

## *Effect of N-acetylcysteine on TNF- $\alpha$ Level of Substantia Nigra and Striatum in Rat Model of Parkinson's Disease*

Katayoun Hassanzadeh<sup>1</sup>,  
Arman Rahimmi<sup>2</sup>,  
Kambiz Hassanzadeh<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MSc Student in Physiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran

<sup>2</sup> MSc Student in Physiology, Faculty of Basic Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

<sup>3</sup> Cellular and Molecular Research Center, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

(Received August 4, 2014 ; Accepted November 6, 2014)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Accumulated evidences indicate that the inflammatory pathways have an important role in both the initiation and progression of Parkinson's disease. On the other hand the anti-inflammatory properties of N-acetylcysteine (NAC) have been proven in many studies. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of NAC on motor symptoms and TNF- $\alpha$  level of substantia nigra and striatum in animal model of Parkinson's disease.

**Materials and methods:** In order to induce Parkinson's disease model, male Wistar rats weighting 400 $\pm$ 50g (10-12 months) received rotenone (2.5 mg/kg/48h sc) for 20 days. Pretreatment with NAC (25 and 50 mg/kg/48h ip) was administered one hour before the rotenone injection. For behavioral assessment, rotarod test was run in order to measure motor symptoms and certifying the model. The TNF- $\alpha$  level in substantia nigra and striatum region of brain was determined using ELISA technique.

**Results:** The results showed that N-acetylcysteine prevented both failure of motor performance and increasing of TNF- $\alpha$  level.

**Conclusion:** This study found that N-acetylcysteine prevented the development of rotenone model of Parkinson's disease. This effect might be related to the anti-inflammatory characteristics of N-acetylcysteine.

**Keywords:** Parkinson's disease, inflammatory pathways, TNF- $\alpha$ , N-acetylcysteine

## اثر آن- استیل سیستئین بر میزان عامل نکروز تومور آلفا در توده سیاه و جسم مخطط مغز در مدل پارکینسونی موش صحرایی

کتایون حسن زاده<sup>۱</sup>آرمان رحیمی<sup>۲</sup>کامبیز حسن زاده<sup>۳</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** شواهد زیادی در دست است که نشان می‌دهند مسیرهای التهابی نقش مهمی در بروز و پیشرفت بیماری پارکینسون دارند. از طرفی نیز خواص ضد التهابی ترکیب آن-استیل سیستئین در بسیاری از مطالعات به اثبات رسیده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر آن-استیل سیستئین بر علائم حرکتی و میزان (TNF- $\alpha$ ) tumor necrosis factor alpha در مسیر نیگرواستریاتال در مدل حیوانی بیماری پارکینسون به انجام رسید.

**مواد و روش‌ها:** به منظور ایجاد مدل، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی  $40.0 \pm 5.0$  گرم و سن ۱۰ تا ۱۲ ماه، سم روتون ( $2/5 \text{ mg/kg}$ ) با فواصل زمانی ۴۸ ساعت یک بار به صورت زیر جلدی و به مدت ۲۰ روز دریافت نمودند. آن-استیل سیستئین با دوزهای ( $25 \text{ mg/kg/48h}$  یا  $50$ ) یک ساعت قبل از تزریق روتون تجویز می‌شد. تست رفتاری روتارود جهت سنجش علائم حرکتی و تأیید مدل انجام شد. میزان TNF- $\alpha$  در نواحی توده سیاه و جسم مخطط مغز توسط تکنیک الیزا سنجش شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که آن-استیل سیستئین قادر است از افت عملکرد حرکتی و افزایش میزان فاکتور التهابی TNF- $\alpha$  در این مدل حیوانی جلوگیری کند.

**استنتاج:** از نتایج حاصله چنین بر می‌آید که آن-استیل سیستئین قادر است از بروز و پیشرفت بیماری پارکینسون در مدل حیوانی روتون پیشگیری نموده که این اثر را می‌توان به ویژگی ضد التهابی آن نسبت داد.

