه پلیت به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. واکنش با افزودن ۵۰ میکرولیتر از H_2SO_4 2M به هر چاهک شده و نمونه‌ها در نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط الایزا ریدر خوانده شد.

تست MDA (مالون دی آلدهید)

برای اندازه‌گیری میزان این فاکتور از شیوه زیر استفاده گردید:

تهیه بافر فسفات: ۱/۵۰۴۰ گرم سدیم دی هیدروژن فسفات به همراه ۲/۱۷۹۰ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات با ترازوی حساس وزن گردید و در بالن ۱۰۰ ریخته شد و با آب مقطر به حجم رسانده شد. (PH محلول روی ۷/۴ تنظیم گردید). تهیه محلول TBA[5]و TCA[6]: ۱۰ گرم از تری کلریک اسید (TCA) در یک بالن ۱۰۰ ریخته و با آب مقطر به حجم رسانده شد. ۰/۶۷ گرم از تیوباربیتوریک اسید (TBA) نیز در بالن ۱۰۰ ریخته شده و به حجم رسانده شد. نمونه بافت مغز وزن گردید و ۱۰ درصد وزن/ حجم به آن بافر فسفات اضافه گردید و در هاون کوبیده شد؛ سپس هموژنای تهیه شده، به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. ۱۵۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته شد و به لوله آزمایش منتقل گردید. سپس ۳۰۰ میکرولیتر (TCA) ۱۰ درصد به آن اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۱۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول‌رویی به لوله آزمایش منتقل و با ۳۰۰ میکرولیتر از TBA ۰/۶۷ درصد در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۵ دقیقه انکوبه شد. ۵ دقیقه پس از خنک شدن محلول، رنگ صورتی ناشی از واکنش MDA با TBA ظاهر و با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۵ نانومتر در مقابل بلانک ارزیابی گردید. میزان MDA با کمک ضریب جذبی MDA محاسبه و به صورت نانومولار بر هر گرم بافت بیان شد.

سنجش اسید اوریک

روش آنزیمی، کالریمتری با استفاده از روش (TBHBA ۲، ۴ و ۶-تری برمو۳- هیدروکسی بنزوئیک اسید).

[5] Thiobarbituricacid
[6] Trichloroacetic acid

اساس آزمایش

$$\text{Uric acid} + H_2O + O_2 \rightarrow \text{Allantoin} + CO_2 + H_2O_2$$
$$\text{TBHBA} + \text{4-Aminoantipyrine} + 2H_2O_2 \rightarrow \text{Quinoneimine} + 3H_2O$$

روش انجام تست

برای انجام تست، در ۶ لوله آزمایش ۵۰ میکرولیتر سرم داخل لوله‌های آزمایش اول تا چهارم و در لوله پنجم۲۰ میکرولیتر محلول استاندارد ریخته و در لوله ششم نیز ۲۰ میکرولیتر آب مقطر ریخته شد. سپس محلول مخلوط شده معرف‌های ۱ و ۲ به میزان ۱۰۰۰ میکرولیتر و با نسبت ۴ به‌علاوه ۱ (۷۵۰ میلی‌لیتر معرف ۱ و ۲۵۰ میلی‌لیتر معرف ۲) به تمامی لوله‌ها اضافه گردید. پس از مخلوط نمودن ۲۰ دقیقه در ۲۰ تا ۲۵ درجه و یا ۱۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از گذشت این مدت محلول‌ها از درون لوله‌های آزمایش به درون کووت منتقل گشت. در آخر کووت (با قطر یک سانتی‌متر) حاوی بلانک را در قسمت مخصوص بلانک دستگاه قرار داده و روی صفر تنظیم گردید. کووت حاوی محلول استاندارد در جایگاه شماره یک و کووت حاوی سرم‌ها در جایگاه‌های بعدی قرار داده شدند. حداکثر طی ۶۰ دقیقه و در حداکثر جذب ۵۴۶ نانومتر، جذب نوری استاندارد و نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید.

