اثرات ضد افسردگی و آنتی اکسیدانی عصاره سیانو باکتری *Nostoc commune* در یک مدل ایسکمی/ رپرفیوژن مغز موش صحرایی

اکبر حاجی زاده مقدم[1*]، الهام امینی[2]، سهیلا ابراهیمی[2] و احسان نظیفی[3]

[1] ایران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم جانوری

[2] ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم ، گروه زیست شناسی

[3] ایران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۰۸

چکیده

سکته مغزی ایسکمی دومین علت مرگ و سومین علت ناتوانی در سطح جهان است. در مطالعه حاضر، اثرات ضد افسردگی و آنتی اکسیدانی سیانوباکتری نوستوک کمون در مدل حیوانی ایسکمی فراگیر مغزی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر به ۵ گروه (کنترل، نوستوک کمون، ایسکمی، ایسکمی پیش تیمار شده با نوستوک کمون ۳۵ و ۷۰) تقسیم بندی شدند. رت ها با عصار نوستوک کمون (دوزهای ۳۵ و ۷۰ میلی گرم برکیلوگرم، حل شده در سالین بصورت خوراکی) برای ۱۴ روز پیش‌تیمار شدند در حالیکه در گروه های کنترل و ایسکمی معادل همان حجم سالین دریافت نمودند. رفتارهای شبه افسردگی ۴۸ ساعت بعد از القاء مدل ایسکمی، با استفاده از آزمون های شنای اجباری و تعلیق دم ارزیابی شدند. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز نیز در قشر مغز اندازه گیری شدند. مطالعه حاضر نشان داد، تیمار عصاره نوستوک کمون در دوز ۷۰ میلی گرم برکیلوگرم بطور معنی داری ($P<۰/۰۵$) زمان بی‌حرکتی القاء شده با آسیب ایسکمی را در هر دو آزمون شنای اجباری و تعلیق دم کاهش داد و زمان حرکت عمودی را نیز برگرداند. در مقایسه با گروه ایسکمی، پیش‌تیمار سیانوباکتری نوستوک کمون فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز قشر مغز را بطور معنی داری افزایش داد. این یافته ها نشان می دهد عصاره نوستوک کمون افسردگی پس از سکته را بوسیله مهار استرس اکسیداتیو مغزکاهش می دهد و به عنوان درمانی برای آسیب ایسکمی مغزی پیشنهاد می گردد.

واژه‌های کلیدی: ایسکمی، نوستوک کمون، ضد افسردگی، آنتی‌اکسیدان

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۱۳۵۳۰۲۴۵۳ ، پست الکترونیکی: a.hajizadeh@umz.ac.ir

مقدمه

سکته مغزی یکی از دلایل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است و یکی از مهمترین دلایل معلولیت طولانی مدت افراد در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه است (۹و ۶). انسداد شریان مغزی میانی، شایع‌ترین علت سکته مغزی ایسکمیک است و منجر به مرگ بالای ۴۰ تا ۸۰ درصدی می شود. در واقع طی سکته مغزی، جریان خون ضعیف به مغز، سبب مرگ سلول‌ها می‌شود (۲۷و ۱۴). آسیب ایسکمی-رپرفیوژن (I/R) در هنگام خون-رسانی مجدد، مدتی پس از ایسکمی یا فقدان اکسیژن اتفاق می‌افتد. اگرچه خونرسانی مجدد در درمان سکته ایسکمیک حیاتی است با این حال، بروز اکسیداسیون پس از رپرفیوژن به دلیل مقادیر زیادی از گونه های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) رخ می دهد که منجر به آپوپتوز و پاسخ التهابی می‌شود. سکته ایسکمی اغلب با اختلال در

سد خونی-مغزی و ادم مغزی همراه است (۵و ۲۷). ایسکمی مغزی منجر به اختلالات حرکتی، حسی، شناختی و افسردگی می‌شود. بیشترین اختلالات گزارش شده در بیماران سکته، افسردگی و اضطراب است (۲۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند یکی از مهمترین عوامل محافظتی در برابر آسیب‌های عصبی ناشی از ایسکمی باشد. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی مغز شامل ترکیبات واکنش اکسایش-کاهش و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است (۹، ۲۳و ۲۵).