**واژه های کلیدی:** آن-استیل سیستئین، بیماری پارکینسون، مسیرهای التهابی، TNF- $\alpha$

### مقدمه

دخیل هستند (۱). شناخت هرچه بهتر این مسیرها و مکانیسم‌های مولکولی، درک ما را نسبت به بیماری پارکینسون بهبود بخشیده و منجر به یافتن راهکارهای جدید و کارآمد در درمان این بیماری می‌شود. از این میان اخیراً نقش مسیرهای التهابی در بیماری پارکینسون

بیماری پارکینسون یکی از رایج‌ترین بیماری‌های نورودژنراتیو (تحلیل برنده سیستم اعصاب) است که غالباً در سنین بالا رخ می‌دهد. مکانیسم‌های مولکولی متعددی مانند استرس اکسیداتیو، آگرگاسیون پروتئینی و نارسایی سیستم پروتازومی در ایجاد بیماری پارکینسون

**مؤلف مسئول:** کامبیز حسن زاده - کردستان: دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی E-mail: kambizhassanzadeh@gmail.com

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، کردستان، ایران

۳. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، کردستان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۱۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۵/۲۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۸/۱۵

مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است و تأثیر آن‌ها چه در نوع انسانی و چه در مدل‌های حیوانی بیماری نشان داده شده است (۳،۲). به عنوان مثال نقش فاکتورهای هم‌چون  $\text{tumor necrosis factor alpha (TNF-}\alpha\text{)}$ ،  $\text{Interleukin 6 (IL-6)}$ ،  $\text{Interleukin 2 (IL-2)}$  و  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  در بروز این بیماری محرز شده و وجود بسیاری از دیگر مارکرهای التهابی در ناحیه توده سیاه مغز بیماران پارکینسونی مشاهده شده است (۴-۶). از این رو عوامل ضد التهاب به عنوان درمان‌هایی محتمل و نوید بخش در این زمینه مطرح شده‌اند.

سایتوکین پیش التهابی  $\text{TNF-}\alpha$  عضوی از لیگاند‌های گروه TNF است که بسیاری از آن‌ها در ایجاد سیگنال‌های التهابی نقش دارند.  $\text{TNF-}\alpha$  میانجی سیستم ایمنی است که سال‌هاست مورد توجه بسیاری بوده اما نقش آن در مغز هنوز کاملاً مشخص نیست (۷). این فاکتور به طور طبیعی در تنظیم توان حیاتی سلول‌ها، بیان ژن، یکپارچگی سیناپسی و هومئوستاز یونی نقش داشته و یک میانجی کلیدی مرگ سلولی در التهاب سیستم اعصاب مرکزی است. افزایش سایتوکین‌ها و فاکتورهای التهابی از جمله  $\text{TNF-}\alpha$  در بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو همچون آلزایمر؛ ام اس و اسکروز جانجی آمیوتروفیک و نیز ضایعات مغزی و سکنه مغزی به اثبات رسیده است (۴،۷). مطالعات برون تنی حاکی از آن است که افزایش سطح  $\text{TNF-}\alpha$  به طور مصنوعی، سبب کاهش بقای سلول‌های نورونی جینی می‌شود. در حالی که آنتی‌بادی‌های ضد گیرنده نوع ۱  $\text{TNF (TNFR1)}$ ، میزان بقای این سلول‌ها را به سطح طبیعی (نمونه کنترل) باز می‌گرداند (۸). از طرفی اخیراً آن-استیل سیستمین ترکیبی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی قوی معرفی شده است. این دارو کاربردهای بالینی متعددی دارد به عنوان مثال از آن در درمان مسمومیت با استامینوفن، برونشیت مزمن، مسمومیت با فلزات سنگین و... استفاده می‌شود (۹-۱۱). اخیراً اثر این دارو در کاهش فاکتورهای التهابی در بسیاری از بافت‌ها و سلول‌های بدن گزارش شده

است (۱۴،۹-۱۲). همچنین توان ضدالتهابی آن-استیل سیستمین از طریق کاهش سایتوکاین‌های التهابی از جمله  $\text{TNF-}\alpha$  در سرم و دیگر مایعات بدن به اثبات رسیده است (۱۵). از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان  $\text{TNF-}\alpha$  در مدل روتوننی بیماری پارکینسون و نیز تأثیر آن-استیل سیستمین بر سطح این فاکتور التهابی در نواحی دوپامینرژیک نیگرواستریاتال مغزی به انجام رسید.

