Research Article

Neuroprotective Effects of Silymarin-Loaded Chitosan Nanoparticles on Ketamine-Induced Cognitive Disorders and Oxidative Damages in Mice Hippocampus

Akbar Hajizadeh Moghaddam*, Reza Barari, Sedigheh Khanjani Jelodar, Vahid Hasantabar

Department of Animal Sciences, Faculty of Basic Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran

Article Info:

Received: **6 Jan 2022** ***Revised:*** **26 May 2022** ***Accepted*****: 6 June 2022**

ABSTRACT

Introduction: Oxidative stress plays a key role in the pathophysiology of schizophrenia, a debilitating mental illness. Silymarin (SM) is a flavonoid with antioxidant properties found in Silybum marianum. However, the bioavailability of SM is rather low due to poor water solubility. The purpose of this study was to investigate the effect of neuroprotective of silymarin-loaded chitosan nanoparticles (SM-CS-NPs) on ketamine-induced cognitive disorders and hippocampal oxidative damages. ***Materials and Methods:*** In this study, 35 male mice were divided into five groups; control and four ketamin groups treated with saline, aripiprazole, SM, and SM-CS-NPs at doses of 20 mg/kg/30 days, respectively. In the experimental groups, animals received ketamine (20 mg/kg/day) from the 16th to the 30th day intraperitoneally. Cognitive deficits were evaluated employing a novel object recognition test (NORT). Furthermore, various oxidative stress markers in the hippocampal area were assessed. ***Results***: Our results revealed that ketamine significantly reduced the discrimination index and catalase, superoxide dismutase, and glutathione reductase enzyme activity compared with the control group. Moreover, treatment with SM and SM-CS-NPs reduced cognitive impairments, increased the activity of the antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase as well as glutathione reductase, and reduced malondialdehyde levels in the treatment groups. ***Conclusion:*** SM-CS-NPs may improve SM bioavailability and exert stronger neuroprotective effects against ketamine-induced cognitive deficits and hippocampal oxidative damages.

Keywords:

1. Ketamine
2. Silymarin
3. Schizophrenia

Corresponding Author: Akbar Hajizadeh Moghaddam

Email: *a.hajizadeh@umz.ac.ir*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]

[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]

[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]

اثرات حفاظت عصبی نانوذرات چیتوسان سیلیمارین بر اختلالات شناختی ناشی از کتامین و آسیب‌های اکسیداتیو در هیپوکامپ موش‌ها

اکبر حاجی‌زاده مقدم*، رضا براری، صدیقه خانجانی جلودار، وحید حسن تبار

گروه زیست جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

اطلاعات مقاله:

دریافت: ۱۶ دی ۱۴۰۰ **اصلاحیه:** ۵ خرداد ۱۴۰۱ **پذیرش:** ۱۶ خرداد ۱۴۰۱

چـــــکیده

مقدمه: استرس اکسیداتیو نقش کلیدی در پاتوفیزیولوژی اسکیزوفرنی که یک بیماری روانی ناتوان کننده است، دارد. سیلی‌مارین یک فلاونوئید با خواص آنتی‌اکسیدانی است که در گیاه خار مریم یافت می‌شود. با این حال، فراهمی زیستی سیلی‌مارین به دلیل حلالیت کم در آب، ضعیف است. هدف از این مطالعه بررسی اثر حفاظت عصبی نانوذرات چیتوسان-سیلی‌مارین بر اختلالات شناختی و آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از کتامین در هیپوکامپ است. ***مواد و روش‌ها:*** در این پژوهش، ۳۵ موش نر به پنج گروه تقسیم شدند؛ کنترل و چهار گروه کتامینی که به ترتیب با سالین، آریپیپرازول، سیلیمارین و نانوذرات چیتوسان-سیلیمارین در دوزهای ۲۰ میلیگرم برکیلوگرم به مدت ۳۰ روز تحت درمان قرار گرفتند. در گروه‌های بیمار، حیوانات کتامین را با دوز ۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم روزانه از روز ۱۶ تا ۳۰ به صورت درون صفاقی دریافت کردند. اختلالات شناختی با استفاده از آزمون شناسایی شئ جدید مورد ارزیابی قرار گرفت و نشانگرهای استرس اکسیداتیو در ناحیهٔ هیپوکامپ ارزیابی شد. ***یافته‌ها:*** نتایج ما نشان داد که کتامین به طور معنی‌دار شاخص تبعیض و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. نتایج این پژوهش نشان داد که درمان با سیلی‌مارین و نانوذرات چیتوسان-سیلی‌مارین باعث کاهش اختلالات شناختی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز و کاهش سطح مالون دی آلدهید در گروه‌های تحت درمان می‌شود. ***نتیجه‌گیری:*** نانوذرات چیتوسان-سیلی‌مارین می‌تواند فراهمی زیستی سیلیمارین را بهبود بخشد و اثرات حفاظت عصبی قوی‌تری را در برابر اختلالات شناختی ناشی از کتامین و آسیب‌های اکسیداتیو هیپوکامپ ایجاد کند.