ترکیبات طبیعی سرشار از آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است مهمترین عامل در پیشگیری از بیماری‌های ناشی از استرس‌اکسیداتیو مانند ایسکمی باشند. طی دهه‌های گذشته، سیانوباکترها به عنوان تولیدکننده‌های متابولیت‌های ثانویه فعال بیولوژیکی با خواص درمانی بالقوه شناخته شده‌اند. برخی از مطالعات پتانسیل بالقوه میکروجلبک‌ها و سیانوباکترها را به عنوان منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی تأیید کرده است (۲۲). نوستوک کمون (*Nostoc Commune*) یک سیانوباکتر مایکروسکوپی تثبیت کننده نیتروژن از خانواده Nostocaceae است (۱۵). این سیانوباکتری به طور سنتی در درمان التهاب، بیماری گوارشی، اضطراب و خستگی مزمن استفاده می‌شد. سلول‌های نوستوک، مجموعه‌ای از مؤلفه‌های آنتی‌اکسیدانی در برابر استرس‌اکسیداتیو را نشان می‌دهند (۱۱). اسید پالمیتوئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک که تقریباً از ۷۵ درصد کل اسیدهای چرب موجود در عصاره لیپیدی نوستوک کمون را تشکیل می‌دهند، بیان ژن‌های پیش التهابی را در ماکروفاژها مهار می‌کند (۱۷ و۱۸). عصاره پلی‌ساکاریدی از نوستوک قادر به جدا کردن آنیون‌های سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل، افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در مکانیسم‌های کاهش پراکسیداسیون لیپید و استرس‌اکسیداتیو می‌باشد. پلی ساکاریدهای نوستوک کمون، توانایی مهار رادیکال‌های آنیون سوپراکسید و هیدروکسیل را در شرایط in vitro نشان داده‌اند (۱۱و ۱۵). باتوجه به مطالعات پیشین هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره سیانو باکتری نوستوک کمون بر اختلالات افسردگی و استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی فراگیر مغزی در مدل حیوانی است.

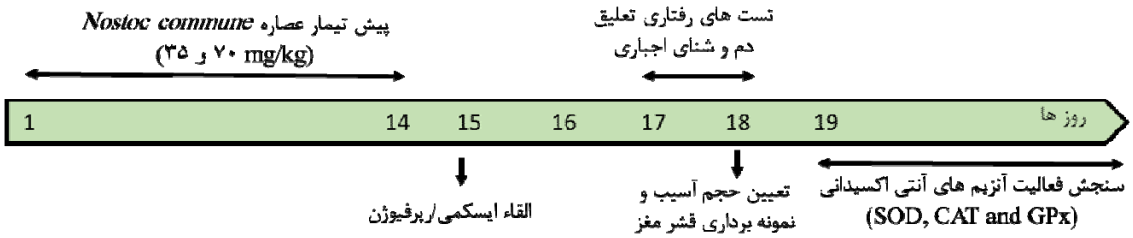
مواد و روشها

روش عصاره‌گیری: نمونه های سیانوباکتری *Nostoc commune* از منطقه زیرآب در شهر سوادکوه استان مازندران در طی ماههای آبان تا آذر سال ۱۳۹۷ جمع آوری شدند. بعد از آماده سازی اولیه برای تهیه عصاره، ۴۰ گرم از کلونی های خشک سیانوباکتری را پودر نموده و به آن ۵۰۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۰۰ دور بر دقیقه قرارگرفت. در نهایت عصاره حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و توسط دستگاه تبخیر کننده چرخشی (D Lab) در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد و فشار خلا پایین خشک شد (۱۲). برای تهیه دوزهای مورد نظر، عصاره خشک شده در محلول نرمال سالین حل گردید.

مطالعه حیوانی: دراین پژوهش تجربی ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز حیوانات انستیتو پاستور آمل خریداری و به اتاق نگهداری حیوانات منتقل شد. حیوانات با دوره‌ی روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و بدون محدودیت در دسترسی به آب و غذا نگه‌داری شدند. تمامی آزمایش‌ها براساس منشور اخلاق زیستی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب در دانشگاه مازندران با کد IR.UMZ.REC.1397.106 انجام شد.

در این مطالعه حیوانات به صورت تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ گونه تیماری دریافت نکردند. گروه عصاره که به مدت دوهفته نوستوک کمون را به مقدار ۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، از طریق گاواژ دریافت کرد. گروه ایسکمی/رپرفیوژن (I/R) به همان حجم سالین دریافت کردند. گروه‌های I/R پیش‌تیمار

شده با نوستوک کمون ابتدا به مدت دو هفته به ترتیب نوستوک کمون را در دوزهای ۳۵ و ۷۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ دریافت نمودند و سپس تحت جراحی ایسکمی مغزی فراگیر قرارگرفتند (شکل ۱).



شکل۱- دیاگرام زمان بندی شده مراحل آزمایش

القای ایسکمی: برای القاء مدل ایسکمی ابتدا حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلزین بیهوش شدند. سپس در ناحیه گردن برش طولی به اندازه یک سانتی‌متر ایجاد شد و بعد از کنار زدن پوست و عضلات، شریان‌های کاروتید چپ و راست را به مدت پنج دقیقه توسط گیره-های عروقی بسته نگه داشته شد. در ادامه گیره‌ها را به مدت ده دقیقه برداشته و مجدداً به مدت پنج دقیقه شریان-های کاروتید مسدود شد. در نهایت گیره‌های عروقی را برداشته و گردش خون در هر دو شریان کاروتید ایجاد شد. در طی عمل جراحی و دوره نقاهت تا زمان به هوش آمدن حیوانات، دمای رکتال با استفاده از تب سنج دیجیتال رزمکس (Rossmax) مدل TG380 ساخت کشور چین، کنترل و درجه حرارت بدن ثابت نگه داشته شد (۱۳).