## مواد و روش‌ها

### ۱- مواد شیمیایی

جهت القای مدل پارکینسون از روتون، روغن آفتابگردان و دی‌متیل سولفو کساید (شرکت سیگما، آمریکا) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا روتون در دی‌متیل سولفو کساید حل گردید و سپس در روغن آفتابگردان رقیق شد تا به غلظت مورد نظر (۲/۵ mg/ml) برسد. آن-استیل سیستمین (شرکت سیگما، آمریکا) نیز در نرمال سالین حل شد و با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ mg/ml آماده شد.

### ۲- گروه بندی و ایجاد مدل

۳۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن  $50 \pm 40$  گرم و سن ۱۰ تا ۱۲ ماه از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات (۲ موش در هر قفس) و در یک سیکل شبانه‌روزی ۱۲ ساعت تاریکی/ ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. غذای استاندارد و آب به مقدار کافی در دسترس حیوانات قرار داشت و دمای محیط ۲۱ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. این حیوانات به صورت تصادفی در ۵ گروه آزمایشی زیر تقسیم شدند:

یک گروه از موش‌ها حامل روتون (۱ ml/kg/48h,sc) و حامل آن-استیل سیستمین (۱ ml/kg/48h,sc) را دریافت نمودند.

گرفتند تا به یک عملکرد ثابت برسند. به این ترتیب که در هر روز ۴ نوبت و هر نوبت به مدت ۳۰۰ ثانیه روی دستگاه در حال چرخش قرار داده می‌شدند. سرعت چرخش محور دستگاه در روز اول آموزش ۱۱ دور در دقیقه بود که در آخرین روز آموزش به ۱۵ دور در دقیقه رسید. تست روتارود پیش از انجام تزریقات در روز اول و هر ۴۸ ساعت یک بار از روز پنجم به بعد اجرا شد (۲۰).

#### ۴- سنجش کمی سطح $TNF-\alpha$ توسط روش الایزا

در روز بیستم و پس از ایجاد مدل، ابتدا موش‌ها توسط کوکتل کتامین زایلازین بیهوش شده و سر آن‌ها با گیوتین جدا شد. سپس نواحی مغزی توده سیاه و جسم مخطط سریعاً جدا شده و در نیتروژن مایع قرار داده شد. برای جداسازی توده سیاه، ناحیه مشخص شده در اطلس پاکسینوس به ضخامت یک میلی‌متر به صورت کورونال برش داده شد و توده سیاه که به واسطه رنگدانه‌های ملانین تیره‌تر از بخش‌های اطراف است به صورت دستی با سوزن تشریح و در زیر میکروسکوپ لوپ برداشته شد. برای جداسازی جسم مخطط نیز ناحیه مشخص شده در اطلس پاکسینوس با ضخامت ۳ میلی‌متر به صورت کورونال برش داده شد و جسم مخطط (به واسطه نمای مخططی که در زیر میکروسکوپ لوپ دارد قابل افتراق از بخش‌های اطراف است) برداشته شد. به دنبال آن نمونه‌ها هوموژنیزه شده و با استفاده از تکنیک برادفورد از لحاظ محتوای پروتئینی تعیین غلظت شدند. در نهایت اندازه‌گیری سطح پروتئین  $TNF-\alpha$  با استفاده از کیت الایزای (Rat TNF-alpha ELISA Kit (27194A) محصول شرکت IBL آلمان انجام شد. به این منظور تمام مواد کیت ۳۰ دقیقه قبل از مصرف به دمای اتاق رسیدند و سپس به آرامی و به طور کامل قبل از استفاده مخلوط شدند. در ابتدا چاهک برای معرف‌های بلانک تعیین شد و سپس به ترتیب استانداردها، کنترل‌های بالا و پایین و در نهایت نمونه‌ها در چاهک‌ها ریخته شد. در مرحله بعد محتویات چاهک‌ها تخلیه شده و سپس هر یک از چاهک‌ها با بافر شست و شو پر شد و برای مدت

یک گروه از موش‌ها روتون (۲/۵mg/kg/48h,sc) و حامل‌ان - استیل سیستین (۱ml/kg/48h,sc) را دریافت نمودند (گروه کنترل).