واژه‌های کلیدی:

۱- کتامین
۲- سیلیمارین
۳- اسکیزوفرنی

***نویسنده مسئول:** اکبر حاجی‌زاده مقدم

پست الکترونیک: *a.hajizadeh@umz.ac.ir*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]
[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]

مقدمه

اسکیزوفرنی[1] نوعی بیماری روانی جدی و ناتوان کننده است که حدود یک درصد از جمعیت در سراسر جهان را درگیر می‌کند (۱). این بیماری به مجموعه‌ای از علائم مثبت (مانند هذیان و توهم)، علائم منفی (مانند عدم انگیزه) و فقدان شناختی (اختلالات در حافظه، یادگیری و عملکرد اجرایی) تقسیم می‌شود (۳، ۲). اختلال شناختی، نقص موقتی یا پایدار در زمینهٔ پردازش، ذخیره و بازیابی اطلاعات مورد نیاز فرد برای انجام فعالیت‌های معمول است (۴). اسکیزوفرنی به دلیل اختلال در سیستم‌های نوروترانسمیتری، استرس اکسیداتیو و عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی به وجود می‌آید. در این بیماری، سطوح آنتی‌اکسیدانی کاهش یافته و پراکسیدهای لیپیدی و نیتریک اکسیدها افزایش می‌یابند (۵). شواهد به طور گسترده‌ای نشان داده‌اند که اختلال در عملکرد و کاهش فعالیت گیرنده NMDA[2] به‌ویژه در قشر پیشانی در اسکیزوفرنی وجود دارد. کتامین[3] به‌طور عمده این گیرنده را مسدود کرده و باعث ایجاد رفتار اسکیزوفرنیک در جوندگان و تشدید روان‌پریشی در بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی می‌شود. گیرنده NMDA به‌دلیل نقش خود در قابلیت انعطاف‌پذیری سیناپسی، در یادگیری و حافظه مهم است و کتامین یک آنتاگونیست غیر رقابتی در یکی از سه گیرنده گلوتامات یعنی گیرنده NMDA می‌باشد. در نظریه گلوتاماتژیک اسکیزوفرنی، تجویز تحت مزمن کتامین برای انسان‌های سالم می‌تواند یک تصویر بالینی شبیه به اسکیزوفرنی، از جمله نقص شناختی را ایجاد کند (۶). ترکیبات پلی‌فنولی به واسطه ساختارهای شیمیایی منحصربه فردشان مانع استرس‌اکسیداتیو و همچنین آسیب‌های سلولی و التهاب پس از آن می‌گردند. همچنین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شوند (۷). فعالیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها ناشی از اثرات مهاری آن‌ها بر تولید رادیکال‌های آزاد و به دام اندازی گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و سایر گونه‌های واکنش‌پذیر است (۸). مطالعات نشان دهنده اثرات حفاظتی کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در ناحیهٔ هیپوکامپ مغز است (۱). سیلی‌مارین[4] فلاونوئید به دست آمده از گیاه خارمریم[5] با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز[6]، سنتز لوکوترین و تولید پروستاگلاندین از اسید آراشیدونیک را در پاسخ به محرک‌های التهابی مهار کرده و موجب کاهش سطح سرمی سیتوکین‌های التهابی می‌شوند. بیشترین اثر حفاظت عصبی سیلی‌مارین مربوط به حفاظت از نورون‌های هیپوکامپ در برابر آپوپتوز ناشی از استرس اکسیداتیو است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیلی‌مارین سبب افزایش گلوتاتیون سلولی و تحریک تولید و فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در مغز می‌گردد (۹). با این وجود به دلیل عدم حلالیت در آب، جذب خوراکی سیلی‌مارین تقریباً بین ۴۷-۲۳ درصد است که منجر به دسترسی زیستی کم آن می‌شود (۱۰). سیستم‌های تحویل هدفمند دارو بازده درمانی و جذب دارو را بهبود بخشیده و عوارض جانبی و سمیت آن را کاهش دادند. نانوذره کردن ترکیبات، سبب افزایش نفوذپذیری آنها از سد خونی- مغزی می‌شود (۱۱). امروزه از نانوذرات چیتوسان[7] به‌عنوان ماده حامل برای افزایش حلالیت داروهای فلاونوئیدی مانند سیلی‌مارین استفاده می‌کنند که با مزایای حفاظت از تجزیه آنزیمی، کنترل آزاد شدن و بهبود دسترسی زیستی اثبات شده است (۱۲). هدف از این پژوهش بررسی اثر حفاظت نورونی سیلی‌مارین و نانو ذرات چیتوسان-سیلی‌مارین بر اختلالات شناختی و تغییرات آنتی‌اکسیدانی در بافت هیپوکامپ مدل حیوانی اسکیزوفرنی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۳۵ سر موش سوری نر بالغ با محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم در اتاق حیوانات گروه زیست‌شناسی در شرایط استاندارد ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۳درجه سانتی‌گراد، نگه‌داری شدند. غذای مخصوص حیوانات به مقدار مناسب و کافی در دسترس قرار گرفت. به‌منظور سازگاری حیوانات با محیط، آزمایش‌ها یک هفته پس از انتقال موش‌ها به آزمایشگاه انجام شد. کلیهٔ این آزمایشات مطابق با آیین‌نامه کمیته اخلاق زیستی معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام گردید (IR.UMZ.REC.1400.025). به‌منظور ایجاد مدل اسکیزوفرنی، ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین به مدت ۱۵ روز به گروه کنترل مثبت، بیمار و گروه‌های تیمار، تزریق شد. حیوانات به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل یا سالم، گروه کنترل مثبت (داروی آریپی‌پرازول[8] رقیق‌شده با آب مقطر را با غلظت ۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به‌مدت ۳۰ روز به‌صورت گاواژ دریافت کردند)، گروه بیمار پیش‌تیمار شده با سیلی‌مارین که ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن سیلی‌مارین را به‌صورت گاواژ و به‌مدت ۳۰ روز دریافت نمودند و گروه بیمار پیش‌تیمار شده با چیتوسان-سیلی‌مارین که ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از چیتوسان- سیلی‌مارین را به‌صورت گاواژ و به مدت ۳۰ روز دریافت کردند (۱۴، ۱۳). آزمون رفتاری: آزمون شناسایی شئ جدید[9] به‌منظور ارزیابی میزان اختلال در حافظه از تمامی گروه‌ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین گاواژ انجام گرفت. این آزمون دارای سه مرحله عادت، آشنایی و آزمون اصلی است. حیوانات در روز اول برای عادت با محیط به مدت ۵ دقیقه درون محفظه خالی قرار