معرف ۱

(Phosphate buffer 100 mmol/l + TBHBA 1mmol/l)

معرف ۲

2(Phosohate buffer) (100mmol/l) + 4-Amino anty pyrin (0/3mmol) +k_4(fe$(cn)_6$) (10mmol / l)
+proxidaze (pod) uricase

فرمول محاسبه

Uric Acid(mg/dl) = Abs Sample / Abs STD/Cal * Conc.Std/Cal(mg/dl)

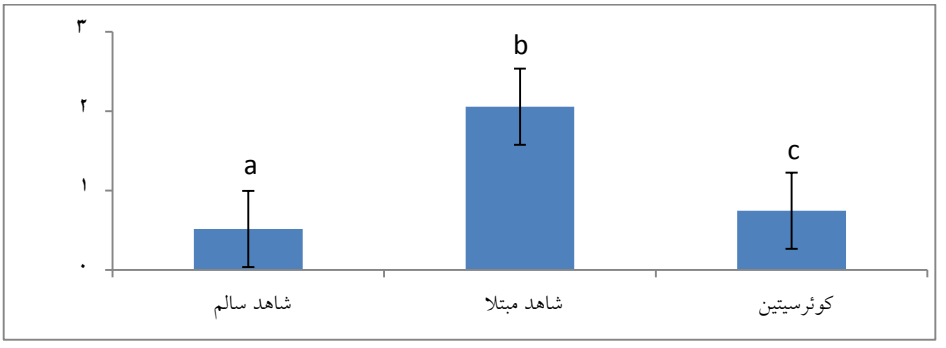
آنالیز آماری

جهت مقایسه داده‌های پارامتری از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و test Tukey's استفاده شد. داده‌های غیرپارامتری مرتبط با شدت علائم درمانگاهی با استفاده از آزمون کروسکال- والیس (Kruskal–Wallis) مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیه تحلیل‌های آماری در محیط نرم‌افزاری SPSS ویرایش ۲۱ انجام شد و برای ترسم نمودارها از نرم‌افزار Excel Microsoft (۲۰۱۳) استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

یافته‌ها

ارزیابی داده‌های مرتبط با شدت علائم بالینی نشان داد که میانگین شدت ناتوانی در طول دوره درمان در رت‌های مبتلا و تحت درمان با کوئرستین (۲/۲۶±۰/۳۶) نسبت به گروه مبتلا ولی بدون درمان (۳/۴۶±۰/۵۶) کمتر می‌باشد ($p<۰/۰۰۱$). میانگین

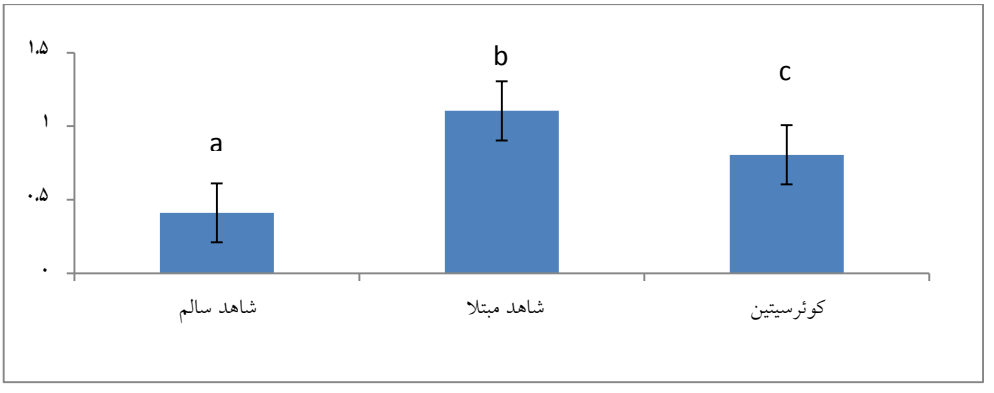
حداکثر شدت بیماری نیز در گروه رت‌های مبتلا و تحت درمان (۴/۴۵±۰/۴۹) در مقایسه با رت‌های مبتلا ولی بدون درمان (۲/۶۱±۰/۵۹) کمتر بود (p<۰/۰۱). مطالعات مربوط به تغییرات آنزیم میلو پراکسیداز نشان داد که در موش‌های مبتلا میزان این فاکتور نسبت به گروه کنترل سالم افزایش چشمگیری یافت (P<۰/۰۵). و درمان با کوئرستین توانسته میزان این آنزیم را نسبت به گروه مبتلا به طور معنی‌دار کاهش دهد (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).



نمودار ۱) بررسی تغییرات میلو پراکسیداز (نانوگرم بر میلی‌لیتر) درسرم رت‌های مورد مطالعه. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشد.

Fig 1) Evaluation of Myeloperoxidase levels (ng/ml) in the sera of rats. Different letters indicate significant differences between groups (p<0.05).