دو گروه از موش‌ها روتون (۲/۵mg/kg/48h,sc) و ان - استیل سیستین (۲/۵mg/kg/48h,sc یا ۵۰) را دریافت نمودند.

یک گروه از موش‌ها حامل روتون (۱ml/kg/48h,sc) و ان - استیل سیستین (۵۰ mg/kg/48h,sc) را دریافت نمودند.

به منظور ایجاد مدل پارکینسونی نیز حیوانات روتون را با دوز ۲/۵mg/kg به صورت زیر جلدی و با فواصل زمانی ۴۸ ساعت یک بار در یک دوره ۲۰ روز دریافت نمودند. روش القای مدل پارکینسونی از پیش در آزمایشگاه راه‌اندازی شده بود و صحت آن توسط تست‌های رفتاری و بررسی‌های مولکولی تأیید شده است (۱۶). به علاوه مبنای انتخاب دوزهای فوق برای ان - استیل سیستین، مطالعات پیشین بود که در آن‌ها مؤثر بودن دوزهای مشابه به اثبات رسیده است (۱۷). لازم به ذکر است که نیمه عمر ان استیل سیستین در بدن ۵ تا ۶ ساعت است و غلظت آن در پلاسمای خون طی ۱ تا ۲ ساعت به بیش‌ترین مقدار خود می‌رسد (۱۸، ۱۹). به علاوه در مطالعات پیشین نیز تأثیر مثبت ان - استیل سیستین به صورت پیش‌تیمار گزارش شده است (۱۷). از این رو ان - استیل سیستین یک ساعت قبل از تزریق روتون به موش‌ها تزریق شد.

#### ۳- روش انجام تست رفتاری روتارود

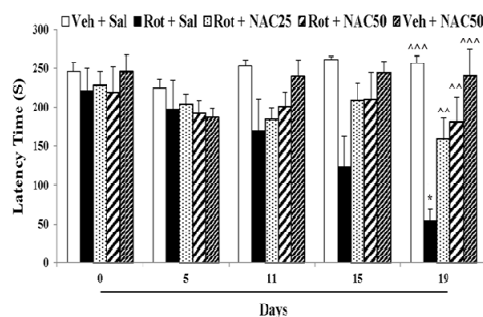
تست رفتاری روتارد، تست معتبر جهت ارزیابی آسیب‌های عصبی در جوانگان است و می‌تواند مکرراً برای یک حیوان تکرار شود تا قدرت عضلانی، هماهنگی اندام‌های قدامی و خلفی و تعادلش را سنجش نماید. این سنجش بر اساس زمانی که حیوان قادر است روی دستگاه در حال چرخش بماند و سقوط نکند، انجام می‌شود. در این مطالعه تمامی موش‌ها قبل از شروع مطالعه تحت یک برنامه آموزشی ۵ روزه قرار

استفاده از حیوانات آزمایشگاهی» (چاپ مؤسسه سلامت ملی آمریکا، شماره ۲۳-۸۵، بازنگری شده در سال ۱۹۸۵) بود و مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان قرار گرفت.

## یافته ها

نتایج آنالیز آماری آزمون تی زوجی حاکی از کاهش معنی دار زمان ماندگاری گروه کنترل (روتونون + حامل ان-استیل سیستین) در روز ۱۹ بر روی دستگاه روتارود، در مقایسه با روز صفر (Baseline) خودش بود، که به نوبه خود نشان دهنده کاهش قدرت عضلانی و تعادل می باشد. هم چنین در همین روز ۱۹ مشاهده شد که ان-استیل سیستین به طور معنی داری توانسته بوداز کاهش قدرت عضلانی و تعادل حیوانات در گروه های دریافت کننده روتونون در این تست جلوگیری نماید. لازم به ذکر است که تفاوت معنی داری بین نتایج گروه روتونون و ان-استیل سیستین ۲۵ و گروه روتونون و ان-استیل سیستین ۵۰ وجود نداشت (نمودار شماره ۱).