[1] Schizophrenia
[2] N-methyl-d-aspartate
[3] Ketamine
[4] Silymarin
[5] Silybum marianum
[6] Cyclooxygenase
[7] Chitosan nanoparticles
[8] Aripiprazole
[9] Novel object recognition test

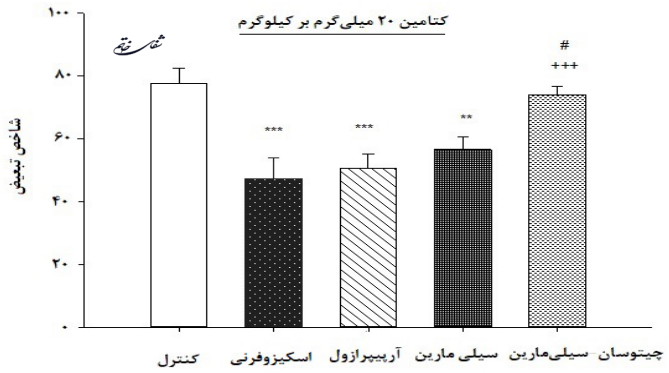
[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]
[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]

گرفتند. در روز بعد در مرحله آشنایی، موش‌ها به مدت ۵ دقیقه درون محفظه‌ای با دو شیء یکسان قرار گرفتند. برای مرحله آزمون حافظهٔ بلند مدت ۲۴ ساعت پس از آشنایی، حیوانات به مدت ۵ دقیقه در حضور یک شئ آشناو یک شئ جدید شروع به کاوش کردند. در فاصله بین آزمایشات برای ازبین بردن نشانه‌های بو، اشیاء و جعبه کاملا با اتانول شستشو داده شده و خشک گردید. زمان صرف شده برای کاووش در هر یک از دو شی با استفاده از دوربین دیجیتال ثبت گردید. در نهایت اطلاعات به دست آمده تجزیه و تحلیل شد (۱۵). پس از انجام آزمایش رفتاری، موش‌ها سربریده و برش‌گیری از مغز انجام گرفت. ۱۵۰ میلی‌گرم از بافت هیپوکامپ مغز در یک میلی‌لیتر بافر شامل ۰/۳۲ مول در لیتر ساکارز، یک میلی‌مول در لیتر EDTA و ۱۰ نانومول در لیتر Tris-HCl با PH=۷/۴ هموژن شدند. محلول هموژن به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۳۶۰۰ سانتریفیوژ شدند و محلول رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سطح مالون دی آلدهید مورد استفاده قرارگرفت. سنجش غلظت پروتئین با استفاده از روش برادفورد و استاندارد آلبومین سرم گاوی[10] انجام شد(۱۶).فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت کاتالاز به روش جنت[11] و همکاران انجام شد. مخلوط سنجش نهایی درحجم کل ۱ میلی‌لیتر حاوی بافر سدیم فسفات با PH=۷ و غلظت ۵۰ میلی‌مولار بود که شامل ۱۰ میلی مولار H_2O_2 است. جذب نوری در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت زمان ۲ دقیقه و دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با محلول شاهد که شامل همهٔ مواد به غیراز بافت هموژن است، اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز: مخلوط واکنش در حجم کل ۱ میلی‌لیتر شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر سدیم فسفات، ۴۸ میلی‌مولار پیروگالل، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۲۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی است. تغییر جذب نوری در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۴ دقیقه و دمای ۲۴ درجه در مقایسه با محلول شاهد اندازه‌گیری شد (۱۷). فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز: با روش رومرو[12] و بر پایه اکسیداسیون NADPH انجام شد. مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۰/۱ مولار با PH= ۷ است که حاوی ۲/۵ میلی‌مولار GSSG و ۰/۱ میلی‌مولار NADPH می‌باشد. در ادامه ۶۰ میکرولیتر از سوپرناتانت بافت هموژن شده به ۷۴۰ میکرولیتر محلول واکنش افزوده شد. جذب نوری آنزیم در طول موج ۳۴۰ نانومتر طی ۲ دقیقه اندازه‌گیری و ثبت شد (۱۸). اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدهید: ۲۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت بافت هموژن شده با ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک ۰/۶۷ درصد و ۰/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد مخلوط شد. مخلوط به‌دست آمده به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد درحمام آب گرم قرار داده شد. بعد از خنک شدن در دمای اتاق، مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفوژ شده و محلول رویی آن جدا گردید. در ادامه جذب محلول رویی در مقایسه با محلول شاهد (حاوی ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف (MDA) در طول موج ۵۳۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر ثبت شد. غلظت مالون دی آلدهید با استفاده از ضریب خاموشی $156\ mM^{-1}Cm^{-1}$ برپایه قانون بیرلامبرت ($A=\varepsilon Ic$) محاسبه و به صورت nmol/ml گزارش شد (۱۹). آنالیز آماری داده‌های به دست آمده در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار Prism نسخه ۷ انجام گرفته و مقادیر (P<۰/۰۵) معنی‌دار محسوب شده است. همچنین جهت مقایسه بین گروه‌ها و تجزیه و تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید.

