ORIGINAL ARTICLE

Effect of Saponin on Cerebral Edema Rate in An Animal Model of Stroke

Elmira Shiri[1],
Mohammad Reza Bigdeli[2],
Akram Eidi[3],
Seyed Pejman Mortazavi[4]

[1] PhD Student in Animal Physiology, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Associate Professor, Department of Animal Sciences and Marine Biology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[3] Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[4] Associate Professor, Department of Veterinary, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received June 15, 2022 ; Accepted September 17, 2022)

Abstract

Background and purpose: Oxidative stress and neuroinflammation are the main causes of cerebral ischemia. Saponin with steroid or triterpenoid compounds with a sugar part has strong antioxidant and anti-inflammatory properties. The aim of this study was to evaluate the effect of saponin on cerebral edema, Bax gene expression level, and ischemic neurological defects.

Materials and methods: In this experimental study, 24 male Wistar rats were divided into three groups: sham, stroke, and stroke+saponin. Rats in the stroke+saponin group received intravenous injection of saponin (3mg/kg) 30 minutes before cerebral ischemia. Each group was divided into two subgroups: brain edema (n=5) and gene expression level investigation (n=3). Cerebral ischemia was induced by middle cerebral artery occlusion model. After 24 hrs, we investigated neurological deficits resulting from ischemia (Kruskal-Wallis test), the degree of brain edema, and Bax gene expression levels in the cortex, piriform cortex-amygdala, striatum, and hippocampus (one-way ANOVA).

Results: Findings indicated a significant decrease in the score of neurological defects resulting from ischemia, the amount of cerebral edema, and the level of Bax gene expression in stroke+saponin group ($P<0.05$).

Conclusion: This study showed that saponin pretreatment in rats with ischemia-reperfusion injury can be effective in reducing the damage caused by cerebral ischemia.

Keywords: stroke, cerebral edema, saponin, Bax

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (214): 43-54 (Persian).

Corresponding Author: Mohammad Reza Bigdeli - Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
(E-mail: Bigdelimohammadreza@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و دوم شماره 214 آبان سال 1401 (54-43)

بررسی اثر ساپونین بر میزان ادم مغزی در مدل جانوری سکته مغزی

المیرا شیری[1]
محمدرضا بیگدلی[2]
اکرم عیدی[3]
سید پژمان مرتضوی[4]

چکیده

سابقه و هدف: استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی از اصلی‌ترین عوامل ایجاد ایسکمی مغزی، می‌باشد. ساپونین با ترکیبات استروئیدی یا تری‌ترپنوئیدی همراه با یک بخش قندی، یک آنتی‌اکسیدان قوی و ضد التهاب محسوب می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی اثر ساپونین بر میزان ادم مغزی، سطح بیان ژن Bax و نقص‌های نورولوژیکی حاصل از ایسکمی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی 24 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به 3گروه شم، سکته و سکته+ساپونین تقسیم شدند. موش‌های صحرایی گروه سکته+ساپونین 30 دقیقه پیش از ایسکمی مغزی، ساپونین(3mg/kg) را با تزریق وریدی دریافت نمودند. هر گروه به دو زیر گروه ادم مغزی (5تایی) و بررسی سطح بیان ژن(3تایی) تقسیم‌بندی شدند. ایسکمی مغزی با مدل انسداد شریان مغزی- میانی القا شد. 24 ساعت بعد ارزیابی نقص‌های نورولوژیک حاصل از ایسکمی (آزمون کروسکال والیس)، میزان ادم مغزی و سطح بیان ژن Bax در بخش‌های کورتکس،کورتکس پری فرم-آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ (آزمون ANOVA یک‌طرفه) بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش کاهش معنی داری را در امتیاز نقص‌های نورولوژیکی حاصل از ایسکمی، میزان ادم مغزی و سطح بیان ژن Bax در گروه تجربی سکته+ساپونین نشان داده است($P<0/05$).

استنتاج: بر اساس یافته‌های این مطالعه، پیش درمان با ساپونین در موش‌های صحرایی متحمل ایسکمی- خونرسانی مجدد می تواند در کاهش آسیب‌های حاصل از ایسکمی مغزی موثر باشد.

واژه های کلیدی: سکته مغزی، ادم مغزی، ساپونین، Bax

مقدمه

سکته مغزی از اصلی‌ترین بیماری‌های عصبی کشنده و پنجمین علت مرگ و میر در افراد 15 تا 59 ساله در سراسر جهان است(1). اگرچه میزان مرگ و میر ناشی از سکته مغزی سیر کاهشی دارد، اما تعداد افراد دچار معلولیت پس از ایسکمی در حال افزایش است. کشورهای با درآمد متوسط رو به پایین و طول عمر زیاد (در شرق آسیا، اروپای مرکزی و شرقی) بیش‌ترین آمار ایسکمی را به خود اختصاص داده‌اند(2).

مولف مسئول: محمدرضا بیگدلی - تهران: دانشگاه شهید بهشتی E-mail: Bigdelimohammadreza@yahoo.com
1. دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات ، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
2. دانشیار، گروه علوم جانوری وزیست شناسی دریا، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
3. استاد، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
4. دانشیار، گروه دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1401/3/25 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1401/4/6 تاریخ تصویب : 1401/6/26