Rotarod Test



نمودار شماره ۱: مقایسه عملکرد گروه های آزمایشی در تست روتارود. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. تعداد نمونه ها برابر با ۶ سر موش در هر گروه بود.  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.  $p < 0.01$  \* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه کنترل (روتونون + حامل ان-استیل سیستین) در آن روز با روز اول در همان گروه می باشد.  $p < 0.01$  ^ و  $p < 0.001$  ^^^ نشان دهنده اختلاف معنی دار سایر گروه ها با گروه کنترل می باشد. Rot = روتونون، Veh = حامل، Sal = سالین، NAC = ان-استیل سیستین

۱۵ تا ۳۰ ثانیه رها گردید. این روش شست و شو ۷ مرتبه تکرار شد و سپس، مایع باقی مانده از چاهک ها به طور کامل تخلیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنتی بادی نشاندار شده به تمامی چاهک ها اضافه گردید و پلیت با درب بسته به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد به حال خود رها شد. پس از آن پلیت ۹ بار با روشی که در فوق شرح آن آمد، شستشو داده شد. پس از این مرحله ۱۰۰ میکرولیتر از Chromogen به هر یک از چاهک ها اضافه شد و پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفت. مایع با اضافه کردن Chromogen آبی شد. آنگاه ۱۰۰ میکرولیتر از محلول توقف به هر یک از چاهک ها اضافه شده و مایع در نتیجه اضافه کردن محلول توقف به رنگ زرد در آمد. در نهایت اندازه گیری با استفاده از دستگاه الیزا ریدر Stat Fax 2100 ساخت کشور فرانسه در طول موج ۴۵۰ نانومتر در مقابل معرف بلانک انجام گرفت.

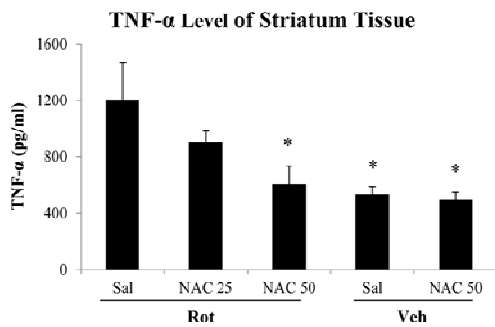
## ۵- آنالیز آماری

تحلیل داده ها با استفاده از نسخه ۲۱ نرم افزار SPSS انجام شد. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد تعریف شده اند. هر گروه متشکل از ۶ سر موش بود. جهت آنالیز آماری تست رفتاری روتارود، نتایج گروه روتونون در هر روز با روز اول توسط آزمون تی جفتی مقایسه شد. روزی که در آن تفاوت معنی دار با روز اول داشت به عنوان زمان ایجاد مدل تلقی گردید و در این روز نتایج با گروه حامل روتونون از طریق آزمون تی مستقل مورد مقایسه قرار گرفت.

جهت آنالیز آماری نتایج تست الیزا نیز تفاوت میانگین داده های گروه کنترل با سایر گروه ها توسط آزمون ANOVA یک طرفه بررسی و در صورت معنی داری از آزمون تعقیبی Tukey بهره گرفته شد.  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

## ۶- ملاحظات اخلاقی

تمامی آزمایشات مطابق با «دستورالعمل مراقبت و



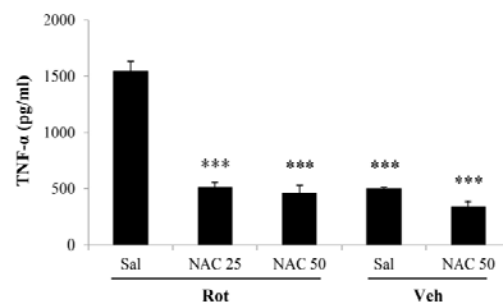
نمودار شماره ۳: مقایسه سطح پروتئین TNF- $\alpha$  در ناحیه جسم مخطط مغز در گروه‌های آزمایشی. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. تعداد نمونه‌ها برابر با ۶ سر موش در هر گروه بود.  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.  $p < 0.05$  \* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (روتون + حاملان - استیل‌سیستئین) می‌باشد. Rot = روتون، Veh = حامل، Sal = سالین، NAC = ان - استیل‌سیستئین