یافته‌ها

آزمون شناسایی شئ جدید به‌منظور ارزیابی میزان اختلال حافظه انجام گرفت. با توجه به نمودار ۱ شاخص تبعیض در گروه بیمار و آرپی پرازول کنترل (P<۰/۰۰۱) و گروه تیمار با سیلی‌مارین کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل نشان داده است. در گروه نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه بیمار مشاهده گردید. همچنین این شاخص در گروه نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین در مقایسه با گروه سیلی‌مارین افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) را نشان داد.

در بررسی میزان فعالیت آنزیم CAT در ناحیهٔ هیپوکامپ



[10] Bovine Serum Albumin
[11] Genet
[12] Romero

نمودار ۱- بررسی اثر پیش‌تیمار با سیلی‌مارین و نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین بر شاخص تبعیض در آزمون شئ-جدید، نتایج به‌صورت Mean±SD بیان شده است. (**P<۰/۰۱) و (***P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل، (+++P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه بیمار ، (#P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه سیلی‌مارین.

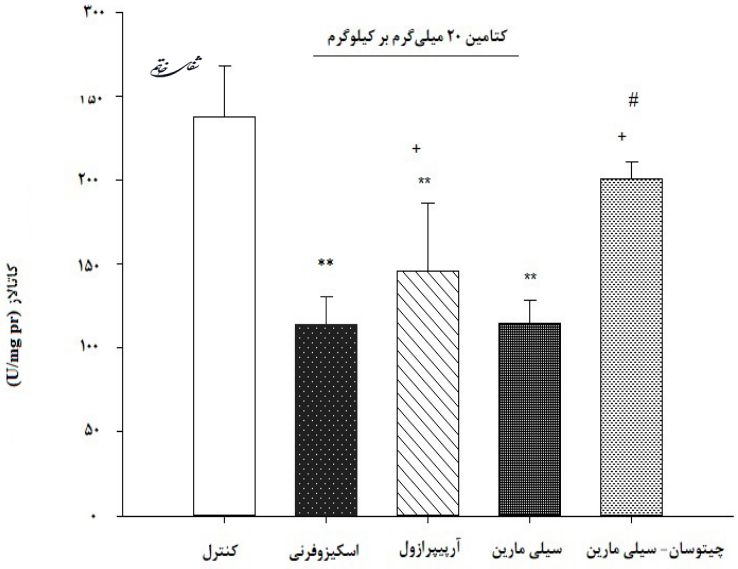
[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]
[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]

مغز بر اساس نمودار ۲، گروه‌های بیمار، آرپی‌پرازول و سیلی‌مارین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) را نشان دادند. این شاخص در گروه‌های آرپی‌پرازول و نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین، افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) را نسبت به گروه بیمار نشان داد. همچنین میزان فعالیت کاتالاز در گروه نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین در مقایسه با گروه سیلی‌مارین افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) را نشان می‌دهد.

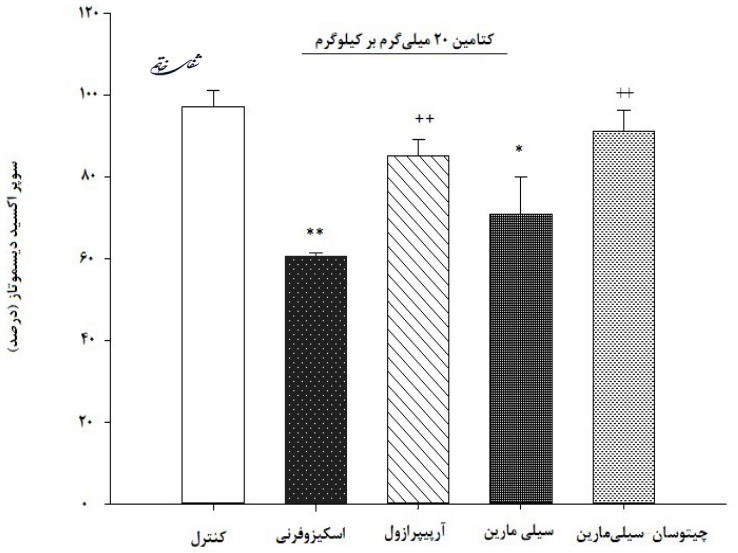
در بررسی میزان فعالیت آنزیم SOD در ناحیه هیپوکامپ مغز بر اساس نمودار ۳، در گروه بیمار (P<۰/۰۱) و گروه سیلی‌مارین (P<۰/۰۵) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نمایان گردید. همچنین فعالیت این آنزیم در گروه‌های آرپیپرازول و نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۱) را در مقایسه با گروه بیمار نشان داد.

با بررسی فعالیت آنزیم GRX در ناحیه هیپوکامپ مغز مطابق نمودار ۴ مشخص شد گروه‌های بیمار و آرپیپرازول (P<۰/۰۱) و سیلی‌مارین کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. فعالیت این آنزیم در گروه نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین (P<۰/۰۵) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه بیمار داشت. همچنین در گروه نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین نسبت به گروه سیلی‌مارین افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) مشاهده گردید.