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

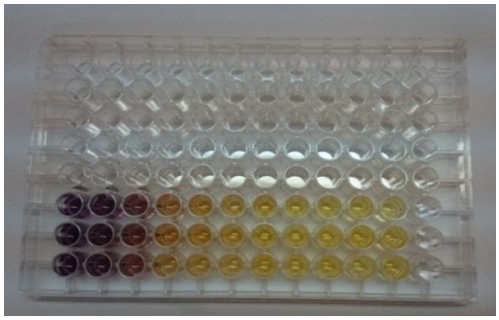
به‌طور کلاسیک اصطلاح "سکته مغزی" یک نقص عصبی است. سکته مغزی توسط یک عامل عروقی موجب آسیب حاد در CNS (Nervous System Central) شده و به دو نوع خونریزی مغزی و ایسکمیک تقسیم‌بندی می‌شود(3) که بالای 80 درصد آن از نوع ایسکمیک است(4). در طی سکته مغزی ایسکمیک با قطع جریان خون یک ناحیه مغزی، بافت‌های اطراف از اکسیژن و گلوکز محروم می‌شوند و منجر به اختلال در سنتز ATP (Adenosine Triphosphate)شده(5) و با کاهش انرژی، در هومئوستاز و تعادل یون‌ها اختلال ایجاد می‌شود(6). این امر رادیکال‌های آزاد، سدیم و کلسیم داخل سلولی را افزایش داده و با افزایش کلسیم درون سلولی آبشار سیگنال‌های ثانویه توسط آنزیم‌هایی از جمله پروتئاز، لیپاز و کیناز فعال شده که منجر به اختلال در عملکرد اندامک‌ها (میتوکندری)، ادم نورونی و در نهایت سبب فعال شدن مسیرهای مرگ سلولی از جمله آپوپتوز، نکروز، اتوفاژ، نکروپتوزیس و فروپتوزیس می‌گردد(7). تاکنون همه راهکارهای درمانی سکته مغزی بر پایه ایجاد جریان خون مجدد با استفاده از ترومبولیز دارویی و مکانیکی استوار بوده است(8). عوامل مهار کننده رادیکال‌های آزاد می‌توانند در بهبود علائم بالینی ناشی از آسیب ایسکمی مغزی مفید باشند. زمانی که تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی در بدن، بر هم بخورد، استرس‌اکسیداتیو ایجاد می‌گردد(9). به تازگی گزارشات بیان کرده‌اند که کاهش رادیکال‌های آزاد برای جلوگیری از آسیب سکته مغزی می‌تواند به عنوان راهکار مورد استفاده قرار گیرد(10). طبق مطالعات گذشته، ساپونین به‌عنوان عامل ضد التهاب و مهارکننده رادیکال‌های آزاد شناخته شده است. ساپونین به عنوان یک ترکیب فعال سطحی، شامل یک بخش غیرقطبی آگلیکون همراه با مونو یا الیگوساکاریدهای قطبی می‌باشد که به‌طور گسترده در گیاهان یافت می‌شود(11). ساختار شیمیایی ساپونین‌ها شامل یک هسته هیدروفوبیک(ساپوژنین) است که توسط یک زنجیره قندی هیدروفیل متصل به آگلیکون‌تری ترپنی یا استروئیدی ساخته شده است. ساپونین علاوه بر استفاده به عنوان سورفکتانت طبیعی، دارای چندین فعالیت دارویی همچون ایمنی‌زایی، ضد سرطانی و هیپوکلسترولمی(12)، محافظت ماهیچه‌های قلبی، مهار تجمع پلاکت‌ها، تقویت جریان خون در عروق کرونر، بهبود گردش خون محیطی و تسکین آنژین صدری می‌باشد(13). ساپونین یکی از ترکیباتی است که در کشورهای شرق آسیا برای درمان سکته مغزی و بهبود شرایط ناتوانی مزمن ناشی از آن بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد(14). با این حال، تحقیقات کمی در مورد اثرات محافظتی عصبی ساپونین در برابر ایسکمی مغزی وجود دارد و آن‌چه که تاکنون انجام شده تزریق ساپونین استخراجی از گیاهان با درجه خلوص پایین در چند روز متوالی بوده است. بنابراین در طی این مطالعه اثر محافظت عصبی ساپونین خالص تهیه شده از شرکت سیگما در برابر آسیب ایسکمی مغزی با یک بار تزریق وریدی ارزیابی شده است. پارامترهایی مانند امتیاز نقص عصبی، میزان اثرات ضد اکسیداسیون و ضد ادم به‌طور سیستماتیک از طریق این پژوهش در مدل حیوانی انسداد شریان مغزی - میانی MCAO/R (Middle Cerebral Artery Occlusion/ Reperfusion) در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، ساپونین از شرکت سیگما آلدریچ آمریکا، همچنین کلرال هیدرات، متانول، اتانول مطلق (< 99/8درصد)، DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)، از شرکت مرک آلمان خریداری شد. در طول مطالعه از آب مقطر استفاده شد. این مطالعه دارای کد اخلاق از کمیته اخلاق دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران با شناسه اخلاق IR.IAU.SRB.REC1398. 197 می‌باشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

سنجش مهار رادیکال DPPH: فعالیت ساپونین در مهار رادیکال DPPH با اندازه‌گیری جذب UV (Ultraviolet) در طول موج 517 نانومتر تعیین شد. سنجش مهار رادیکال DPPH طبق روش نظری با تغییرات جزئی انجام شد(13). به‌طور خلاصه، هر نمونه (1 میلی لیتر) در غلظت‌های مختلف (0/1، 0/2، 0/3، 0/4، 0/5، 1، 2، 3 میلی گرم در میلی‌لیتر) از ساپونین به 1 میلی لیتر DPPH (2میلی گرم در1 لیتر متانول) اضافه شد. پس از 30 دقیقه انکوبه شدن، جذب نوری تعیین شد (تصویر شماره1).



تصویر شماره 1: عکس ازتغییر رنگ محسوس محلول DPPH در حضور ساپونین در غلظت های مشخص

توانایی مهار رادیکال‌های DPPH به شرح زیر محاسبه شد: $DPPH (\%) = [(A1 - A2)/A1] \times 100$ که در آن A1 میزان جذب کنترل است و A2 میزان جذب هر محلول با غلظت‌های متفاوت می‌باشد. ال-آسکوربیک اسید به عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت(15). نتایج به‌صورت IC50 (مقداری از آنتی اکسیدانت که لازم است تا غلظت DPPH به 50 درصد مقدار اولیه برسد) بیان گردید(16).