## بحث

نتایج تست روتارود نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل با دیگر گروه‌های آزمایشی و نیز با روز نخست خودش وجود دارد و این بدان معناست که مدل بیماری پارکینسون با موفقیت ایجاد شده است. با توجه به این که مطالعات پیشین نشان داده‌اند که زمان سپری شده روی دستگاه روتارود با از دست رفتن اعصاب دوپامینرژیک رابطه معکوس دارد (۲۱)، ما تصمیم گرفتیم این تست را مبنایی برای تأیید ایجاد مدل قرار دهیم. از سوی دیگر نتایج این بررسی نمایانگر افزایش سطح بیان TNF- $\alpha$  در گروه کنترل نسبت به دریافت کنندگان حامل روتون بود. مطالعات پیشین نیز نشان دهنده افزایش سطح TNF- $\alpha$  و یکی از گیرنده‌های آن (soITNFR1) در مغز بیماران پارکینسونی است، به طوری که بالاترین سطح TNF- $\alpha$  مربوط به نواحی دوپامینرژیک در حال تخریب این بیماران بود (۷). در مجموع یافته‌های فوق علاوه بر تأیید هر چه پیش‌تر نقش مهم TNF- $\alpha$  در بیماری پارکینسون مزید بر اعتبار مدل ایجاد شده در این پژوهش می‌باشد. از طرفی نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که ان - استیل‌سیستئین می‌تواند از افت عملکرد موش‌های دریافت‌کننده سم روتون در تست روتارود جلوگیری

همان‌گونه که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است، نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار سطح TNF- $\alpha$  در ناحیه توده سیاه در گروه کنترل (روتون و حامل ان - استیل‌سیستئین) نسبت به گروه دریافت‌کننده حامل روتون است، که به نوبه خود نشان‌دهنده افزایش میزان التهاب در نورون‌های دوپامینرژیک این ناحیه در مدل حیوانی بیماری پارکینسون است. از طرفی در همین نمودار مشاهده می‌شود که ان - استیل‌سیستئین به طور معنی‌داری از افزایش سطح TNF- $\alpha$  جلوگیری کند. به علاوه تفاوت معنی‌داری بین نتایج گروه روتون و ان - استیل‌سیستئین ۲۵ و گروه روتون و ان - استیل‌سیستئین ۵۰ وجود نداشت.

TNF- $\alpha$  Level of Substantia nigra Tissue



نمودار شماره ۲: مقایسه سطح پروتئین TNF- $\alpha$  در ناحیه توده سیاه مغز در گروه‌های آزمایشی. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. تعداد نمونه‌ها برابر با ۶ سر موش در هر گروه بود.  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.  $p < 0.001$  \*\*\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (روتون + حاملان - استیل‌سیستئین) می‌باشد. Rot = روتون، Veh = حامل، Sal = سالین، NAC = ان - استیل‌سیستئین

هم‌چنین نتایج در نمودار شماره ۳ نشان دهنده افزایش معنی‌دار سطح TNF- $\alpha$  در ناحیه جسم مخطط گروه کنترل (روتون و حامل ان - استیل‌سیستئین) نسبت به گروه دریافت‌کننده حامل روتون است، که در راستای نتایج فوق نشان‌دهنده افزایش میزان التهاب در نورون‌های دوپامینرژیک این ناحیه در مدل حیوانی ایجاد شده است. از طرفی در همین نمودار دیده می‌شود که ان - استیل‌سیستئین قادر بود با دوز ۵۰ mg/kg از افزایش سطح TNF- $\alpha$  جلوگیری کند.