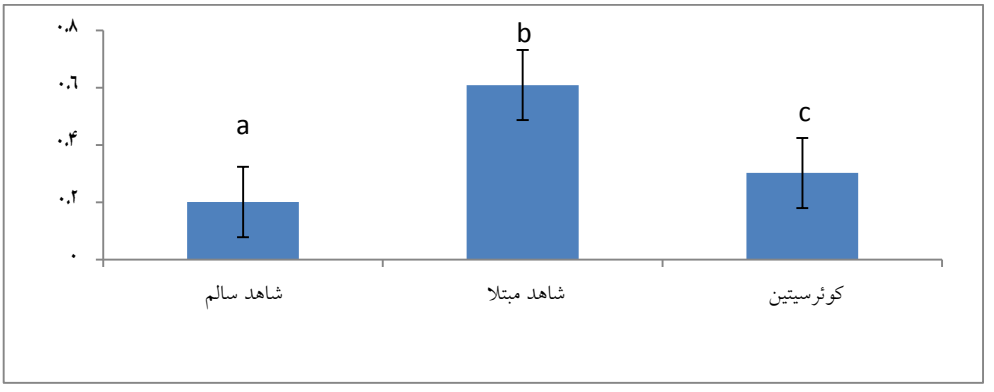
نتایج مربوط به فاکتور نیتریک اکساید نیز نشان داد که مقدار آن در گروه بیمار مبتلا نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌دار یافته است (P<۰/۰۵)، اما در گروه تحت درمان با کوئرستین نسبت به گروه مبتلا کاهش معنی‌دار این فاکتور دیده می‌شود (P<۰/۰۵) (نمودار ۲).



نمودار ۲) بررسی تغییرات نیتریک اکساید (مول بر لیتر) درسرم رت‌های مورد مطالعه. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشد.

Fig 2) Evaluation of the nitric oxide levels (mol/L) in the sera of rats. Different letters indicate significant differences between groups (p<0.05).

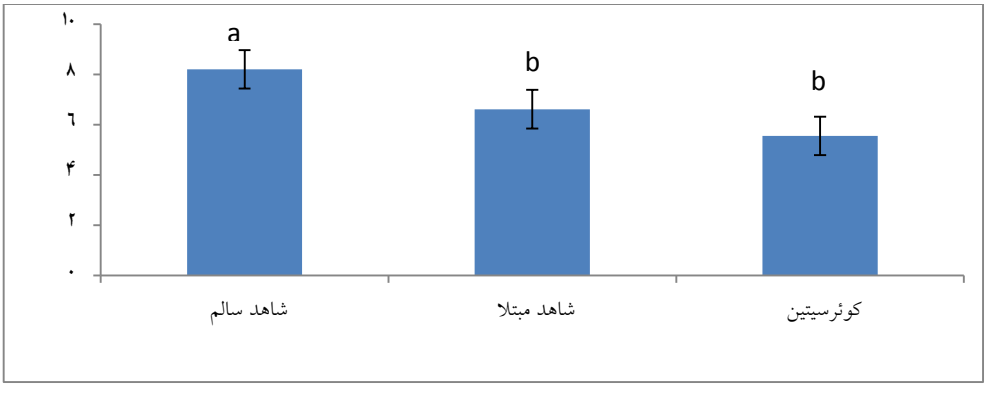
همچنین افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) مالون دی آلدئید در گروه شاهد مبتلا نسبت به گروه کنترل سالم مشهود است اما تیمار با کوئرستین توانسته بود به طور معنی‌دار آن را نسبت به گروه شاهد مبتلا کاهش دهد (P<۰/۰۵) (نمودار ۳).



نمودار ۳) بررسی تغییرات مالون دی آلدئید (نانومول بر لیتر) درسرم رت‌های مورد مطالعه. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشد.

Fig 3) Evaluation of the Malondialdehyde levels (nmol/L) in the sera of rats. Different letters indicate significant differences between groups (p<0.05).

آمار به‌دست آمده از مطالعه و بررسی تغییرات مربوط به اسیداوریک نشان داد که درگروه شاهد مبتلا مقدار اسیداوریک نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معنی‌دار یافته (P<۰/۰۵) است. هر چند در گروه تیمار شده با کوئرستین نسبت به گروه مبتلا مقداری کاهش اسیداوریک را شاهد هستیم، ولی تغییر یاد شده معنی‌دار نیست (نمودار ۴).



نمودار ۴) بررسی تغییرات اسیداوریک (d میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) درسرم رت‌های مورد مطالعه. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشد.

Fig 4) Evaluation of the Uric acid levels (mg/dL) in the sera of rats. Different letters indicate significant differences between groups (p<0.05).