آزمون‌های رفتاری: برای بررسی میزان افسردگی، ۴۸ ساعت پس از جراحی، آزمون‌های رفتاری شنای اجباری و تعلیق دم انجام شد. بطور خلاصه در آزمون شنای اجباری رت‌ها به مدت ۶ دقیقه در یک سیلندر پلاستیکی عمودی (ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر و قطر ۲۵ سانتی‌متر) حاوی ۲۷ سانتی‌متر آب تازه با دمای ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مدت زمان بی‌حرکتی و زمان بالا آمدن حیوان در مدت ۴ دقیقه آخر با دوربین (Nikon D3500) ثبت و محاسبه شد (۱). در آزمون تعلیق دم نیز موش‌ها به مدت ۶ دقیقه از ناحیه دم به ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر به صورت معلق قرار گرفتند. مدت زمان بی‌حرکتی در ۴ دقیقه آخر با دوربین ثبت و محاسبه شد.

اندازه‌گیری حجم آسیب مغزی: پس از ارزیابی اختلالات رفتاری حیوانات بیهوش شدند و بافت قشر مغز خارج گردید. برای مشخص کردن حجم آسیب ابتدا با استفاده از بافت مغزی برش عرضی به ضخامت ۲ میلی متر تهیه شد و برای رنگ آمیزی به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۲ درصد تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC, Sigma) در آب ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. برش‌ها برای تثبیت شدن به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد بافر شده قرار گرفتند و بعد از آماده سازی نهایی از برش‌ها به طور جداگانه عکس گرفته شد. نواحی آسیب‌دیده به رنگ سفید و نواحی سالم به رنگ قرمز در می‌آید (۲۰).

تهیه هموژن بافتی: ۱۵۰ میلی گرم بافت قشر مغز از هر موش در ۱ میلی لیتر بافر (۱۰ نانومول در لیتر Tris-HCl، pH = ۷/۴، ۱ میلی مول در لیتر EDTA و ۰/۳۲ مول در لیتر ساکارز) هموژن شد. سپس با دور g ۱۳۶۰۰ در دمای۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. ماده رویی گرفته شده برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز استفاده شد.

آنزیم کاتالاز: برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز از روش ابی استفاده شد (۳). برای سنجش فعالیت آنزیم

CAT مخلوط واکنش، حاوی بافر سدیم فسفات با غلظت ۵۰ میلی‌مولار در pH =۷ است که حاوی ۱۰میلی مولار H_2O_2 می‌باشد. پس از اضافه کردن بافت مغزی هموژن‌شده به مخلوط واکنش، جذب محلول در طول موج۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه خوانده شد.

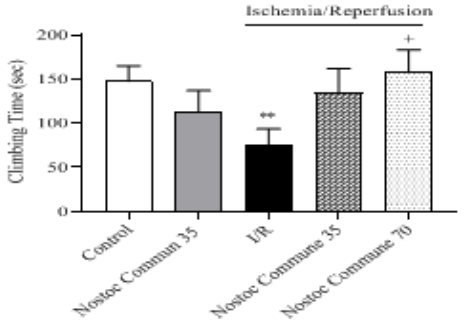
آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: سنجش فعالیت آنزیم SOD براساس روش جنت صورت گرفت. به طور خلاصه مخلوط واکنش، شامل بافر سدیم فسفات با غلظت ۵۰ میلی مولارpH=۷ است که حاوی ۰/۰۰۳ گرم پیروگالل و ۰/۰۰۱۸ گرم EDTA می‌باشد. جذب محلول در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه خوانده شد (۷).

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز: برای اندازه‌گیری فعالیت GPx هر نمونه، از مخلوط واکنشی شامل ۲۰۰ میکرولیتر سوپرناتانت، ۱میلی‌لیتر سدیم آزید ۵ میلی مولار، ۱ میلی‌لیتر سدیم فسفات ۰/۴ مولار با pH=۷، ۱ میلی‌لیتر EDTA ۰/۴ میلی مولار، ۱میلی‌لیتر بافر گلوتاتیون کاهیده ۴ میلی‌مولار تشکیل شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در نهایت ۱ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۴ میلی‌مولار به آن اضافه گردید و پس از گذشت ۱ دقیقه در دستگاه اسپکتروفتومر قرارگرفت و جذب محلول به مدت ۲ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر خوانده شد.

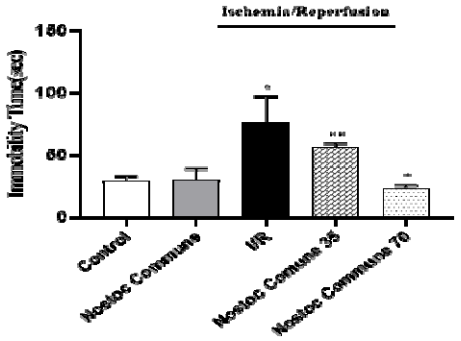
آنالیز آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و در صورت معنی‌دار شدن از آزمون درون گروهی Tukey استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار Prism با نسخه ۸ انجـام شده و مقادیر (P<۰/۰۵) معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت (Mean±SD) بیان شدند.