با توجه به نمودار ۵ سطح MDA در ناحیه هیپوکامپ

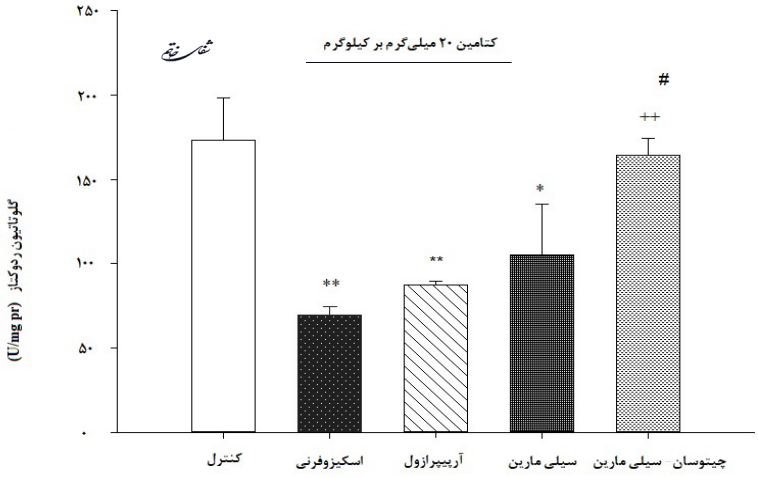


نمودار ۲- بررسی اثرات پیش‌تیمار با سیلی‌مارین و نانوذرات چیتوسان-سیلی‌مارین بر میزان فعالیت آنزیم CAT در ناحیه هیپوکامپ مغز، (n=۷)، نتایج به صورت Mean±SD بیان شده است. (**P<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل، (+P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه بیمار، (#P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه سیلی‌مارین.



نمودار ۳- بررسی اثرات پیش‌تیمار با سیلی‌مارین و نانوذرات چیتوسان-سیلی‌مارین بر میزان فعالیت آنزیم SOD در ناحیه هیپوکامپ مغز، (n=۷)، نتایج به صورت Mean±SD بیان شده است. (*P<۰/۰۵) , (**P<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل، (++P<۰/۰۱) در مقایسه با گروه بیمار، (#P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه سیلی‌مارین.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]
[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]

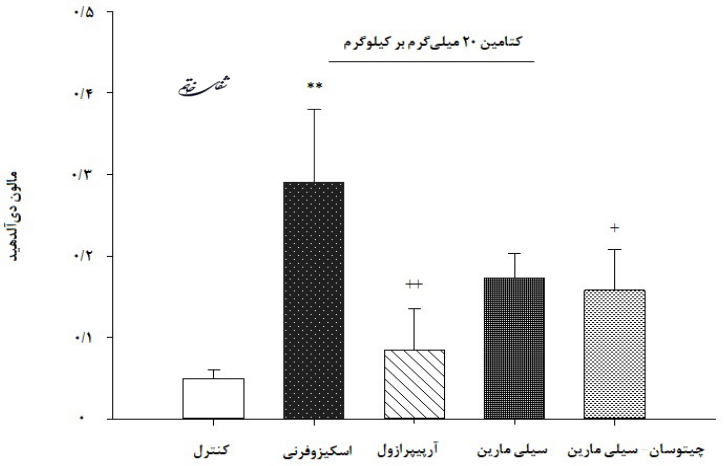


نمودار ۴- بررسی اثرات پیش‌تیمار با سیلی‌مارین و نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین بر میزان فعالیت آنزیم GRX در ناحیه هیپوکامپ مغز، نتایج به صورت Mean±SD بیان شده است. (P<۰/۰۵*) و (P<۰/۰۱**) در مقایسه با گروه کنترل، (P<۰/۰۱++) در مقایسه با گروه بیمار،(P<۰/۰۵#) در مقایسه با گروه سیلی‌مارین.

مغز مورد سنجش قرار گرفت که گروه بیمار افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۱) را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. همچنین سطح مالون دی‌آلدهید در گروه‌های آریپی‌پرازول و نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین نسبت به گروه بیمار به ترتیب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) و (P<۰/۰۵) را نشان دادند.

بحث و نتیجه‌گیری

از دیرباز گیاه خارمریم در طب سنتی مورد استفاده بوده است. سیلیمارین دارای انواع فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، محافظت کننده عصبی و کبدی و همچنین خواص ضد باکتریایی، ضد ترومبوتیکی و عروقی است (۲۰). در این مطالعه، شاخص‌های بیوشیمیایی مربوط به سیستم آنتی‌اکسیدانی و استرس‌اکسیداتیو در بافت هیپوکامپ مغز موش کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که تزریق درون‌صفاقی کتامین با غلظت ۲۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مدت ۱۵ روز متوالی موجب اختلال در شناسایی شئ‌جدید نسبت به گروه کنترل شده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیونردوکتاز را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داده و میزان مالون دی‌آلدهید را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد. کتامین جایگاه اتصال به گیرندهٔ گلوتاماتی نوع NMDA را مسدود می‌کند و متعاقبا از ورود یون‌های کلسیم از طریق غشای پلاسمایی نورون جلوگیری کرده و موجب اختلالات شناختی و رفتاری در مدل حیوانی اسکیزوفرنی می‌شود (۲۱). در این راستا، هاسر و همکاران در سال