بحث

همان‌طور که ذکر شد استرس‌های اکسیداتیو نقش بسیار مهم و اساسی در پاتوژنز بیماری مالتیپل اسکلروز بازی می‌کند. آسیب اکسیداتیو موجب آسیب به میتوکندری‌ها بالاخص میتوکندری در سلول‌های نورونی می‌گردد (۱۷). آسیب به میتوکندری‌های سلول‌های نورونی موجبات کاهش میزان تولید ATP توسط سلول‌های نورونی را فراهم می‌کند. کاهش میزان ATP از طرف دیگر مانع فعالیت پمپ‌های سدیم/ پتاسیم ATP آز می‌گردد. از طرف دیگر با پیشرفت بیماری MS و EAE (Experimental autoimmune encephalomyelitis) دمیلیناسیون گسترده‌ای در نورون‌های میلین‌دار سیستم اعصاب مرکزی اتفاق می‌افتد. و به طبع آن میزان هدایت جهشی در نورون‌ها کاهش می‌یابد. در این شرایط سلول برای بازگرداندن پتانسیل الکتریکی غشاء نیازمند توزیع بار الکتریکی در طول غشاء سلولی خواهد بود. طبیعی است در این شرایط به دلیل افزایش سربار Na به داخل سلول، سلول نیازمند پمپ‌های Na/k بیشتری خواهد بود. از طرفی عملکرد این پمپ‌ها نیازمند ATP است. همان‌طور که گفتیم به دلیل استرس اکسیداتیو میزان ATP سلولی نیز کم شده بنابراین سلول جهت فرار از سربار سدیمی موجود مجبور به استفاده از سیستم آنتی پورت Na/Ca می‌باشد. که این خود منجر به تجمع یون‌های کلسیم در داخل سلول خواهد شد. سربار کلسیمی خود از مهم‌ترین عوامل راه‌انداز مکانیسم‌های آپوپتوز و راه انداختن مرگ نورون‌ها خواهد بود. بنابراین در نهایت استرس‌های اکسیداتیو حتی اگر مستقیماً به نورون‌ها هم آسیب نزند منجر به مرگ نورونی خواهد شد (۱۷). طبق اطلاعات موجود کوئرستین یک فلاونوئید یا شبه فلاون است که اکثراً در گیاهان و میوه‌ها یافت می‌شوند و در اصل نوعی پیگمان یا رنگدانه گیاهی محسوب می‌شود. مانند آپیجنین (Apigenin) لوتئولین (Luteolin) که خواص آنتی‌اکسیدان و ضدسرطانی و ضد التهابی آن اثبات شده است (۱۸). کوئرستین یکی از مهم‌ترین ترکیبات خانواده فلاونوییدها به شمار می‌رود، زیرا بیش‌ترین خاصیت آنتی اکسیدانی را در میان سایر فلاونوییدها دارد و حتی در مقایسه با ویتامین ث نیز حدود شش برابر قوی‌تر است. مطالعه اثر کوئرستین در التهاب و عملکرد سیستم ایمنی نشان داد که: کورستین به عنوان یک ماده ضدالتهاب طولانی مدت است (۱۹) که می‌تواند در انواع مختلف سلول‌ها و در هر دو مدل حیوانی و انسانی بیان شود (۲۰ و ۲۱). علاوه بر این کوئرستین یک اثر سرکوب کننده ایمنی بر روی عملکرد سلول‌های دندریتیک دارد (۲۲). طبق مطالعات ما در این تحقیق کوئرستین به واسطه خاصیت آنتی اکسیدانی خود می‌تواند کمک شایانی در راستای کاهش علایم و بهبود بیماری ام اس بکند.

در تست MPO (میلوپراکسیداز) بافتی میزان فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز در سطح بافت سنجیده شد. آنزیم میلوپراکسیداز از جمله آنزیم‌های گرانولی، گرانول‌های سلول‌های تک هسته‌ای، نوتروفیل‌ها و همچنین تولیدات سلول‌های آندوتلیال می‌باشد.این آنزیم نقش بسیار مهمی در فرآیندهای التهابی و استرس اکسیداتیو دارد (۲۵-۲۳). تحقیقات گذشته به خوبی نشان داده است که بین میزان فعالیت آنزیم MPO بافتی و شدت آسیب در بافت مغز ارتباط معنی‌داری وجود دارد. به‌طوری که سطح آنزیمی MPO در بافت بسیاری از افراد مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس و یا حیوان مبتلا به EAE نسبت به افراد سالم افزایش یافته است. مطالعات حیوانی در مورد مدل تجربی MS نشان داده است که تخلیه نوتروفیل‌ها موجب کاهش قابل توجه

