DOI: 10.48305/jims.v43.i802.0046

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و سوم/شماره‌ی ۸۰۲/هفته‌ی دوم فروردین ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۸ تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۱/۱۴

# بررسی اثرات محافظتی و ضدالتهابی فیستین بر سطح سرمی اینترفرون گاما و بقای سلول‌های بیان‌کننده‌ی فاکتور Myelin Basic Protein در مغز موش سوری به دنبال گاواژ کاپریزون

آرمینا بهادر[۱]، ابراهیم اسفندیاری[۲]، ناظم قاسمی[۳]

مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** عوامل سمی خارجی با داشتن آنتی‌ژن‌های هسته‌ای مشابه با پروتئین‌های پایه‌ی میلین، قادر به فعال کردن سلول‌های ایمنی و تخریب غلاف میلین می‌باشند. فیستین با داشتن اثرات محافظت‌کنندگی عصبی نقشی مهم در پیشگیری از آسیب‌های عصبی دارد. در مطالعه‌ی حاضر، اثرات فیستین بر سطح سرمی اینترفرون گاما (IFN-γ) و پیشگیری از مرگ سلول‌های بیان‌کننده‌ی فاکتور Mbp در مغز موش سوری مورد بررسی قرار گرفت.

**روش‌ها:** ۲۰ عدد موش سوری نژاد C57BL/6 در پنج گروه شامل گروه‌های شاهد، شم، کاپریزون، فیستین و کاپریزون/فیستین تقسیم شدند. به منظور القاء مرگ سلول‌های Mbp مثبت از ترکیب کاپریزون استفاده شد. در پایان سطح سرمی اینترفرون گاما با روش ELISA و میانگین درصد سلول‌های Mbp مثبت با روش ایمونوهیستوشیمی بررسی شد. در نهایت داده‌ها با استفاده از آزمون One Way ANOVA آنالیز شدند.

**یافته‌ها:** میانگین بیان فاکتور التهابی اینترفرون گاما در گروه دریافت‌کننده‌ی فیستین نسبت به گروه کاپریزون کاهش معنی‌داری داشت ($P \leq ۰/۰۰۱$). همچنین به دنبال استفاده از کاپریزون، میانگین درصد سلول‌های Mbp مثبت در گروه کاپریزون نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری داشت ($P \leq ۰/۰۵$).

**نتیجه‌گیری:** کاپریزون با افزایش سطح سرمی فاکتور التهابی اینترفرون گاما قادر است باعث افزایش مرگ سلول‌های نوروگلیای بیان‌کننده‌ی فاکتور Mbp شود. نتایج این مطالعه نشان دارد که فیستین می‌تواند به عنوان نوعی فلاوونوئید با اعمال اثرات ضدالتهابی و محافظت‌کنندگی نورونی نقشی مهم در محافظت از سلول‌های نوروگلیا داشته باشد و اثرات مخرب عوامل التهابی بر بافت عصبی را کاهش دهد.

**واژگان کلیدی:** فیستین؛ اینترفرون گاما؛ پروتئین Mbp؛ میلین؛ الیگودندروسیت

**ارجاع:** بهادر آرمینا، اسفندیاری ابراهیم، قاسمی ناظم. **بررسی اثرات محافظتی و ضدالتهابی فیستین بر سطح سرمی اینترفرون گاما و بقای سلول‌های بیان‌کننده‌ی فاکتور Myelin basic protein در مغز موش سوری به دنبال گاواژ کاپریزون.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۰۲): ۴۶-۵۲.

## مقدمه

اخیراً استفاده از مدل‌های حیوانی به منظور بررسی نقش عوامل محیطی در مرگ سلول‌های عصبی و تخریب بافت میلین، نظر محققین را به خود جلب کرده است. از جمله این ترکیبات می‌توان به ترکیب کاپریزون اشاره کرد. کاپریزون یا اسید اگزالیک بیس یک عامل شلاته‌کننده‌ی مس می‌باشد که باعث تخریب غلاف میلین می‌شود. تخریب میلین ناشی از کاپریزون، یک مدل ساده برای بررسی پاسخ‌های التهابی ذاتی مغز و بررسی فرایندهای تخریب و بازسازی میلین محسوب می‌شود. تخریب میلین ناشی از کاپریزون به دلیل آپوپتوز الیگودندروسیت‌ها است و بلافاصله پس از قرار گرفتن در معرض کاپریزون اتفاق می‌افتد. مکانیسم دقیق مرگ الیگودندروسیت به طور کامل شناخته نشده است، اما این ترکیب می‌تواند از طریق اختلال در عملکرد آنزیم‌های میتوکندری و ایجاد استرس متابولیک مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی را رقم بزند (۱). جهت بررسی مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی معمولاً از مارکرهای سطحی این سلول‌ها استفاده می‌شود. پروتئین اصلی میلین (Myelin basic protein)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