نمودار ۵- بررسی اثرات پیش‌تیمار با سیلی‌مارین و نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین بر سطح MDA در ناحیهٔ هیپوکامپ مغز، نتایج به‌صورت Mean±SD بیان شده است. (P<۰/۰۱**) در مقایسه با گروه کنترل، (P<۰/۰۵+) و (P<۰/۰۱++) در مقایسه با گروه بیمار.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]
[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]

۲۰۱۷ برای ایجاد مدل حیوانی اسکیزوفرنی از کتامین به‌صورت تزریق زیر جلدی[13] با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز متوالی استفاده کردند که اختلالات ترکیبی در کشف و شناسایی شی جدید را نشان داد که از علائم منفی و شناختی اسکیزوفرنی می‌باشد (۲۲). بیالون و همکاران در سال ۲۰۲۰ برای ایجاد مدل حیوانی اسکیزوفرنی از کتامین با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۷ روز به صورت تزریق درون‌صفاقی[14] استفاده نمودند، آن‌ها گزارش کردند که مصرف مزمن کتامین سبب اختلال اجتماعی، اختلال در عملکرد هیپوکامپ و حافظه طولانی مدت و آسیب به حافظه شناختی در آزمون شناسایی شئ‌جدید می‌گردد (۲۳). مطالعه کاوایورا و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی کتامین با غلظت ۲۵ میلیگرم برکیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ روز متوالی باعث افزایش مالون دی آلدهید و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در هیپوکامپ می‌گردد (۲۴). حاجی‌زاده مقدم و همکاران در سال ۲۰۲۱ اثر حفاظتی نانوفیتوزوم کورکومین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۳۰ روز را در موش‌هایی با مدل کتامینی اسکیزوفرنی بررسی کرده و نشان دادند پیش تیمار با نانوفیتوزوم کورکومین به طور معنی‌دار آسیب مغزی ناشی از کتامین را بهبود میبخشد که با کاهش قابل توجه رفتارهای افسردگی و شبه اضطرابی، اختلال حافظه و نشانگرهای استرس اکسیداتیو در بافت‌های قشری و زیر قشری مشخص شد. همچنین نانوفیتوزوم کورکومین در مقایسه با کورکومین بهتر عمل کرده است (۱۳). استرس‌اکسیداتیو به‌دلیل عدم تعادل بین گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌ها ایجاد می‌شود. کتامین، به واسطه تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز، باعث ایجاد استرس‌اکسیداتیو و درنتیجه موجب علائم شناختی و منفی اسکیزوفرنی می‌شود (۲۵). مصرف تحت مزمن کتامین در موش کوچک آزمایشگاهی، فعالیت NADPH اکسیداز را افزایش داده و همچنین باعث افزایش استرس‌اکسیداتیو در قشر پیش‌پیشانی، تالاموس و هیپوکامپ شده که موجب از بین رفتن اینترنورون‌های پاروآلبومین[15] مشابه با بیماری اسکیزوفرنی می‌شود. فان و همکاران نشان دادند که استرس‌اکسیداتیو در بیماران اسکیزوفرنی موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD، CAT شده و همچنین موجب کاهش آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی در مایعات بدن می‌شود (۲۶). سیلی‌مارین به واسطه مکانیسم‌هایی مثل کاهش سایتوکین‌های التهابی، کاهش استرس‌اکسیداتیو، تغییر در تشکیلات آپوپتوز سلولی و گیرنده استروژن اثر حفاظت عصبی خود را اعمال می‌کند. همچنین دفع رادیکال‌های آزاد و بهبود عملکرد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از جمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی سیلی‌مارین به حساب می‌آیند (۲۷). در این مطالعه، اثر مصرف ۳۰ روزه سیلی‌مارین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر تغییرات رفتاری موش‌هایی که با تزریق درون‌صفاقی کتامین به مدت ۱۵ روز با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دچار رفتارهای شبه اسکیزوفرنی شدند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پیش‌تیمار با سیلی‌مارین در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای مدت ۳۰ روز باعث کاهش شاخص تبعیض در موش‌های دریافت‌کننده کتامین در مقایسه با گروه کنترل گردید. در همین راستا، حدادی و همکاران در سال ۲۰۲۰، اثر حفاظت عصبی سیلی‌مارین را بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در مغز موش بررسی کرده و نشان دادند که دریافت خوراکی سیلی‌مارین به صورت گاواژ و در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای ۱۴ روز متوالی، موجب کاهش استرس اکسیداتیو و نیتروساتیو، کاهش پراکسیداسیون لیپیدها (کاهش سطح MDA) می‌شود. همچنین سیلی‌مارین باعث افزایش میزان GSH و افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در قشر و هیپوکامپ مغز موش می‌گردد (۲۸). در این مطالعه برای بهبود دسترسی زیستی سیلی‌مارین در غلظتهای پایین از حالت کونژوگه[16] آن با چیتوسان استفاده شد که سبب افزایش دسترسی زیستی سیلی‌مارین گردید. نتایج بیوشیمیایی حاصل از بررسی وضعیت آنتی‌اکسیدان‌های بافت هیپوکامپ مغز موش و مصرف نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین نشان‌دهنده این است که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز در گروه پیش‌تیمار شده با نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن افزایش معنی‌داری نسبت به گروه بیمار نشان داد. همچنین سطح مالون دی‌آلدهید در گروه دریافت‌کننده نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه بیمار کاهش معنی‌داری را نشان داد. در مطالعه‌ای که توسط یونیس و همکاران در سال ۲۰۱۶ جهت بررسی اثر نانوذرات چیتوسان در افزایش جذب و دسترسی زیستی[17] سیلی مارین صورت گرفت، با استفاده از روش های بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک[18] مشخص شد که نانوذرات چیتوسان باعث افزایش ثبات سیلی مارین شده و از تخریب آن‌ها در دستگاه گوارش جلوگیری کرده و همچنین موجب کاهش تولید ROS می‌شود. تجویز خوراکی چیتوسان- سیلی‌مارین با غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۳ هفته به‌طور قابل توجهی از استرس اکسیداتیو، روند فیبروز و میزان فاکتور نکروز تومور α[19] (TNF-α) کاسته و این در حالی است که فاکتور رشد سلول‌های کبدی