حیوانات و گروه‌ها: 24 سر موش صحرایی نر بالغ‌نژاد ویستار به‌طور جداگانه به صورت پنج تایی در هر قفس نگهداری شدند. شرایط محیط با دمای 21-25 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی در حدود 50 و یک چرخه روشنایی/تاریکی 12 ساعته مهیا شد. پس از یک هفته سازگاری با شرایط نگهداری (زمانی که وزن بدن حدود 250 تا 350 گرم بود)، موش‌ها به‌طور تصادفی به 3 گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند: گروه شم (موش‌های صحرایی که فقط استرس جراحی را دریافت کردند)، گروه سکته (ایجاد ایسکمی همراه با تزریق سالین) و گروه سکته+ساپونین (ایجاد ایسکمی همراه با تزریق ساپونین). هرسه گروه اصلی به 2 زیر گروه جهت بررسی میزان ادم مغزی(5تایی) و بررسی سطح بیان ژن Bax(Bcl-2-associated X) (3تایی) تقسیم شدند. در این پژوهش موش‌های صحرایی گروه ساپونین نیم ساعت پیش از ایجاد ایسکمی (3 میلی گرم/کیلوگرم) ساپونین را به صورت تزریق وریدی از ورید دمی دریافت کردند(17).

ایجاد ایسکمی: برای ایجاد مدل سکته مغزی (MCAO)، موش‌های صحرایی بعد از توزین، با داروی بیهوشی، بیهوش شدند. جراحی مدل انسداد شریان مغزی- میانی در نیمکره راست مطابق دستورالعمل Longa و همکارانش انجام شد(18). به‌طورخلاصه طی جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون 0-3 وارد شریان کاروتید خارجی ECA(External Carotid Artery) شد و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی از طریق عبور از شریان کاروتید داخلی ICA (Internal Carotid Artery) و در حالی که رگ پتریگوپالاتین بسته بود پیش رفت. در اثر تماس نخ بخیه و شریان مغزی قدامی ACA(Anterior Cerebral Artery) جریان خون از هر طرف به سوی شریان مغزی- میانی MCA (Middle Cerebral Artery) در نیمکره راست مغز بسته شد. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت در پیشروی نخ و ورود حدود 20 میلی‌متر طول نخ از تنه ECA مشخص شد . بعد از 60دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت(19).

ارزیابی نقص‌های نورولوژیکی: ارزیابی نمره نقص عصبی NDS (Neurological Deficits) بعد از گذشت 24 ساعت از القای ایسکمی توسط یک محقق که بیخبر از گروه‌بندی بود، انجام شد. ارزیابی

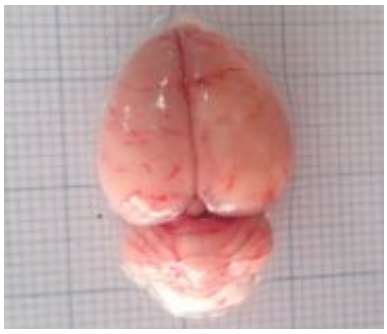
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

دقیق براساس معیارهای شدت آسیب عصبی mNSS (Modified Neurologic Severity Scores) از چهار جنبه حرکت، احساس، تعادل و رفلکس، انجام شد که به شرح زیر است0 : بدون کمبود، 6-1: کمبود خفیف، 12-7: کمبود متوسط، 18-13: کمبود شدید. قوانین امتیازدهی در جدول شماره 1 نشان داده شده است(20).

بررسی آب میان بافتی مغز: پس از گذشت 24 ساعت از زمان ایجاد ایسکمی/ریپرفیوژن، موش‌های صحرایی مجددا وزن شده و با تزریق داروی کلرال هیدرات (مرک آلمان) به میزان 800 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی، کشته شدند. سپس سریعا سرحیوان جدا و مغز ازجمجه با احتیاط خارج گردید(تصویر شماره2).

جدول شماره 1: ارزیابی نقص‌های نورولوژیکی

"ارزیابی های نورولوژیکی"	score
آویزان کردن رت از دم (RT)	**********
چرخاندن سر بیش از10 درجه نسبت به محور عمودی بدن در 30 ثانیه	1
جمع کردن اندام قدامی	1
جمع کردن اندام تحتانی	1
تعلکزد های حسی(فقط یک مورد)(SF)	**********
از دست دادن پاسخ به محرک های لمسی و بصری	1
حس فشار(فشار پنجه یا به لبه میز)	2
تعلکزد های حرکتی(فقط یک مورد) (MF)	**********
راه رفتن نرمال	0
عدم توانائی راه رفتن در خط مستقیم	1
حرکت چرخشی به یک طرف	2
افتادن به یک طرف	3
تست میله(فقط یک مورد) (BT)	**********
حفظ تعادل پایدار	0
گرفتن لبه میله	1
گرفتن میله و رها کردن یک دست	2
گرفتن میله و رها کردن دو دست یا چرخش بیش از60 ثانیه روی میله	3
سقوط از میله به رغم تلاش برای حفظ تعادل بیش از 40 ثانیه	4
سقوط از میله به رغم تلاش برای حفظ تعادل بیش از 20 ثانیه	5
سقوط از میله به پایین بدون هیچ تلاشی برای حفظ تعادل کمتر از20 ثانیه	6
رفلکس حرکتی (RA)	**********
رفلکس قرنیه(هنگام لمس قرنیه با پنبه چشمک می زند)	1
رفلکس شنوایی(تکان دادن سر هنگام تحریک گوش)	1
رفلکس جهیدن(پاسخ حرکتی و ترس از صداهای ناگهانی)	1
Myoclonus, Myodystonia,seizures	1
حداکثر امتیازات	18



تصویر شماره 2: مغز موش‌های صحرایی گروه سکته. نیمکره راست ادم مغزی (تورم)محسوسی را نشان می‌دهد

بخش‌های مخچه، پل مغزی و پیازهای بویایی از مغز جدا شد، سپس بخش‌های کورتکس، کورتکس پری فرم- آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ جدا شد و 4 بخش در هر نیمکره مغز جداگانه توسط ترازو وزن شد و به این ترتیب وزن خالص هر بخش مغز موش صحرایی WW (Wet Weight) اندازه گیری شد. سپس وزن خشک هر بخش مغز DW (Dry Weight) پس از این‌که در اتوکلاو خشک یا آون (Shimaz، ایران) در دمای120 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت قرار گرفتند، اندازه‌گیری شد. در نهایت میزان آب میان بافتی مغز توسط فرمول(WW-DW)/WW ×100 اندازه‌گیری شد(21).