در شدت بیماری EAE شده است (۲۶ و ۲۷). در این زمینه پیشنهاد شده است که یکی از مهم‌ترین عملکردهای نوتروفیل در ایجاد بیماری‌زایی MS و EAE تولید آنزیم میلوپراکسیداز می‌باشد (۲۸). مطالعات انجام شده در مردم بریتانیا، به خوبی نشان داده است که بین پلی‌مورفیسم MPO و MS ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۲۹). همچنین مطالعات اولیه نشان داده است که بین میزان قابلیت بیان پروموتور MPO با افزایش رخداد بروز بیماری MS در جمعیت زنان آمریکایی و سوئدی رابطه کاملا ًمستقیم و معنی‌داری وجود دارد (۳۰). بر این اساس به نظر می‌رسد که تیمار با کوئرستین در موش‌های مبتلا به EAE موجبات کاهش مناسب و به نسبت شدیدی در سطح فعالیت آنزیمی MPO بافتی را آورده است. به طوری که سطح این آنزیم تقریباً به میزان ۳، ۴ برابر نسبت به حیوانات مبتلا و بدون درمان کاهش یافته بود.

بر طبق بررسی‌های انجام شده در راستای پیشرفت بیماری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گلبول‌های قرمز بیماران مبتلا به MS و رت‌های مبتلا به EAE کاهش می‌یابد (۳۱ و ۳۲). گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و یا نیتروژن، ممکن است که باعث آسیب به غلاف میلین شوند و زمینه حمله توسط سلول‌های ماکروفاژ/ میکروگلیال را ایجاد نمایند (۳۳) نقش NO (نیتریک اکسید) در ایجاد بیماری MS از طریق مشاهده واحدهای نیتروتیروزین در پلاک‌های مغزی بیماران مبتلا، به اثبات رسیده است (۳۴). مطالعات قبلی به خوبی مشخص کرده است که بین سطح نیتریک اکساید بافتی و میزان تشکیل نیتروزآمین در بافت عصبی مبتلایان به مالتیپل اسکلروزیس ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۳۵ و ۳۶). همچنین مطالعات نشان داده است که نیتریک اکساید ممکن است در پاتوژنز بیماری‌های مختلف التهابی عصبی/ دژنراتیو و تخریب میلین سلول‌های عصبی مرکزی نقش داشته باشد (۳۷ و ۳۸). گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن باعث افزایش نفوذپذیری سد خونی- مغزی شده که این اختلال منجر به افزایش نفوذ سلول‌ها به بافت عصبی می‌گردند. عامل اصلی در شکست سد خونی- مغزی سایتوکاین IL-17 می‌باشد. سایتوکاین IL-17 از طریق ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های اندوتلیال مغزی منجر به پیشبرد شکست سد خونی مغزی می‌گردد (۳۹). بر اساس این تحقیق به نظر می‌رسد که تیمار با کوئرستین به واسطه عوامل آنتی‌اکسیدان موجبات کاهش سطح نیتریک اکساید بافتی و جلوگیری از شکست سد خونی – مغزی را فراهم نموده است. به نظر می‌رسد کوئرستین موجب خنثی‌سازی مستقیم رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌گردد.

سلول‌های بدن همواره در معرض مواد اکسید کنندهٔ مختلف می‌باشند. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS=Reactive Oxygen Species) که شامل مولکول‌های بسیار فعال واجد اکسیژن هستند، از ترکیبات اکسید کنندهٔ رایج محسوب می‌شوند. این ترکیبات با حمله به مولکول‌های مختلف، ضمن اکسید کردن آنها محصولات اکسید شدهٔ ثانویه نیز تولید می‌کنند. لیپیدها مهم‌ترین دسته از بیومولکول‌هایی هستند که هدف گونه‌های فعال اکسیژن قرار می‌گیرند. در واقع تخریب اکسیداتیو لیپیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن، پراکسیداسیون لیپیدی نامیده می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدی معمولاً روی اسیدهای چرب غیراشباع صورت می‌گیرد و محصول نهایی آن

آلدهیدهای فعال مانند مالون دی آلدهید (MDA=Malondialdehyde) می‌باشد (۴۰ و ۴۱). MDA از جمله شاخص‌های مهم جهت ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد (۴۲). میزان پراکسیداسیون چربی‌ها در نتیجه حضور عوامل اکسیداتیو موجود در محیط سنجیده می‌شود. همان‌طور که ذکر شد نیتریک اکساید و میزان فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز در بافت مبتلایان به بیماری MS و همچنین حیوانات ما نیز که مبتلا به EAE بودند افزایش یافت. بنابراین افزایش پراکسیداسیون لیپیدها دور از ذهن نیست براساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد کوئرستین به واسطه نقش آنتی‌اکسیدانی (۴۳) خود موجب کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه کاهش میزان MDAهای (مالون دی آلدهید) تشکیل شده در بافت گشته است.