نتایج

در آزمون شنای اجباری، شاخص حرکت عمودی در گروه I/R نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) نشان داد و پیش تیمار عصاره نوستوک کمون با دوز ۷۰ میلی گرم برکیلوگرم سبب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) این شاخص نسبت به گروه بیمار گردید (نمودار ۱). همچنین با توجه به نمودار ۲، شاخص بی‌حرکتی نیز در آزمون شنای اجباری در گروه I/R نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) نشان داد. درحالیکه پیش تیمار با دوز ۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره نوستوک کمون سبب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) شاخص بی حرکتی نسبت به گروه I/R شده است.



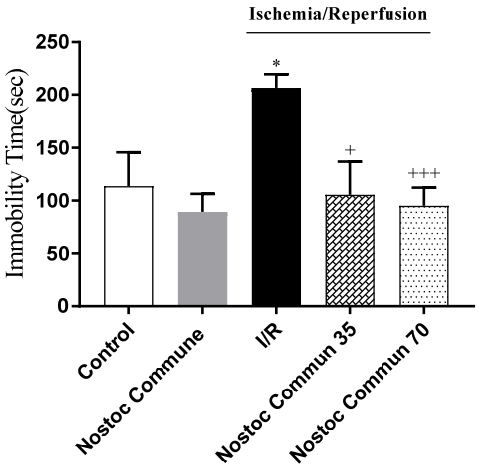
نمودار۱- اثر پیش‌تیمار عصاره نوستوک کمون بر شاخص حرکت عمودی در آزمون شنای اجباری (n=7, Mean± SD). P<0.01 ** در مقایسه با گروه کنترل و P<0.05 + در مقایسه با گروه I/R..



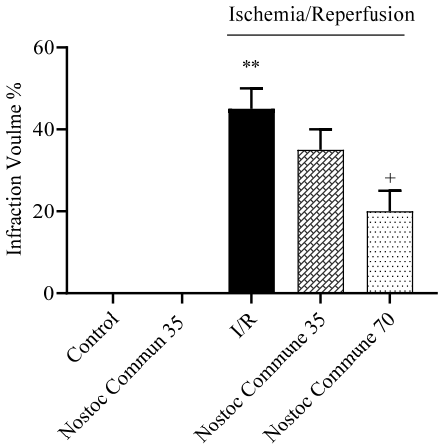
نمودار۲- اثر پیش‌تیمار عصاره نوستوک کمون بر شاخص بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری (n=7, Mean± SD). P<۰/۰۵ *و ۰/۰۱> P** در مقایسه با گروه کنترل وP<۰/۵ + در مقایسه با گروه I/R..

در آزمون تعلیق دم، شاخص بی‌حرکتی در گروه I/R نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) را نشان داده است. درحالیکه دو گروه نوستوک کمون ۳۵و ۷۰ نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشته‌اند. اما این شاخص در گروه دریافت کننده نوستوک کمون ۳۵و ۷۰ نسبت به

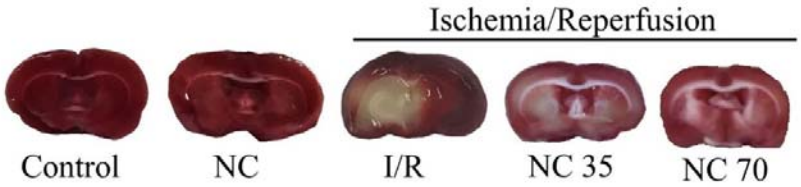
گروه I/R، به ترتیب کاهش معنی‌داری (p< ۰/۰۵ و ۰/۰۰۱ >p) را نشان داده‌اند (نمودار ۳).



نمودار۳- اثر پیش‌تیمار عصاره نوستوک کمون بر شاخص بی‌حرکتی در آزمون تعلیق دم (n=7, Mean± SD). P<۰/۰۵ *در مقایسه با گروه کنترل و P<۰/۰۵ +، P<۰/۰۱ ++ در مقایسه با گروهI/R.



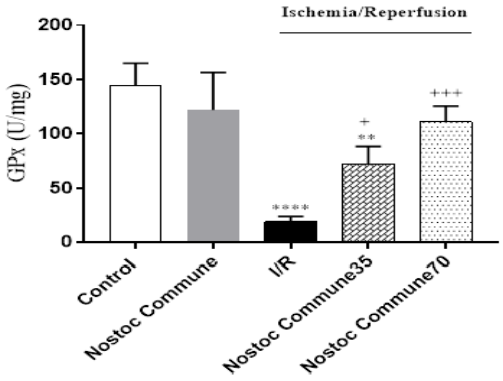
نمودار ۴- اثر پیش تیمار نوستوک کمون بر حجم آسیب مغزی (n=7, Mean ± SD).**P< ۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل و P< ۰/۰۵ + در مقایسه با گروه I/R.