بررسی ژن: در این پژوهش تأثیرساپونین بر بیان یکی از ژن‌های دخیل و آغازگر مسیر آپوپتوز(Bax) که افزایش‌دهنده مرگ برنامه‌ریزی شده سلول است، بررسی گردید.بسیاری از القاکننده‌های آپوپتوز، اکسیدانت‌ها یا متابولیسم‌های اکسیداتیو هستند(22) که در ایسکمی مغزی افزایش پیدا می‌کند. تمام نمونه‌های بافتی مغز موش‌های صحرایی پس از گذشت24 ساعت از ایجاد ایسکمی به سرعت و با احتیاط از جمجمه خارج گردید و تا زمان استخراج RNA (Ribonucleic Acid) بلافاصله به دمای 80- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

جداسازی RNA و سنتز cDNA (complementary Deoxyribonucleic acid): با توجه به دفترچه راهنما، ازمحلول معرف ایزولاسیون Tripure ساخت شرکت روچ (Cat No.11667165001) برای استخراج RNA از نمونه‌های بافتی استفاده شد. برای تعیین کیفیت و کمیت RNA های استخراج شده، چگالی نوری OD (Optical Density) تمام نمونه‌ها با دستگاه نانودراپ (Termo) اندازه‌گیری شد. سپس (cDNA) از RNA توسط کیت سنتز cDNA تاکارا طبق پروتکل سازنده (TAKARA Cat No. 6130) سنتز گردید.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

real time PCR کمی: تجزیه و تحلیل کمی توسط دستگاه ریل تایمPCR مدلStep One Plus (بیوسیستم‌های کاربردی، شهر فوستر،CA، USA) انجام شد. برای کمی‌سازی نسبی سطح بیان Bax از نمونه‌های بافت کورتکس، کورتکس پری فرم- آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ از کیت پرایمرهای اختصاصی ژن و مستر میکس SYBR Green استفاده شد(TAKARA Cat No.RR820W). از سطح بیان ژن GAPDH (ژن رفرانس) به منظور نرمال سازی سطح بیان ژن‌های هدف به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار Oligo 7 طراحی و صحت همه پرایمرها توسط وب سایت NCBI (National Center for Biotechnology Information) تایید شد (جدول شماره2).

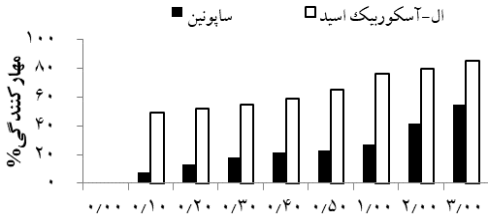
جدول شماره 2: توالی پرایمرها

نام ژن	توالی پرایمر
Bax-F	۵'TGAAGACAGGGGCCTTTTTG۳'
Bax-R	۵'AATTCGCCGGAGACACTCG۳'
GAPDH-F	۵'CAAGATCATCAGCAATGCCTCC ۳'
GAPDH-R	۵'GCCATCACGCCAGTTTCC ۳'

تحلیل آماری: همه مقادیر با میانگین و انحراف معیار (میانگین ± SEM) بررسی شد و از نرم‌افزار تجزیه و تحلیل آماری SPSS 11 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. آزمون ANOVA یکطرفه، برای داده‌های ادم مغزی و بررسی سطح بیان ژنBax و آزمون کروسکال والیس برای ارزیابی امتیازات نقص نورولوژیک مورد استفاده قرار گرفت. تفاوت‌های معنی‌داری P-value در مقادیر P< 0/05 با علامت اختصاری (***)،P< 0/01 با (**) و P<0/001 با (*)، نشان داده شد.

یافته‌ها

آزمون DPPH: میزان مهار رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های معین ساپونین و ال آسکوربیک اسید در نمودار شماره 1 آورده شده است و با بررسی نتایج درصد مهارکنندگی میزان IC50 ساپونین 2/54و ال آسکوربیک اسید 0/381 به دست آمده است.



نمودار شماره 1: فعالیت مهار رادیکال‌های DPPH ساپونین و کنترل مثبت (ال آسکوربیک اسید).

امتیازهای نقص نورولوژیک:

ارزیابی میانگین کل نقص نورولوژیکی موش‌های صحرایی گروه سکته+ساپونین در مقایسه با موش‌های صحرایی گروه سکته کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<0/05). که جزییات امتیازات به تخصیص هر گروه در جدول شماره 3 درج شده است.

جدول شماره 3 : نتایج حاصل از ارزیابی نقص های نورولوژیک حاصل از ایسکمی

گروه های آزمایشی	(1)گروه شم	(2)گروه سکته	(3)گروه سکته+ساپونین	معنی داری P<0/05
میانگین RT	1/27	2/45	2/27	2و1 (P=0/008)
میانگین MF	0/36	2/72	0/72	2و1 (P=0/003) 2و3 (P=0/021)
میانگین SF	0/36	1/72	1/27	2و1 (P=0/000) 2و3 (P=0/037)
میانگین BT	1/63	5/45	3/63	2و1 (P=0/000) 2و3 (P=0/003)
میانگین RA	0/54	2/45	1/63	2و1 (P=0/000) 2و3 (P=0/014)
میانگین کل	4/18	13/45	9/54	2و1 (P=0/000) 2و3 (P=0/000)

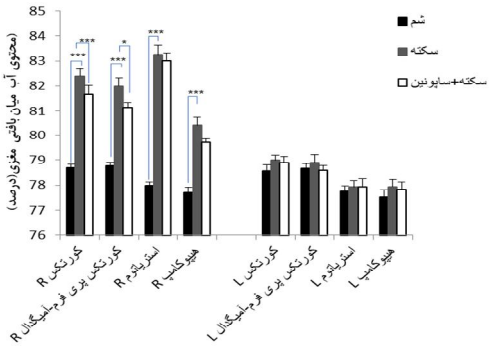
نتایج توسط نرم افزار SPSS آزمون کروسکال والیس ارزیابی شد.
از لحاظ آماری P< 0/05 معنی‌دار در نظر گرفته شده است.
(RT: آویزان کردن موش های صحرایی از دم، MF:عملکرد حرکتی، SF:عملکرد حسی، BT: تست میله، RA: رفلکس حرکتی)

میزان آب میان بافتی مغز: پیش تیمار با ساپونین (3mg/kg) باعث کاهش میزان ادم مغزی در بخش‌های کورتکس، کورتکس پری فرم- آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ نیمکره راست مغز موش‌های صحرائی متحمل MCAO گردید، که این کاهش در کورتکس پری فرم- آمیگدال مغز از لحاظ آماری در مقایسه با گروه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

سکته معنی دار بود و در نمودار شماره2 نشان داده شده است (P<0/05).