مطالعات گذشته به خوبی ثابت کرده است که اسیداوریک به عنوان یک عامل پاکسازی کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کاهش استرس اکسیداتیو نقش دارد (۴۴). طبق مطالعات گروهی از پژوهشگران به خوبی نشان داده شده است که سطح اسیداوریک سرم در افراد مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس از افراد سالم کمتر است (۴۵). یافته‌های ما نیز حاکی از کاهش سطح اسیداوریک در رت‌های مبتلا نسبت به رت‌های سالم بود. با اندازه‌گیری اسیداوریک سرم مشخص گردید که میانگین اسیداوریک در موش‌های درمان شده با کوئرستین نسبت به موش‌های مبتلا به EAE و بدون درمان کاهش مختصری نشان داد، هرچند که تغییر یاد شده از نظر آماری معنی‌داری نبود. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده که حاکی از اثرات مفید کوئرستین در کاهش علائم درمانگاهی و همچنین بهبود وضعیت MDA و MPO بود می توان این فرضیه را مطرح کرد که احتمال دارد کوئرستین از اسیداوریک جهت کاهش و پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در مورد بیماری EAE استفاده کرده باشد. در همین راستا مطالعات گذشته نیز به خوبی نشان داده است که کوئرستین به کمک استفاده از اسیداوریک موجبات کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود. همچنین ترکیب کوئرستین و ویتامین‌های E و C موجب کاهش اثرات ناشی از آسیب کلیوی از طریق مقابله با افزایش اسیداوریک شده است (۴۳).

با وجود نتایج مناسبی که ما در این تحقیق در مورد استفاده از کوئرستین در کاهش علائم و آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد در مدل حیوانی اسکلروز متعدد، مشاهده کردیم، در منابع علمی گذشته اطلاعات چندانی در این زمینه وجود ندارد. البته در منابع علمی اشاره شده است که کوئرستین از طریق مهار مسیر سیگنال دهی از طریق IL-12 موجبات کاهش علائم بیماری را در آنسفالومیلیت تجربی خود ایمن فراهم می‌سازد (۴۶). بنابراین قسمتی از نتایج مفیدی که در این پژوهش مشاهده شد، ممکن است که به غیر از کاهش سطح آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد، به دلیل فوق نیز باشد.

در هر حال مطالعه حاضر تنها یک مطالعه مقدماتی در یک مدل حیوانی می‌باشد. در عین حال این مطالعه تنها به ارزیابی اثرات کوئرستین بر آسیب‌های اکسیداتیو در بیماری آنسفلومیلیت تجربی پرداخته است. بنابراین لازم است که درآینده مطالعات بیشتری علی‌الخصوص در زمینه احتمال تعدیل مستقیم پاسخ‌های ایمنی توسط کوئرستین و جنبه‌های تغییر سیمای هیستوپاتولوژیک بیماری صورت پذیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق تجربی می‌توان نتیجه گرفت که کوئرستین از طریق کاهش تولید نیتریک اکساید، کاهش فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها باعث بهبود در شدت علائم بیماری در رت‌های مبتلا به EAE شده است.