کند، که این خود احتمالاً ناشی از تأثیرات ضدالتهابی و نوروپروتکتیو این ترکیب باشد. این یافته با نتایج مطالعات پیشین که نقش نوروپروتکتیو ترکیبات ضد التهابی را در به تعویق انداختن بیماری پارکینسون گزارش نموده‌اند، هم‌سو می‌باشد (۲۲). به علاوه در تأیید نتایج تست روتارود، پژوهش حاضر نشان داد که ان-استیل سیستین می‌تواند در کاهش سطح TNF- $\alpha$  در نواحی توده سیاه و جسم مخطط مغز موش‌های دریافت‌کننده روتون مؤثر باشد. از آنجایی که TNF- $\alpha$  یکی از کلیدی‌ترین اجزای مسیرهای التهابی است، بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که احتمالاً ان-استیل سیستین تأثیر خود را از طریق ایجاد تغییر در مسیرهای التهابی اعمال می‌کند. در تأیید این فرض می‌توان به نتایج مطالعاتی اشاره نمود که ثابت می‌کنند یکی از راه‌های اعمال اثر ان-استیل سیستین از طریق فعال‌سازی کینازهای دارای خواص نوروپروتکتیو p38 MAPK و ERKs و مهار بیان سایتوکین‌های TNF- $\alpha$ ، IL-6، IL-2 و IL-1 $\beta$  است که همگی بخشی از شبکه پیچیده مسیرهای التهابی می‌باشند (۲۳-۲۵). از سوی دیگر برخی مطالعات نشان داده‌اند که ان-استیل سیستین می‌تواند بیان پروتئینی موسوم به NF- $\kappa$ B را کاهش دهد (۲۶). از

این رو احتمالاً ان-استیل سیستین تأثیر خود را از طریق NF- $\kappa$ B روی TNF- $\alpha$  و سایر سایتوکین‌های التهابی اعمال می‌کند و پیشنهاد می‌شود مبنایی برای مطالعات آتی قرار گیرد. همچنین استرس اکسیداتیو که یکی از ویژگی‌های بارز بیماری پارکینسون است، یک القاکننده قوی برای بیان NF- $\kappa$ B محسوب می‌شود (۲۶)، که این نیز می‌تواند نقطه تلاقی خواص توأم آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی ان-استیل سیستین باشد.

به علاوه به نظر می‌رسد که اختلاف گروه کنترل با سایر گروه‌های آزمایشی از لحاظ سطح TNF- $\alpha$ ، در ناحیه توده سیاه بیش‌تر از ناحیه جسم مخطط است. این امر احتمالاً به علت تجمع بیش‌تر اعصاب دوپامینرژیک ناحیه توده سیاه در مقایسه با جسم مخطط است و می‌تواند نشانه‌ی این باشد که عمده تغییرات TNF- $\alpha$  مربوط به نورون‌های دوپامینرژیک این نواحی می‌باشد (۲۷،۲۸).

نتایج مطالعه حاضر علاوه بر تأیید اهمیت نقش TNF- $\alpha$  در بروز بیماری پارکینسون، نشان داد که ان-استیل سیستین قادر است از طریق کاهش سطح TNF- $\alpha$ ، مسیرهای التهابی درگیر در بیماری پارکینسون را مهار نموده و از بروز بیماری پارکینسون جلوگیری کند.

## References

1. Betarbet R, Canet-Aviles RM, Sherer TB, Mastroberardino PG, McLendon C, Kim JH, et al. Intersecting pathways to neurodegeneration in Parkinson's disease: effects of the pesticide rotenone on DJ-1, alpha-synuclein, and the ubiquitin-proteasome system. *Neurobiol Dis* 2006; 22(2): 404-420.
2. Tufekci KU, Meuwissen R, Genc S, Genc K. Inflammation in Parkinson's disease. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2012; 88: 69-132.
3. Hirsch EC, Vyas S, Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2012; 18(Suppl 1): S210-212.
4. Fergar B, Leng A, Mura A, Hengerer B, Feldon J. Genetic ablation of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and pharmacological inhibition of TNF-synthesis attenuates MPTP toxicity in mouse striatum. *J Neurochem* 2004; 89(4): 822-833.
5. Wilms H, Zecca L, Rosenstiel P, Sievers J, Deuschl G, Lucius R. Inflammation in Parkinson's diseases and other neurodegenerative diseases: cause and therapeutic implications. *Curr Pharm Des* 2007; 13(18): 1925-1928.