آنالیز سطح بیان ژن Bax : سطح بیان ژن Bax در بخش‌های کورتکس، کورتکس پری فرم-آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ نیمکره ایسکمی شده (راست) طبق پروتکل مذکور و توسط نرم افزار SPSS آزمون ANOVA یک‌طرفه آنالیز شد. نتایج در نمودارهای ۵،۴،۳ و 6 نشان داده شده است. در تمامی بخش‌های مغز موش‌های صحرایی گروه سکته+ساپونین که نیم ساعت پیش از ایسکمی ساپونین (3mg/kg) را دریافت کرده بودند، سطح بیان ژن Bax در مقایسه با گروه سکته روند کاهشی داشت که در بخش کورتکس پری فرم- آمیگدال این کاهش به شکل معنی دار دیده شد.



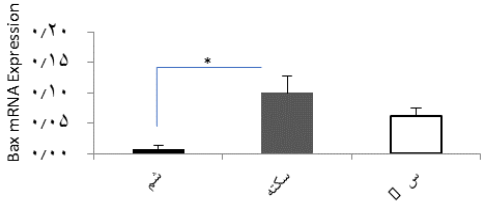
نمودار شماره 2: درصد آب میان بافتی در بخش‌های کورتکس، کورتکس پری فرم-آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ نیمکره راست و چپ مغز در گروه‌های مورد مطالعه.

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS آزمون ANOVA یکطرفه انجام شده است.

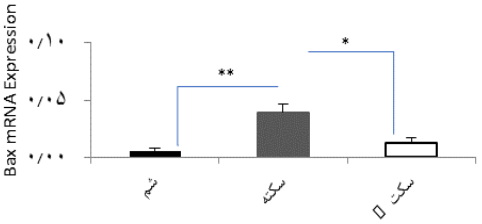
از لحاظ آماری P<0/05 معنی‌دار و با علامت اختصاری (*)،

P<0/001 معنی‌دار وبا علامت اختصاری(***) در نظر گرفته شده است

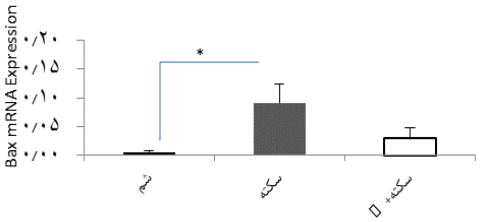
(R: نیمکره راست،L:نیمکره چپ).



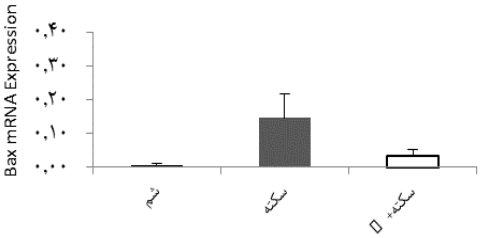
نمودار شماره 3: آنالیز ژن Bax در بخش کورتکس مغز موش صحرایی



نمودار شماره 4: آنالیز ژنBax در بخش کورتکس پری فرم-آمیگدال مغز موش صحرایی



نمودارشماره 5: آنالیز ژن Bax در بخش استریاتوم مغز موش صحرایی



نمودار شماره 6: آنالیز ژن Bax در بخش هیپوکامپ مغز موش صحرایی

نتایج نمودارهای شماره های ۵،۴،۳ و 6 توسط نرم افزار SPSSآزمون ANOVA یکطرفه انجام شده است.

از لحاظ آماری P<0/05 معنی دار و با علامت اختصاری (*)،

P<0/01 معنی‌دار و با علامت اختصاری(**) نشان داده شده است

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده، تزریق ساپونین به موش‌های صحرایی گروه سکته+ساپونین در مقایسه با گروه سکته کاهش قابل توجهی در میزان ادم مغزی در بخش‌های کورتکس و کورتکس پری فرم-آمیگدال به همراه داشت. هم‌چنین پیش تیمار با ساپونین میزان نقص‌های نورولوژیکی را کاهش داد. در این مطالعه با بررسی میزان بیان ژن Bax در بخش کورتکس

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

پری فرم_آمیگدال مغز موش‌های صحرایی گروه سکته+ساپونین در مقایسه با گروه سکته کاهش معناداری دیده شد. مطالعات قبلی نشان داده است که سکته مغزی ایسکمیک ناشی از انسداد ناگهانی شریان اصلی مغز است. هنگامی که سکته مغزی ایسکمیک رخ می‌دهد، خون رسانی به مغز قطع می شود و سلول‌های مغزی قادر به دریافت اکسیژن یا مواد مغذی کافی برای عملکرد خود نیستند. بنابراین، سلول‌های مغزی در محل انسداد می‌میرند و مواد شیمیایی سمی آزاد می‌شود و به بافت‌های اطراف آسیب می‌رساند(23).