سپاس و قدردانی

مطالعه حاضر بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم میرزازاده می‌باشد که با حمایت حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه انجام شده است، بدینوسیله از تمام کسانی که در انجام این تحقیق همکاری نموده‌اند کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Nakahara J, Maeda M, Aiso S, et al. Current concepts in multiple sclerosis: autoimmunity versus oligodendrogliopathy. Clin Rev Allergy Immunol 2012; 42(1): 26-34.
2.Vosoughi R, Freedman MS. Therapy of MS. Clin Neurol Neurosurg 2010; 112(5): 365-85.
3.Goldenberg MM. Multiple sclerosis review. PT 2012; 37(3): 175-84.
4.Comabella M, Khoury SJ. Immunopathogenesis of multiple sclerosis. Clin Immunol 2012; 142(1):2-8.
5.Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National multiple sclerosis society (USA) advisory committee on clinical trials of new agents in multiple sclerosis. Neurology 1996; 46(4): 907-11.
6.Zirak Marangalu H, Khezri S, Abtahi M. Improvement in the function of rat peripheral blood monocytes following oral administration of curcumin. JSSU 2017; 25(3): 171-82.
7.Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. J Chromatogr A 2004; 1054: 95-111.
8.Emamat M H, Mirmiran P, Hekmatdoost A. Quercetin flavonoid and non-alcoholic fatty liver disease. Yafte 2016; 18(1): 90-100.
9.Li X, Wang R, Zhou N, et al. Quercetin improves insulin resistance and hepatic lipid accumulation in vitro in aNSFLD cell model. Biomed Rep 2013; 1(1): 71-6.
10.Pekkarinen SS, Heinonen IM, Hopia AI. Flavonoids quercetin, myricetin, kaempferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate. J Sci Food Agricul 1999; 79: 499–506.
11.Shahidi F, Naczk M. Phenolics in food and nutraceuticals. 2nd ed. United States: CRC Press, 2003, 1- 576.
12.Zaveri NT. Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. Life Sci 2006; 78(18): 2073-80.
13.Zhu M, Huang Y, Wang Y, et al. Comparison of (poly)phenolic compounds and antioxidant properties of pomace extracts from kiwi and grape juice. Food Chem 2019; 15(271): 425-32.
14.Morvaridi A, Delirezh N, Hobbenaghi R, et al. The effects of All-Trans Retinoic Acid on clinical symptoms, nitric oxide levels and total antioxidant capacity of plasma in mouse model of multiple sclerosis. RJMS 2013; 20(108): 11-9.
15.Abtahi Froushani SM, Delirezh N, Hobbenaghi R, et al. Synergistic effects of atorvastatin and all-trans retinoic acid in ameliorating animal model of multiple sclerosis. Immunol Invest 2014; 43(1): 54-68.
16.Kurd SK, Smith N, VanVoorhees A, et al. Oral curcumin in the treatment of moderate to severe

psoriasis vulgaris: A prospective clinical trial. J Am Acad Dermatol 2008; 58(4): 625-31.
17.Qureshi M, Al-Suhaimi EA, Wahid F, et al. Therapeutic potential of curcumin for multiple sclerosis. Neurol Sci 2017; 39(2): 207-14.
18.Alrawaiq NS, Abdullah A. A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. Int J PharmTech Res 2014; 6(3): 933-41.
19.Orsolic N, Knezevic AH, Sver L, et al. Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. J Ethnopharmacol 2004; 94(2-3): 307-15.
20.Manjeet KR, Ghosh B. Quercetin inhibits LPS-induced nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production in murine macrophages. Int J Immunopharmocol 1999; 21(7): 435-43.
21.Chirumbolo S. The role of quercetin, flavonols and flavones in modulating inflammatory cell function. Inflamm. Inflamm Allergy Drug Targets 2010; 9(4): 263-85.
22.Huang RY, Yu YL, Cheng WC, et al. Immunosuppressive effect of quercetin on dendritic cell activiation and function. J Immunol 2010; 184(12): 6815-21.
23.Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005; 25(6): 1102-11.
24.Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, et al. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. J Clin Invest 1994; 94(1): 437-44.
25.Podrez EA, Schmitt D, Hoff HF, et al. Myeloperoxidase-generated reactive nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro. J Clin Invest 1999; 103(11): 1547-60.
26.McColl SR, Staykova MA, Wozniak A, et al. Treatment with anti-granulocyte antibodies inhibits the effector phase of experimental autoimmune encephalomyelitis. J Immunol 1998; 161(11): 6421-6.
27.Steinbach K, Piedavent M, Bauer S, et al. Neutrophils amplify autoimmune central nervous system infiltrates by maturing local APCs. J Immunol 2013; 191: 4531-39.
28.YJ Kim, JM Shin, SH Shin, et al. palmitoyl-2-linoleoyl-3-acetyl-rac-glycerol ameliorates arthritic joints through reducing neutrophil infiltration mediated by IL-6/STAT3 and MIP-2 activation. Oncotarget 2017; 8(57): 96636-48.
29.Chataway J, Sawcer S, Feakes R, et al. A screen of candidates from peaks of linkage: evidence for the involvement of myeloperoxidase in multiple sclerosis. J Neuroimmunol 1999; 98(2): 208-13.
30.Zakrzewska-Pniewska B, Styczynska M, Podlecka A, et al. Association of apolipoprotein E and myeloperoxidase genotypes to clinical course of familial and sporadic multiple sclerosis. Mult Scler 2004; 10: 266-71.
31.Zargari M, Allameh A, Sanati MH, et al. Relationship between the clinical scoring and demyelination in central nervous system with total antioxidant capacity of plasma during experimental autoimmune encephalomyelitis development in mice. Neurosci letters 2007; 412.1: 24-8.
32.Koch MW, Ramsaransing GS, Arutjunyan AV, et al. Oxidative stress in serum and peripheral blood leukocytes in patients with different disease courses of multiple sclerosis. J Neurol 2006; 253(4): 483-7.
33.Mao P, Reddy PH. Is multiple sclerosis a mitochondrial disease?. Biochim Biophys Acta 2010; 1802(1): 66-79.
34.Xiao BG, Ma CG, Xu LY, et al. IL-12/IFN-γ/NO axis plays critical role in development of Th1-mediated experimental autoimmune encephalomyelitis. Mol Immunol 2008; 45: 1191-6.
35.Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. Neuron 1992; 8(1):3 -11.
36.Simmons ML, Murphy S. Induction of nitric oxide synthase in glial cells. J Neurochem 1992; 59(3): 897-905.
37.Kolb H, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: a pathogenetic factor in autoimmunity. Immunol Today. 1992; 13(5): 157-60.