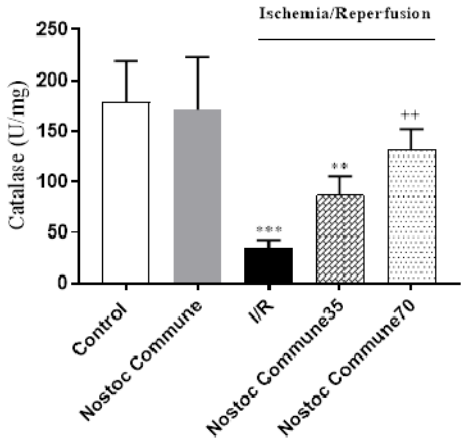
شکل۲- اثر عصاره نوستوک کمون بر حجم آسیب مغزی، ناحیه ایسکمی به رنگ سفید و ناحیه ایسکمی نشده به رنگ قرمز دیده می شود

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مغز در گروه I/R کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل نشان داده است. در حالیکه فعالیت این آنزیم در گروه نوستوک کمون۳۵ و ۷۰ نسبت به گروه I/R، به ترتیب افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۰۱, P< ۰/۰۵) مشاهده شده است.

فعالیت آنزیم کاتالاز مغز در گروه I/R کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل مشاهده شده است. در گروه نوستوک کمون ۷۰ نسبت به گروه I/R، افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۱) مشاهده شده است.

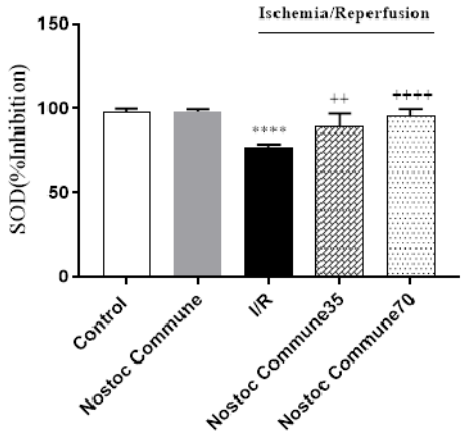


نمودار۵- اثر پیش‌تیمار عصاره نوستوک کمون بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در قشر مغز (n=7, Mean± SD). ۰/۰۱ >P* و P<۰/۰۰۱*** در مقایسه با گروه کنترل، P< ۰/۰۵ + و P<۰/۰۰۱ +++ در مقایسه با گروه I/R.



نمودار۶- اثر پیش‌تیمار با نوستوک کمون بر فعالیت آنزیم کاتالاز در قشر مغز (n=7, Mean± SD). P< ۰/۰۱ * و P< ۰/۰۰۱*** در مقایسه با گروه کنترل P< ۰/۰۱ ++ در مقایسه با گروه I/R.

در بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کاهش معنی‌داری (P< ۰/۰۰۱) در گروه IR نسبت به گروه کنترل مشاهده شده است. این شاخص در گروه نوستوک کمون ۳۵ و ۷۰ نسبت به گروه I/R، به ترتیب افزایش معنی‌داری (P< ۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱) داشته است.



نمودار۷- اثر پیش‌تیمار نوستوک کمون بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در قشر مغز (n=7, Mean± SD) P< ۰/۰۰۱*** در مقایسه با گروه کنترل و P< ۰/۰۱++ و P<۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه I/R.

بحث و نتیجه گیری

ریز جلبک‌ها منابع بسیار خوبی از ترکیبات زیست فعال مختلف مانند استرول‌ها، اسیدهای چرب، ترکیبات فنلی، کاروتنوئیدها و پلی‌ساکاریدها هستند. به دلیل وجود چندین متابولیت اولیه و ثانویه در سلولهای جلبکی، بیوتکنولوژی ریز جلبک ها با کاربرد آن در صنایع انرژی، غذا، داروسازی و آرایشی، مورد توجه بسیاری قرارگرفته است. اخیراً استفاده از زیست توده جلبکی خشک و ترکیبات فعال بیولوژیکی مشتق از جلبک به عنوان دارو، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. سیانوباکتری ها به عنوان غذایی کاربردی و دارویی، منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان ها می باشند (۱۰). در این مطالعه اثرات ضد افسردگی و آنتی اکسیدانی عصاره سیانوباکتری نوستوک کمون در یک مدل ایسکمی فراگیر مغزی مورد بررسی قرارگرفت. نتایج این مطالعه نشان داده است که پیش‌تیمار با عصاره نوستوک کمون سبب کاهش معنی دار رفتارهای شبه افسردگی القاء شده با ایسکمی در آزمون های شنای اجباری و تعلیق دم و همچنین کاهش حجم آسیب مغزی می گردد. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز قشر مغز نیز در گروه‌های پیش‌تیمار شده با نوستوک کمون افزایش چشمگیری یافت. القاء ایسکمی و کاهش خونرسانی به مغز سبب بروز رفتارهای شبه افسردگی در مدل حیوانی می-شود. افسردگی پس از سکته مغزی (PSD) یکی از اختلالات عاطفی شایع در بیماری سکته فراگیر مغزی است .تغییر در پتانسیل ردوکس و وقوع استرس اکسیداتیو در مغز با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز همراه است که نشان دهنده حساسیت مغز به کاهش خونرسانی و استرس اکسیداتیو می‌باشد (۲). استرس اکسیداتیو نقش مهمی در آبشار پیچیده تغییرات نوروپاتولوژیک دارد که توسط ایسکمی ایجاد می شود. همراه با استرس اکسیداتیو،