طبق مطالعات، مجموعه‌ای از مکانیسم‌ها در فرایند ایسکمی مغزی- ریپرفیوژن دخیل هستند که برای مقابله با آن‌ها هیچ دارویی در دسترس نیست. بنابراین توسعه عوامل بالقوه با خاصیت حفاظت عصبی با حداقل عوارض جانبی ضروری است(24). در طول ایسکمی مغزی، افزایش ناگهانی ROS(Reactive Oxygen Species)، باعث آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA (Deoxyribonucleic acid) می‌شود و سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آندوژنز به دلیل فعالیت کم آنزیم‌های ضد اکسیداتیو نمی‌توانند کنترل شوند(25). در نتیجه، مغز در معرض سطح بالای ROS قرار می‌گیرد که منجر به اختلال عملکرد مغزی و مرگ سلولی می‌شود. نتایج امیدوارکننده این مطالعه نشان می‌دهد که ساپونین می‌تواند از طریق مکانیسم استرس آنتی‌اکسیدانی از مغز در برابر ایسکمی مغزی محافظت کند. رادیکال‌های آزاد درگیر در فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی نقش مهمی در آسیب‌زایی بسیاری از بیماری‌های مزمن از جمله سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی دارند(26). از DPPH به عنوان یک مدل رادیکال چربی دوست پایدار استفاده می‌شود. در آزمون DPPH واکنش‌های زنجیره‌ای بین رادیکال‌های چربی دوست و اتوکسیداسیون لیپیدی آغاز می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها با DPPH واکنش می‌دهند و رادیکال‌های آزاد DPPH که به گروه‌های هیدروکسیل وابسته هستند کاهش می‌یابد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای مکانیسم‌های مختلفی است از جمله جلوگیری از آغاز فعالیت واکنش‌های زنجیره‌ای، تجزیه پراکسیدها، مهار رادیکال‌های آزاد، کاهش ظرفیت و اتصال یون فلزات واسطه گر با کاتالیزورها(27). در آزمون DPPH این پژوهش میزان IC 50 برای ساپونین 2/542 به دست آمد. طبق مطالعات انجام شده ساپونین به علت پتانسیل احیا منفی یک از آنتی‌اکسیدان‌ها محسوب می‌شود و در گیاهان به منظور دفاع در برابر استرس‌های محیطی و نیز عوامل بیماری زا تولید شده و برروی مسیر پیام‌رسانی التهاب اثر می‌گذارد(28). در راستای پژوهش حاضر Zhou و همکاران در سال 2014 با بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی ساپونین‌های پاناکس نوتوجینسینگ در سلول‌های مغزی دریافتند که ساپونین دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است و ممکن است در اختلالات عصبی نقش محافظت‌کننده عصبی داشته باشد(29).

Chu و همکاران در سال2019 در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که جین سنوزید Rg1 توانسته فعالیت miR- 144 را که موجب ایجاد مسیر سیگنالینگ Nrf2/ARE می‌شود را مهار کند و در نتیجه پاسخ آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد(30). نتایج دیگر محققین تاییدی بر توانایی آنتی‌اکسیدانی ساپونین دارد که می‌تواند آسیب‌های حاصل از ایسکمی مغزی را کاهش دهد.

طبق نتایج ارزیابی نقص‌های نورولوژیکی حاصل از ایسکمی کاهش معنی‌داری در گروه سکته+ساپونین در مقایسه با گروه سکته دیده شد، همچنین نتایج حاصل از بررسی میزان ادم مغزی در بخش‌های کورتکس، کورتکس پری فرم-آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی گروه تحت درمان با تزریق ساپونین، سیر کاهشی داشت که در بخش کورتکس پری فرم-آمیگدال به صورت معنی‌دار بود و این نتایج با اندازه گیری میزان سطح بیان ژن Bax در بخش‌های مذکور در مغز موش‌های صحرایی نیز تأییدگردید. در همین راستا طبق نتایج پژوهشی، Christensen و همکاران دریافتند که ساپونین تری ترپنوئید جینسنوزید Rd نوع

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

dammarane، در برابر آسیب‌های سیستم قلبی عروقی، سیستم ایمنی و CNS اثر محافظتی بالایی دارد(31). همچنین Chen(32) و Lin (33) در دو پژوهش مجزا و همسو درمدلMCAO دائمی دریافتند که Rg1 (یک فعال زیستی اصلی، ساپونین تری ترپنوئیدی پاناکساتریول درP. ginseng)، میزان نقص نورولوژیکی موش‌های ایسکمیک را کاهش داده و هماهنگی حرکات مختل شده را بهبود می‌بخشد. هم‌چنین در پژوهشی مشابه Wang و همکاران دریافتند که GSTTF (Gross Saponins of Tribulus terrestris Fruit) می‌تواند تغییرات متابولیکی سرم ناشی از MCAO را با تنظیم مسیرهای متابولیکی متعدد از جمله متابولیسم اسیدهای چرب، متابولیسم اسیدهای آمینه و متابولیسم کربوهیدرات‌ها معکوس کند و نتایج آن‌ها حاکی از اثربخشی GSTTF در درمان سکته مغزی ایسکمیک بود. در پژوهش مذکور پس از درمان با GSTTF (3میلی‌گرم/ کیلوگرم) با تزریق به ورید دمی به مدت 3روز، کاهش نقص عصبی مشاهده شده و سطوح بیومارکرها روند آشکاری را به سمت آن در گروه شم نشان داده است. آن‌ها دریافتند که GSTTF بر تغییرات متابولیکی سرم در موش‌های ایسکمیک ناشی از MCAO تأثیر گذاشته است(34). همسو بودن نتایج دیگر محققین تاییدی بر نتایج پژوهش حاضر است و می‌توان دریافت که ساپونین استفاده شده در این پژوهش با خلوص بالا و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌تواند با یک بار تزریق پیش از القا ایسکمی، اثرات ناشی از ایسکمیک همچون میزان ادم مغزی و نقص‌های نورولوژیک حاصل از ایسکمی را کاهش دهد.