[13] Subcutaneous injection
[14] Intraperitoneal injection
[15] Parvalbumin interneurons
[16] Conjugated
[17] Bioavailability
[18] Histopathological

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]
[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]

(HGF)[20] را افزایش داده است (۲۹). حاجی‌زاده مقدم و همکاران در سال ۲۰۲۰ اثر حفاظتی نانوذرات چیتوسان-سیلی مارین با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن را در ایسکمی مغزی[21] فراگیر بررسی کرده و نشان دادند درمان با سیلی مارین و چیتوسان-سیلی مارین موجب کاهش علائم افسردگی و بهبود اختلالات حافظه و یادگیری شده و مانع از کاهش شاخص تبعیض می‌شود. همچنین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند CAT، SOD و GRx پس از ایسکمی شده و توانسته پرکسیداسیون لیپید را کاهش دهد. همینطور با مهار فاکتورهای NF-κB می‌تواند سیتوکین های التهابی مانند TNF-α و IL-۶ را کاهش دهد. این در حالی است که نانوذرات چیتوسان- سیلی مارین توانسته به مراتب عملکرد بهتری نسبت به سیلی مارین داشته باشد (۱۴). همچنین حاجی زاده مقدم و همکاران در سال ۲۰۱۶ گزارش دادند که تزریق کتامین سبب بروز اختلالات رفتاری[22] در موش کوچک آزمایشگاهی می‌گردد (۳۰). مطالعه دیگری توسط کوئن و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام شد و آنها نشان دادند که بارگذاری سیلی بینین[23] با نانوذرات چیتوسان موجب افزایش کارایی، انتشار پایدار سیلی بینین و کاهش تخریب حین عبور از دستگاه گوارش شده و همچنین موجب تحویل هدفمند آن به بافت مورد نظر شده است (۳۱). در این پژوهش اثرات محافظت عصبی پیش‌تیمار با سیلی‌مارین و نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین بر شاخص‌های رفتاری و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در بافت هیپوکامپ مغز بررسی شد. نتایج بهبود اختلالات شناختی القا شده با کتامین در گروه تحت درمان با نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین را نشان داد. همچنین نتایج شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت هیپوکامپ مغز نشان داد که پیش‌تیمار با نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین باعث افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز و کاهش در سطح مالون دی‌آلدهید می‌گردد. مصرف نانوذرات چیتوسان- سیلی‌مارین نسبت به سیلی‌مارین به تنهایی، به دلیل افزایش دسترسی زیستی و حلالیت آبی در درمان اسکیزوفرنی و اختلالات متعاقب آن از جمله اختلالات شناختی کارایی بالاتری داشته و موفقتر عمل کرده است. بنابراین می‌توان از آن به‌عنوان استراتژی درمانی مناسب برای بهبود اسکیزوفرنی استفاده نمود.

سپاسگزاری

این پژوهش باحمایت معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام گرفت. بدین وسیله از مسئولین مربوطه تقدیر و تشکر به عمل می آید.

منابع

1. Alavian F, Alavian K, Ghiasvand S, Rezaeian L. Protective Effects of Cherry Extract on Malondialdehyde Levels, Catalase Activity, and Edema Induced by Middle Cerebral Artery Occlusion in a Rat Stroke Model. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2020; 8(3): 1-9.

2. Ahmadi M, Banazadeh Dardashti M, Karimzadeh F. The anti-aggressive effect of music therapy in an animal model of schizophrenia. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2014; 2(1):51-5.

3. MacDonald AW, Schulz SC. What we know: findings that every theory of schizophrenia should explain. Schizophrenia bulletin. 2009; 35(3): 493-508.

4. Hintze B, Borkowska A. Intensity of negative symptoms, working memory and executive functions disturbances in schizophrenic patients in partial remission period. Psychiatria Polska. 2011; 45(4): 457-67.

5. Ben-Azu B, Aderibigbe AO, Eneni A-EO, Ajayi AM, Umukoro S, Iwalewa EO. Morin attenuates neurochemical changes and increased oxidative/nitrergic stress in brains of mice exposed to ketamine: prevention and reversal of schizophrenia-like symptoms. Neurochemical Research. 2018; 43(9): 1745-55.

6. Xu K, Lipsky RH. Repeated ketamine administration alters N-methyl-D-aspartic acid receptor subunit gene expression: implication of genetic vulnerability for ketamine abuse and ketamine psychosis in humans. Experimental Biology and Medicine. 2015; 240(2): 145-55.

7. Leri M, Scuto M, Ontario ML, Calabrese V, Calabrese EJ, Bucciantini M, et al. Healthy effects of plant polyphenols: molecular mechanisms. International journal of molecular sciences. 2020; 21(4): 1250.

8. Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. Food Chemistry. 2019; 299: 125124.

9. Wang MJ, Lin WW, Chen HL, Chang YH, Ou HC, Kuo JS, et al. Silymarin protects dopaminergic neurons against lipopolysaccharide-induced neurotoxicity by inhibiting microglia activation. European Journal of Neuroscience. 2002; 16(11): 2103-12.

10. Ghosh A, Ghosh T, Jain S. Silymarin-a review on the pharmacodynamics and bioavailability enhancement approaches. Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2010; 2(10): 348-55.

11. Afjeh Dana E, Marivani M, Mehravi B, Karimzadeh F, Ashtari K. Development of Nanoparticles for

[19] Tumor necrosis factor (TNF-α)
[20] Hepatocyte growth factor
[21] Cerebral ischemia
[22] Cognitive disorders
[23] Silibinin

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]
[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]

Drug Delivery to the Brain. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2017; 5(2): 76-87.

12. Ali A, Ahmed S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. International journal of biological macromolecules. 2018; 109: 273-86.

13. Moghaddam AH, Maboudi K, Bavaghar B, Sangdehi SRM, Zare M. Neuroprotective effects of curcumin-loaded nanophytosome on ketamine-induced schizophrenia-like behaviors and oxidative damage in male mice. Neuroscience Letters. 2021; 765: 136249.

14. Moghaddam AH, Sangdehi SRM, Ranjbar M, Hasantabar V. Preventive effect of silymarin-loaded chitosan nanoparticles against global cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. European Journal of Pharmacology. 2020; 877: 173066.

15. Antunes M, Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. Cognitive processing. 2012; 13(2): 93-110.

16. Olson BJ, Markwell J. Assays for determination of protein concentration. Current Protocols in Pharmacology. 2007; 38(1): A. 3A. 1-A. 3A. 29.

17. Genet S, Kale RK, Baquer NZ. Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (Trigonella foenum graecum). Molecular and cellular biochemistry. 2002; 236(1): 7-12.

18. Romero FJ, Romá J, Bosch-Morell F, Romero B, Segura-Aguilar J, Llombart-Bosch A, et al. Reduction of brain antioxidant defense upon treatment with butylated hydroxyanisole (BHA) and Sudan III in Syrian golden hamster. Neurochemical research. 2000; 25(3): 389-93.

19. Kim MS, Lee JI, Lee WY, Kim SE. Neuroprotective effect of Ginkgo biloba L. extract in a rat model of Parkinson's disease. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2004; 18(8): 663-6.

20. Demir M, Amanvermez R, Polat AK, Karabıçak I, Cınar H, Kesicioğlu T, et al. The effect of silymarin on mesenteric ischemia-reperfusion injury. Medical Principles and Practice. 2014; 23(2): 140-4.

21. Urban-Kowalczyk M, Pigońska J, Śmigielski J. Pain perception in schizophrenia: influence of neuropeptides, cognitive disorders, and negative symptoms. Neuropsychiatric disease and treatment. 2015; 11: 2023.

22. Hauser MJ, Isbrandt D, Roeper J. Disturbances of novel object exploration and recognition in a chronic ketamine mouse model of schizophrenia. Behavioural brain research. 2017; 332: 316-26.

23. Białoń M, Żarnowska M, Antkiewicz-Michaluk L, Wąsik A. Pro-cognitive effect of 1MeTIQ on recognition memory in the ketamine model of schizophrenia in rats: the behavioural and neurochemical effects. Psychopharmacology. 2020; 237(6): 1577-93.

24. Kawaura K, Koike H, Kinoshita K, Kambe D, Kaku A, Karasawa J-i, et al. Effects of a glycine transporter-1 inhibitor and D-serine on MK-801-induced immobility in the forced swimming test in rats. Behavioural brain research. 2015; 278: 186-92.

25. Coronel-Oliveros CM, Pacheco-Calderón R. Prenatal exposure to ketamine in rats: Implications on animal models of schizophrenia. Developmental psychobiology. 2018; 60(1): 30-42.

26. Fan N, Luo Y, Xu K, Zhang M, Ke X, Huang X, et al. Relationship of serum levels of TNF-α, IL-6 and IL-18 and schizophrenia-like symptoms in chronic ketamine abusers. Schizophrenia research. 2015; 169(1-3): 10-5.

27. Pradhan S, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. Indian journal of medical research. 2006; 124(5): 491.

28. Haddadi R, Shahidi Z, Eyvari-Brooshghalan S. Silymarin and neurodegenerative diseases: Therapeutic potential and basic molecular mechanisms. Phytomedicine. 2020; 79: 153320.

29. Younis N, Shaheen MA, Abdallah MH. Silymarin-loaded Eudragit® RS100 nanoparticles improved the ability of silymarin to resolve hepatic fibrosis in bile duct ligated rats. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2016; 81: 93-103.

30. Hajizadeh Moghaddam A. The protective effect of quince (Cydonia oblonga Miller) leaf extract on locomotor activity and anxiety-like behaviors in a ketamine model of schizophrenia. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2016; 19(5): 31-41.

31. Kuen CY, Fakurazi S, Othman SS, Masarudin MJ. Increased loading, efficacy and sustained release of silibinin, a poorly soluble drug using hydrophobically-modified chitosan nanoparticles for enhanced delivery of anticancer drug delivery systems. Nanomaterials. 2017; 7(11): 379.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.23221887.1401.10.2.8.4]
[DOI: 10.61186/shefa.10.2.1]