التهاب نیز می تواند سبب آسیب بافت مغزی گردد. ایسکمی مغزی باعث القاء پاسخ های التهابی مداوم می‌شود که گرانولوسیت ها، سلول های T در آن دخالت دارند و در مرحله بعد ماکروفاژها و سلول های میکروگلیایی است که واسطه های پیش التهابی مانند اینترلوکین ۱ (IL-1)، IL-6، IL-10، فاکتور نکروز تومور (TNF-α) α و اینترفرون γ (IFN-γ) ترشح می کنند که همگی به طور بالقوه سیتوتوکسیک هستند (۲۷). تحت شرایط ایسکمی مغزی سراسری، استرس اکسیداتیو شدید و پیک التهاب عصبی در ۲۴ تا ۴۸ ساعت اول خونرسانی مجدد رخ می دهد، که ممکن است فرصتی برای مداخلات ترکیبات دارویی فراهم کند. ترکیبات با خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد التهابی ممکن است اثربخشی درمان در کاهش آسیب های ایسکمی مغزی داشته باشند. اضطراب، افسردگی، روان پریشی و بی علاقگی از اختلالات رفتاری برجسته ناشی از سکته مغزی ایسکمیک حاد است در این میان، افسردگی یک اختلال عصبی-روانپزشکی مهم و مکرر است که در بیماران سکته مغزی رخ می دهد. مطالعات قبلی، نشان داده است که استرس اکسیداتیو هم در اختلالات افسردگی و هم در آسیب ناشی از سکته مغزی نقش مهمی دارد. در مطالعه‌ای ویچا و همکاران گزارش دادند استرس اکسیداتیو پس از خونرسانی مجدد، سبب افزایش سطح داخل سلولی گونه های واکنش پذیر اکسیژن و آسیب به لیپیدها، پروتئین ها و DNA می گردد (۲۶).

مطالعات اخیر نشان می دهد که ترکیبات فعال بیولوژیکی مشتق شده از گونه های مختلف ریز جلبکها دارای خواص دارویی متعددی مانند فعالیت های ضد التهابی، ضد سرطانی، ضد میکروبی، آنتی اکسیدان هستند. عصاره نوستوک کمون حاوی انواع مختلفی از مواد فعال زیستی است که می‌توانند بدن را در برابر استرس‌های گوناگون از جمله اکسیداسیون حفظ کند، بطوریکه عصاره مشتق شده از آن سبب ایجاد اثرات ضدالتهابی از جمله فعالیت‌های ضدعفونی و ضدباکتریایی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین موجب ایمنی بدن و کاهش کلسترول می‌شود (۱و ۴). C- Phycocyanin یکی از پروتئین های محلول در آب و ترکیب فعال زیستی شناخته شده در جلبکهای سبز آبی مختلف است که بیش از ۲۰ درصد از وزن خشک جلبک را تشکیل می دهد (۱۸). عصاره نوستوک کمون دارای دو نوع رنگدانه جاذب اشعه ماوراء بنفش شامل اسیدآمینه‌های شبه مایکوسپورین (MAA) و scytonemin است که هر دو رنگدانه، فعالیت پاکسازی رادیکال آزاد را نشان می‌دهند. نتایج این تحقیق در راستای تایید مطالعات قبلی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره نوستوک کمون را گزارش نموده‌اند. در مطالعه ای که توسط ایتوه و همکاران انجام شد، اسکایتونمین کاهنده در نوستوک کمون به طور قابل توجهی تولید NO ناشی ازIFNγ/ LPS را در سلول‌های Raw264.7 ماکروفاژ موش سرکوب نمود. اسکایتونمین با القای بیان هم اکسیژناز-۱ (HO-1) از طریق فعال‌سازی مسیر سیگنالی Nrf2/ARE و بواسطه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پاسخ‌های التهابی را سرکوب می‌کند (۸). مطالعه حیوانی مدل التهاب القاء شده با کاراجینان نیز نشان داد این ترکیب احتمالاً بواسطه خاصیت آنتی اکسیدانی خود سبب کاهش التهاب می‌گردد (۲۳). لی و همکاران اثر حفاظتی نوستوک را در برابر سرکوب سیستم ایمنی و استرس‌اکسیداتیو مطالعه نمودند. در این بررسی، تقویت سیستم ایمنی هومورال موش توسط عصاره نوستوک پیشنهاد گردید (۱۰). نتایج رفتاری و آنزیمی مطالعه حاضر نشان می دهد که غلظت بالاتر عصاره نوستوک کمون به طور قابل توجهی سبب کاهش افسردگی پس از سکته و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی قشر مغز گردد که احتمالاً ناشی از غلظت بیشتر ترکیبات فعال زیستی است. بنابراین می‌توان نوستوک را به عنوان گزینه‌ای مناسب و وابسته به رژیم غذایی برای کاهش افسردگی پس از سکته و آسیب‌های مغزی ناشی از استرس‌اکسیداتیو مطرح نمود. با این حال، مطالعات بیشتری در مورد شناسایی مکانیسم دقیق عملکرد عصاره نوستوک کمون مورد نیاز است.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از مجموعه علوم زیستی دانشگاه مازندران برای فراهم نمودن امکانات مورد نیاز این مطالعه کمال سپاسگزاری را دارند. همچنین از خانم صدیقه خانجانی که در انجام آزمایش ما را یاری نمودند، نهایت تشکر به عمل می آید.