6. Whitton PS. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. *Br J Pharmacol* 2007; 150(8): 963-976.
7. McCoy MK, Tansey MG. TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *J Neuroinflammation* 2008; 5: 45.
8. Barker V, Middleton G, Davey F, Davies AM. TNFalpha contributes to the death of NGF-dependent neurons during development. *Nat Neurosci* 2001; 4(12): 1194-1198.
9. Uraz S, Tahan G, Aytakin H, Tahan V. N-acetylcysteine expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic acid-induced colitis in rats. *Scand J Clin Lab Invest* 2013; 73(1): 61-66.
10. Scalley RD, Conner CS. Acetaminophen poisoning: a case report of the use of acetylcysteine. *Am J Hosp Pharm* 1978; 35(8): 964-967.
11. Stey C, Steurer J, Bachmann S, Medici TC, Tramer MR. The effect of oral N-acetylcysteine in chronic bronchitis: a quantitative systematic review. *Eur Respir J* 2000; 16(2): 253-262.
12. Rocksén D, Lilliehook B, Larsson R, Johansson T, Bucht A. Differential anti-inflammatory and anti-oxidative effects of dexamethasone and N-acetylcysteine in endotoxin-induced lung inflammation. *Clin Exp Immunol* 2000; 122(2): 249-456.
13. Lasram MM, Lamine AJ, Dhouib IB, Bouzid K, Annabi A, Belhadjhmida N, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. *Life Sci* 2014; 107(1-2): 50-58.
14. Palacio JR, Markert UR, Martinez P. Anti-inflammatory properties of N-acetylcysteine on lipopolysaccharide-activated macrophages. *Inflamm Res* 2011; 60(7): 695-704.
15. Chang EY, Zhang J, Sullivan S, Newman R, Singh I. N-acetylcysteine attenuates the maternal and fetal proinflammatory response to intrauterine LPS injection in an animal model for preterm birth and brain injury. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011; 24(5): 732-740.
16. Rahimmi A, Khosrobakhsh F, Izadpanah E, Hassanzadeh K. Induction of Parkinson's disease model in rat by rotenone. *J Isfahan Med Sch* 2014; 32(296): 1-9.
17. Sun L, Gu L, Wang Sh, Yuan J, Yang H, Zhu J, et al. N-acetylcysteine protects against apoptosis through modulation of group I metabotropic glutamate receptor activity. *PLoS One* 2012; 7(3): e32503.
18. Holdiness MR. Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. *Clin Pharmacokinet* 1991; 20(2): 123-134.
19. Sansone RA, Sansone LA. Getting a Knack for NAC: N-Acetyl-Cysteine. *Innov Clin Neurosci* 2011; 8(1): 10-14.
20. Urbach YK, Bode FJ, Nguyen HP, Riess O, von Horsten S. Neurobehavioral tests in rat models of degenerative brain diseases. *Methods Mol Biol* 2010; 597: 333-356.
21. Iancu R, Mohapel P, Brundin P, Paul G. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behav Brain Res* 2005; 162(1): 1-10.
22. Lu L, Li F, Wang X. Novel anti-inflammatory and neuroprotective agents for Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2010; 9(2): 232-240.
23. Nascimento MM, Suliman ME, Silva M, Chinaglia T, Marchioro J, Hayashi SY, et al. Effect of oral N-acetylcysteine treatment on plasma inflammatory and oxidative stress



- 
- markers in peritoneal dialysis patients: a placebo-controlled study. *Perit DialInt* 2010; 30(3): 336-342.
24. Lin CH, Kuo SC, Huang LJ, Gean PW. Neuroprotective effect of N-acetylcysteine on neuronal apoptosis induced by a synthetic gingerdione compound: involvement of ERK and p38 phosphorylation. *J Neurosci Res* 2006; 84(7): 1485-1494.
25. Chen CM, Yin MC, Hsu CC, Liu TC. Antioxidative and anti-inflammatory effects of four cysteine-containing agents in striatum of MPTP-treated mice. *Nutrition* 2007; 23(7-8): 589-597.
26. Bavarsad Shahripour R, Harrigan MR, Alexandrov AV. N-acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: mechanisms of action and therapeutic opportunities. *Brain Behav* 2014; 4(2): 108-122.
27. Nicola SM, Surmeier J, Malenka RC. Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Annu Rev Neurosci* 2000; 23: 185-215.
28. Davie CA. A review of Parkinson's disease. *Br Med Bull* 2008; 86: 109-127.