38.Smith KJ, Lassmann H. The role of nitric oxide in multiple sclerosis. Lancet Neurol 2002; 1(4): 232-41.
39.Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis. Scand J Immunol 2011; 74(1): 1-13.
40.Cigremis Y, Kose M, Ozgurlu F, et al. The investigation of erythrocyte SOD, Cat and GPX antioxidant enzyme level in pateints with type 2 diabetes mellitus. G.U. J Sci 2003; 16(2): 239-44.
41.Palanduz S, Ademoglu E, Gokkusu C, et al. Plasma antioxidants and type 2 diabetes mellitus. Res Commun Mol Pathol Pharmacol 2001; 109(5-6): 309-18.
42.Al-Shebly MM, Mansour MA. Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Status in Diabetic and Hypertensive Women during Labor. Oxid Med Cell Longev 2012; 2012: 1-6.
43.Aguirre L, Arias N, Macarulla MT, et al. Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes. Open Nutraceuticals J 2011; 4: 189-98.
44.Drulović J, Dujmović I, Stojsavljević N, et al. Uric acid levels in sera from patients with multiple sclerosis. J Neurol 2001; 248(2): 121-6.
45.Peng F, Zhang B, Zhong X, et al. Serum uric acid levels of patients with multiple sclerosis and other neurological diseases. Mult Scler 2008; 14(2): 188-96.
46.Muthian G, Bright JJ. Quercetin, a flavonoid phytoestrogen, ameliorates experimental allergic encephalomyelitis by blocking IL-12 signaling through JAK-STAT pathway in T lymphocyte. J Clin Immunol 2004; 24(5):542-52.

Original Article

Effects of Quercetin on Improving the Damage Caused by Free Radicals in the Rat Models of Multiple Sclerosis

E. Mirzazadeh (BsC)[1*], Sh. Khezri (PhD)[1**], SM. Abtahi Froushani (PhD)[2]

[1] Department of Biology, School of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

[2] Department of Microbiology, School of Veterinary, Urmia University, Urmia, Iran

(Received 26 Dec, 2017 Accepted 2 Dec, 2018)

Abstract

Background: Medicinal herbs have been used for managing various diseases for many years. Quercetin is a member of flavonoid family with antioxidant and anti-inflammatory properties. This study aimed to investigate the beneficial potential of quercetin in ameliorating experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE).

Materials and Methods: In this experimental study, EAE was induced in male Wistar rats by guinea pig spinal cord homogenate and complete Freund's adjuvant. Then, the rats were allocated into three equal groups (n=10). Quercetin administration (10 mg/kg daily) initiated on day 12 post-immunization, when the rats developed a disability score. The brains and blood samples were collected on day 36 and used for next experiments.

Results: Quercetin therapy led to a better outcome in EAE rats compared to EAE rat without treatment. Myeloperoxidase activity and nitric oxide levels in the sera and the lipid peroxidation level in the brain tissues of EAE rats were significantly increased in EAE rats compared to normal control rats ($P<0.05$). Serum level of uric acid insignificantly decreased in EAE rats compared to normal control rats ($P<0.05$).

Conclusion: It appears that quercetin is a promising strategy to be added to the treatment protocol of MS patients.

Keywords: Quercetin, Experimental Autoimmune Encephalomyelitis, Multiple Sclerosis, Oxidative stress

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Mirzazadeh E, Khezri Sh, Abtahi Froushani SM. Effects of Quercetin on Improving the Damage Caused by Free Radicals in the Rat Models of Multiple Sclerosis. Iran South Med J 2019; 22(1): 1-15

Copyright © 2019 Mirzazadeh, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[**]Address for correspondence: Department of Biology, School of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran. Email: sh.khezri@urmia.ac.ir

*ORCIDL 0000-0003-2672-5838

**ORCID: 0000-0001-8692-8915