منابع

۱- محمد نژاد، س.، حاجی زاده مقدم، ا.، و ولی زادگان، ف.، ۱۳۹۶. اثر ضد افسردگی کوئرستین و نانوکریستال کوئرستین در مدل حیوانی بیماری اسکیزوفرنی با استفاده از تست شنای اجباری، مجله پژوهش های جانوری دوره سی ام، شماره ۳، صفحات ۳۷۶-۳۶۵.

۲- هراتیان، ز.، ولی زادگان، ف.، و سید علیپور، ب.، ۱۳۹۹. بررسی اثرات عصاره میوه عناب (*Ziziphus jujube*) بر استرس اکسیداتیو هیپو کامپی و اختلال حافظه فضایی القاء شده با مورفین در موش صحرایی نر، مجله پژوهش های جانوری دوره سی و سوم، شماره ۳، صفحات ۲۷۹-۲۹۲.

3- Aebi, H., 1974. Catalase in Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition), H.U. Bergmeyer, Editor, Academic Press, PP: 673-684.

4- Blagojević, D., Babić, O., Rašeta, M., Šibul, F., Janjušević, L., and Simeunović, J., 2018. Antioxidant activity and phenolic profile in filamentous cyanobacteria: The impact of nitrogen. Journal of Applied Phycology, 30(4), PP: 2337-2346.

5- Chang, C., Zhao, Y., Song, G., and She, K., 2018. Resveratrol protects hippocampal neurons against cerebral ischemia-reperfusion injury via modulating JAK/ERK/STAT signaling pathway in rats, Journal of neuroimmunology, 315, PP: 9-14.

6- Feigin, V. L., Norrving, B., and Mensah, G. A., 2017. Global burden of stroke. Circulation research, 120 (3), PP: 439-448.

7- Genet, S., Kale, R. K., and Baquer, N. Z., 2002. Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: Effect of vanadate and fenugreek (Trigonella foenum graecum). Molecular and Cellular Biochemistry, 236(1), PP: 7-12.

8- Itoh, T., Tsuchida, A., Muramatsu, Y., Ninomiya, M., Ando, M., Tsukamasa, Y., and Koketsu, M., 2014. Antimicrobial and anti-inflammatory properties of nostocionone isolated from Nostoc commune Vauch and its derivatives against Propionibacterium acnes, Anaerobe, 27, PP: 56-63.

9- -Kaur, J., Arora, S., Singh, B., Thakur, L. C., Gambhir, J., and Prabhu, K. M., 2011. Role of oxidative stress in pathophysiology of transient ischemic attack and stroke. Int J Biol Med Res, 2(3), PP: 611-615.

10- Li, Y., Ma, J., Fang, Q., Guo, T., and Li, X., 2019. Protective effects of *Nostoc sphaeroides* Kütz against cyclophosphamide-induced immunosuppression and oxidative stress in mice, Toxin Reviews, PP: 1-10.

11- Li, Z., and Guo, M., 2018. Healthy efficacy of Nostoc commune Vaucher. Oncotarget, 9(18), 14669 p.

12- Matsui, K., Nazifi, E., Kunita, S., Wada, N., Matsugo, S., and Sakamoto, T., 2011. Novel glycosylated mycosporine-like amino acids with radical scavenging activity from the cyanobacterium Nostoc commune. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 105(1), PP: 81-89.

13- Moghaddam, A. H., Sangdehi, S. R. M., Ranjbar, M., and Hasantabar, V., 2020. Preventive effect of silymarin-loaded chitosan nanoparticles against global cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. European Journal of Pharmacology, 877, 173066 p.

14- Moskowitz, M. A., Lo, E. H., and Iadecola, C., 2010. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. Neuron, 67(2), PP: 181-198.

15- Nazifi, E., Wada, N., Asano, T., Nishiuchi, T., Iwamuro, Y., Chinaka, S., and Sakamoto, T., 2015. Characterization of the chemical diversity of glycosylated mycosporine-like amino acids in the terrestrial cyanobacterium Nostoc commune. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 142, PP: 154-168.

16- Nowruzi, B., Haghighat, S., Fahimi, H., and Mohammadi, E., 2018. Nostoc cyanobacteria species: A new and rich source of novel bioactive compounds with pharmaceutical

potential. Journal of Pharmaceutical Health Services Research, 9(1), PP: 5-12.