در بسیاری از بیماری‌های وابسته به مغز به ویژه سکتهٔ مغزی، افزایش آپوپتوز محتمل است و از نشانه‌های بارز آن افزایش میزان Bax در نورون‌ها می‌باشد که به تشدید آپوپتوز و درنهایت، مرگ نورون‌ها منجر می‌شود(35). مرگ سلولی شامل آپوپتوز (Bax) و نکروز (TNF- α ;Tumor Necrosis Factor Alpha) است که در اثر آسیب و مسمومیت بافت اتفاق می‌افتد. در یک بافت آسیب دیده، یک یا هر دو ژن Bax و TNF-α می‌تواند موجب تخریب سلول شود(36). پایداری غشاء میتوکندری یکی از وقایع مهم در فرآیند بقاء سلول در آپوپتوز می باشد. ژن Bax که در سیتوپلاسم سلول‌های طبیعی وجود دارد، بر روی غشا میتوکندری اثرات مخربی داشته و به هنگام تحریک آپوپتوز به میتوکندری منتقل می‌شود و آغازگر مسیر آپوپتوز است. طبق مطالعات به خوبی نشان داده شده است که پیشرفت آپوپتوز را می‌توان با بیان Bax، (یک ژن پیش آپوپتوز) تعیین کرد(37). در مطالعه ما بیانBax به صورت میانگین در هر گروه سنجیده شد، بیان بیش‌تر ژنBax در گروه سکته در مطالعه حاضر با نتایج حاصل از مطالعات مشابه که بر روی بیان ژن‌های مذکور صورت گرفته است منطبق می‌باشد. بر اساس نتایج سطح بیان ژن Bax در گروه سکته+ساپونین کاهش معنی‌داری داشته است. این کاهش به نقش ژن Bax ارتباط دارد(38). طبق نتایج پژوهش حاضر با اندازه گیری میزان سطح بیان ژن Bax در بخش‌های کورتکس، کورتکس پری فرم-آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ در مغز موش‌های صحرایی، سطح بیان ژن Bax در گروه تحت درمان با ساپونین در مقایسه با گروه سکته به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرده است. پس تصور می‌شود که ساپونین تا حدی می‌تواند بیان این ژن را کنترل کند. بنابراین ساپونین پتانسیل خوبی برای پیشگیری از سکته مغزی ایسکمیک در کاربردهای بالینی دارد. هم راستا با این مطالعه در پژوهشی نشان داده شد که ساپونین پاناکس نوتوجینسینگ (Panax Notoginseng;PNS) کاهش بیان Bcl- 2 (B-cell lymphoma 2) و افزایش بیان Bax و کاسپاز -3 ناشی از H_2O_2 در سلول‌های استرومایی مغز استخوان را معکوس می‌کند از این رو، می‌تواند به طور بالقوه به عنوان یک عامل ضد آپوپتوز مورد استفاده قرار گیرد(39). در نتایج حاصل از پژوهش Wang و همکاران ثابت شده است که ساپونین‌ها از طریق فعال نمودن مسیر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

پروتئین کیناز C (Protein kinase C) منجر به کاهش آپوپتوز سلولی می‌شوند که اهمیت انواع ساپونین‌ها را نشان می‌دهد(40).

در مطالعه حاضر به موش‌ها ایسکمی القا شد و یافته ها افزایش بیان ژن Bax در کورتکس، کورتکس پری فرم-آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ گروه سکته و کاهش بیان ژن Bax در گروه سکته+ساپونین را نشان داد. در نتیجه تزریق ساپونین پیش از ایسکمی می‌تواند باعث کاهش آسیب نورونی کورتکس، کورتکس پری فرم-آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ موش‌های صحرایی شود. با توجه به مطالب فوق الذکر احتمالاً ساپونین موجب کاهش تخریب نورونی می‌شود. همچنین مهار شدن رسپتور GABA (γ-Aminobutyric acid) توسط ساپونین و نقش ثابت شده GABA در آپوپتوز را می‌توان به عنوان مکانیسم احتمالی دیگری در نحوه تأثیر ساپونین بر روی مغز موش‌های صحرایی در نظر گرفت.

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، تزریق ساپونین به میزان 3 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش‌های صحرایی 30 دقیقه پیش از ایسکمی با کاهش سطح بیان ژن Bax می‌تواند آسیب نورونی را در موش‌های صحرایی کاهش دهد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در مورد سایر ژن‌های مرتبط با این موضوع مطالعه جامع تری به عمل آید.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه خانم المیرا شیری دانشجوی رشته فیزیولوژی جانوری مقطع دکتری می‌باشد و با دریافت شناسه اخلاق IR.IAU.SRB.REC1398 .197 ازکمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام گردید.

References

1. Strong K, Mathers C, Bonita R. Preventing stroke: saving lives around the world. Lancet Neurol 2007; 6(2): 182-187.
2. Feigin VL, Nguyen G, Cercy K, Johnson CO, Alam T, Parmar PG, et al. Global, Regional, and Country-Specific Lifetime Risks of Stroke, 1990 and 2016. N Engl J Med 2018; 379(25): 2429-2437.
3. Arsava EM, Helenius J, Avery R, Sorgun MH, Kim GM, Pontes-Neto OM, et al. Assessment of the Predictive Validity of Etiologic Stroke Classification. JAMA Neurol 2017; 74(4): 419-426.
4. Kunz A, Iadecola C. Cerebral vascular dysregulation in the ischemic brain. Handb Clin Neurol 2008;92:283-305.
5. Li D, Wang C,Yao Y, Chen L, Liu G, Zhang R, et al. mTORC1 pathway disruption ameliorates brain inflammation following stroke via a shift in microglia phenotype from M1 type to M2 type. Faseb J 2016; 30(10): 3388-3399.
6. Li MH, Leng TD, Feng XC, Yang T, Simon RP, Xiong ZG. Modulation of Acid-sensing Ion Channel 1a by Intracellular pH and Its Role in Ischemic Stroke. J Biol Chem 2016; 291(35): 18370-18383.
7. García-Pupo L, Van San E, Delgado-Hernández R, Vanden Berghe T, Vanden Berghe W. Emerging immune and cell death mechanisms in stroke: Saponins as therapeutic candidates. Brain Behav Immun Health 2020; 9: 100152.
8. Muir KW, Ford GA, Messow CM, Ford I, Murray A, Clifton A, et al. Endovascular therapy for acute ischaemic stroke: the Pragmatic Ischaemic Stroke Thrombectomy Evaluation (PISTE) randomised, controlled trial. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2017; 88(1): 38-44.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

9. Fu YQ, Hua C, Zhou J, Cheng BR, Zhang J. Protective effects of ginseng total saponins against hepatic ischemia/reperfusion injury in experimental obstructive jaundice rats. Pharm Biol 2013; 51(12): 1545-1551.
10. Seo MY, Lee SM. Protective effect of low dose of ascorbic acid on hepatobiliary function in hepatic ischemia/reperfusion in rats. J Hepatol 2002; 36(1): 72-77.
11. Oleszek WA. Chromatographic determination of plant saponins. Journal of Chromatography A 2002; 967(1): 147-162.
12. Kregiel D, Berlowska J, Witonska I, Antolak H, Proestos C, Babic M, et al. Saponin-Based, Biological-Active Surfactants from Plants. Application and Characterization of Surfactants 2017; 6(1): 184-205.
13. Xiaoqun Z. Effects of Dioscin in Protection of Myocardial Ischemic Reperfusion Injury in Wistar Rats. Chinese journal of Clinical Medicine 2006.
14. Liu CX, Xiao PG. Recent advances on ginseng research in China. J Ethnopharmacol 1992; 36(1): 27-38.
15. Chen Y, Miao Y, Huang L, Li J, Sun H, Zhao Y, et al. Antioxidant activities of saponins extracted from Radix Trichosanthis: an in vivo and in vitro evaluation. BMC Complement Altern Med 2014; 14: 86.
16. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology 1995; 28(1): 25-30.
17. Wang Y, Guo W, Liu Y, Wang J, Fan M, Zhao H, et al. Investigating the Protective Effect of Gross Saponins of Tribulus terrestris Fruit against Ischemic Stroke in Rat Using Metabolomics and Network Pharmacology. Metabolites 2019; 9(10): 240.
18. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 1989; 20(1): 84-91.
19. shiri E, Rahnema M, Bigdeli MR. The effect of pumpkin seed oil (Cucurbita Moschata) on the permeability of the blood-brain barrier and on brain edema in stroke animal model. JNKUMS 2016; 8(2): 301-311.
20. Long J, Cai L, Li J, Zhang L, Yang H, Wang T. JNK3 involvement in nerve cell apoptosis and neurofunctional recovery after traumatic brain injury. Neural Regen Res 2013; 8(16): 1491-1499.
21. Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Rasulian B, Heidarianpour A, Khoshbaten A. Prolonged and intermittent normobaric hyperoxia induce different degrees of ischemic tolerance in rat brain tissue. Brain Res 2007; 1152: 228-233.
22. Haddad JJ. Redox and oxidant-mediated regulation of apoptosis signaling pathways: immuno-pharmaco-redox conception of oxidative siege versus cell death commitment. Int Immunopharmacol 2004; 4(4): 475-493.
23. van der Worp HB, van Gijn J. Clinical practice. Acute ischemic stroke. N Engl J Med 2007; 357(6): 572-579.
24. Wang J, Xing H, Wan L, Jiang X, Wang C, Wu Y. Treatment targets for M2 microglia polarization in ischemic stroke. Biomed Pharmacother 2018; 105: 518-525.
25. Thiyagarajan M, Sharma SS. Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. Life Sci 2004; 74(8): 969-985.
26. Dorman HJD, Koşar M, Kahlos K, Holm Y, Hiltunen R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]

species, hybrids, varieties, and cultivars. J Agric Food Chem 2003; 51(16): 4563-4569.

27. Mao L-C, Pan X, Que F, Fang X-H. Antioxidant properties of water and ethanol extracts from hot air-dried and freeze-dried daylily flowers. European Food Research and Technology 2006; 222(3): 236-241.
28. Rodrigues HG, Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, Burneiko RC, Almeida JA, et al. Antioxidant effect of saponin: potential action of a soybean flavonoid on glucose tolerance and risk factors for atherosclerosis. Int J Food Sci Nutr 2005; 56(2): 79-85.
29. Zhou N, Tang Y, Keep RF, Ma X, Xiang J. Antioxidative effects of Panax notoginseng saponins in brain cells. Phytomedicine 2014; 21(10): 1189-1195.
30. Chu S-F, Zhang Z, Zhou X, He W-B, Chen C, Luo P, et al. Ginsenoside Rg1 protects against ischemic/reperfusion-induced neuronal injury through miR-144/Nrf2/ARE pathway. Acta Pharmacol Sin 2019; 40(1): 13-25.
31. Christensen LP. Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects. Adv Food Nutr Res 2009;55:1-99.
32. Chen J, Zhang X, Liu X, Zhang C, Shang W, Xue J, et al. Ginsenoside Rg1 promotes cerebral angiogenesis via the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in ischemic mice. Eur J Pharmacol 2019;856:172418.
33. Lin M, Sun W, Gong W, Ding Y, Zhuang Y, Hou Q. Ginsenoside Rg1 protects against transient focal cerebral ischemic injury and suppresses its systemic metabolic changes in cerabral injury rats. Acta Pharm Sin B 2015; 5(3): 277-284.
34. Wang Y, Zhao H, Liu Y, Guo W, Bao Y, Zhang M, et al. GC-MS-Based Metabolomics to Reveal the Protective Effect of Gross Saponins of Tribulus terrestris Fruit against Ischemic Stroke in Rat. Molecules 2019; 24(4): 793.
35. Hall JE, Hall ME, Hall J. Guyton and Hall textbook of medical physiology. Fourteenth edition. ed. 14th Edition Philadelphia, PA: Elsevier; 2021. 1152.
36. Bai XZ, He T, Gao JX, Liu Y, Liu JQ, Han SC, et al. Melatonin prevents acute kidney injury in severely burned rats via the activation of SIRT1. Sci Rep 2016; 6: 32199.
37. Cheng G, Wei L, Zhi-Dan S, Shi-Guang Z, Xiang-Zhen L. Atorvastatin ameliorates cerebral vasospasm and early brain injury after subarachnoid hemorrhage and inhibits caspase-dependent apoptosis pathway. BMC Neurosci 2009; 10: 7.
38. Endo H, Kamada H, Nito C, Nishi T, Chan PH. Mitochondrial translocation of p53 mediates release of cytochrome c and hippocampal CA1 neuronal death after transient global cerebral ischemia in rats. J Neurosci 2006; 26(30): 7974-7983.
39. Qiang H, Zhang C, Shi ZB, Yang HQ, Wang KZ. Protective effects and mechanism of Panax Notoginseng saponins on oxidative stress-induced damage and apoptosis of rabbit bone marrow stromal cells. Chin J Integr Med 2010; 16(6): 525-530.
40. Wang SS, Ji YS, Li H, Yang SJ. [Mechanisms of gross saponins of Tribulus terrestris via activating PKCepsilon against myocardial apoptosis induced by oxidative stress]. Yao Xue Xue Bao 2009; 44(2): 134-139.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-23]