17- Park, Y. K., Rasmussen, H. E., Ehlers, S. J., Blobaum, K. R., Lu, F., Schlegal, V. L., and Lee, J. Y., 2008. Repression of proinflammatory gene expression by lipid extract of Nostoc commune var sphaeroides Kützing, a blue-green alga, via inhibition of nuclear factor-κB in RAW 264.7 macrophages, Nutrition research, 28(2), PP: 83-91.

18- Rasmussen, H. E., Blobaum, K. R., Park, Y. K., Ehlers, S. J., Lu, F., and Lee, J. Y., 2008. Lipid extract of Nostoc commune var. sphaeroides Kutzing, a blue-green alga, inhibits the activation of sterol regulatory element binding proteins in HepG2 cells. The Journal of nutrition, 138(3), PP: 476-481.

19- Romay, C., Armesto, J., Remirez, D., Gonzalez, R., Ledon, N., and Garcia, I., 1998. Antioxidant and antiinflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. Inflamm Res, 47, PP: 36–41.

20- Shalavadi, M. H., Chandrashekhar, V. M., Ramkishan, A., Nidavani, R. B., and Biradar, B. S., 2013. Neuroprotective activity of Stereospermum suaveolens against global cerebral ischemia rat model. Pharmaceutical biology, 51(8), PP: 955-960.

21- Siriratnam, P., Godfrey, A., O'Connor, E., Pearce, D., Hu, C. C., Low, A., Hair, C., Oqueli, E., Sharma, A., Kraemer, T., and Sahathevan, R., 2020. Prevalence and risk factors of ischaemic stroke in the young: a regional Australian perspective, Internal medicine journal, 50(6), PP: 698-704.

22- Stanier, R. Y., and Cohen-Bazire, G., 1977. Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria, Annual review of microbiology, 31(1), PP: 225-274.

23- Takase, H., Liang, A. C., Miyamoto, N., Hamanaka, G., Ohtomo, R., Maki, T., and Arai, K., 2018. Protective effects of a radical scavenger edaravone on oligodendrocyte precursor cells against oxidative stress, Neuroscience letters, 668, PP: 120-125.

24- Takase, H., Liang, A. C., Miyamoto, N., Hamanaka, G., Ohtomo, R., Maki, T., Pham, L. D. D., Lok, J., Lo, E. H., and Arai, K., 2018. Protective effects of a radical scavenger edaravone on oligodendrocyte precursor cells against oxidative stress, Neuroscience letters, 668, PP: 120-125.

25- Wan, J., Wan, H., Yang, R., Wan, H., Yang, J., He, Y., and Zhou, H., 2018. Protective effect of Danhong Injection combined with Naoxintong Capsule on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. Journal of ethnopharmacology, 211, PP: 348-357.

26- Warner, D. S., Sheng, H., and Batinić-Haberle, I., 2004. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain, Journal of experimental biology, 207(18), PP: 3221-3231.

27- Wicha, P., Tocharus, J., Janyou, A., Jittiwat, J., Changtam, C., Suksamrarn, A., and Tocharus, C., 2017. Hexahydrocurcumin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury, attenuates inflammation, and improves antioxidant defenses in a rat stroke model, PloS one, 12(12), e0189211 p.

Antidepressant and antioxidant effects of cyanobacterium *Nostoc commune* in a rat brain ischemia/reperfusion model

Hajizadeh Moghaddam A.[1*], Amini S.[2], Ebrahimi S.[2] and Nazifi E.[3]

[1] **Dept. of Animal Sciences, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran**

[2] **Dept. of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, I.R. of Iran**

[3] **Dept. of Plant Sciences, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran**

Abstract

Ischemic stroke is the second leading cause of death and the third leading cause of disability worldwide. The present study aimed to explore the antidepressant and antioxidant activities of the cyanobacterium *Nostoc commune (N. commune)* in a rat brain ischemia/reperfusion model. In this experimental study, thirty-five male Wistar rats were randomly divided into five groups (control, *N. commune*, ischemia, *N. commune* 35 + ischemia, and *N. commune* 70 + ischemia). Rats were pre-treated with *N. commune* (35 or 70 mg/kg body weight, dissolved in saline, once orally) for 14 days, while the rats in control and ischemia groups were given an equivalent volume of saline. The antidepressive□like effects of *N. commune* were determined by tail suspension and forced swimming tests 48 hours after ischemia induction. Catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GPx) activities were assayed in the brain cortex. The present study exhibited *Nostoc commune* treatment (70 mg/kg) significantly attenuated the immobility times induced by ischemia damage in FST and TST and reversed the climbing time. Compared to the ischemia group, *N. commune* treatment considerably increased cerebral CAT, SOD, and GPx activities. These findings demonstrated that *N. commune* extract could protect ischemia -induced brain injury rats by inhibiting cerebral oxidative stress, suggesting that it may have potential as a therapy for cerebral ischemia/reperfusion injury.

Key words: Ischemia, *Nostoc Commune*, antidepressant, antioxidant.