**نویسنده‌ی مسؤول:** ناظم قاسمی: دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: n_ghasemi@med.mui.ac.ir

Mbp نوعی پروتئین ویژه است که در فرایند میلین‌دار شدن آکسون‌ها اهمیت بسزایی دارد. در پژوهش‌های مختلف از این فاکتور در روش‌های ایمونوهیستوشیمی و به منظور بررسی تراکم میلین و یا بررسی سلول‌های میلین‌ساز بالغ استفاده می‌شود.

نتایج مطالعات نشان داده است که استفاده از کاپریزون باعث می‌شود که درصد سلول‌های T بالغ، سلول‌های T تنظیم‌کننده، سلول‌های کمکی T و سلول‌های B بالغ در طول فرایند تخریب میلین افزایش پیدا می‌کند و این اثرات منفی با حذف کاپریزون از رژیم غذایی کاهش خواهد یافت (۲). تجزیه و تحلیل سیتوکین‌ها نشان می‌دهد که سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی نظیر اینترفرون گاما به عنوان پاسخ اولیه به تیمار با کاپریزون در طول دوره دمیلیناسیون افزایش می‌یابد (۲). عوامل نوروتروفیک با اثرات محافظت‌کنندگی عصبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوزی قادر هستند که اثرات توکسیک ناشی از عوامل پاتوژن محیطی را تقلیل دهند (۳). فلاونوئیدها گروهی از رنگدانه‌های گیاهی هستند که به دلیل نقش فراوان‌شان، به طور منظم در رژیم‌های غذایی استفاده می‌شوند (٤). در مطالعات متعدد، اثرات درمانی فلاونوئیدها شامل اثرات نوروتروفیک، ضدسرطان، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی آنها مورد بررسی قرار گرفته است.

یکی از انواع فلاونوئیدها که اخیراً مورد توجه خاص محققین قرار گرفته است، ترکیب فیستین می‌باشد. این ترکیب در میوه‌ها و سبزیجات مختلف به صورت فراوان یافت می‌شود. فیستین از رایج‌ترین و فعال‌ترین فلاونوئیدهایی است که دارای اثرات بالقوه محافظت‌کننده‌ی عصبی است (۵، ٦). در مطالعات مختلف گزارش شده است که فیستین یادگیری و حافظه را تقویت می‌کند. بعلاوه مرگ سلولی مرتبط با پیری عصبی را کاهش می‌دهد و همچنین استرس اکسیداتیو را سرکوب می‌کند (۵، ۷). فیستین به عنوان قوی‌ترین سنولیتیک سلول‌های پیر را مورد هدف قرار می‌دهند و با از بین بردن آن‌ها نقشی مهم در پیشگیری از روند پیری بازی می‌کنند. در مطالعه‌ای اثبات شد که که استفاده از فیستین در موش‌های مسن منجر به کاهش نشانگرهای پیری در بافت‌های مختلف می‌شود (۷، ۸). فیستین با فعالیت ضد التهابی قوی قادر است با مهار بیان آنزیم‌های سیکلواکسیژناز، پروستاگلاندین و لکوترین از التهاب مزمن جلوگیری کند. فیستین در تنظیم مسیرهای سیگنالینگ ناشی از فاکتور نوروتروفیک نقشی کلیدی را بازی می‌کند. این ماده به عنوان یک ترکیب محافظت‌کننده‌ی عصبی عمل می‌کند و از مرگ سلولی جلوگیری می‌نماید. همچنین با کاهش فعالیت ماکروفاژها، می‌تواند فاگوسیتوز میلین را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند (۹).

با توجه به شیوع فراوان بیماری‌های تخریب‌کننده‌ی نورونی و به لحاظ اینکه فیستین می‌تواند به شکل مستقیم نقش حفاظت‌کنندگی نورونی و ضد التهابی داشته باشد، بررسی اثرات این ترکیب بر سطح سرمی اینترفرون گاما و سلول‌های بیان‌کننده‌ی فاکتور Mbp در مغز موش سوری به دنبال گاواژ کاپریزون و با هدف یافتن ترکیبی مناسب برای پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های تخریب‌کننده‌ی عصبی ضرورت انجام این پژوهش می‌باشد.

## روش‌ها

### گروه‌بندی

این مطالعه‌ی تجربی بر روی تعداد ۲۰ عدد موش سوری ماده، نژاد C57BL/6با وزن ۲۵-۲۰ گرم (۱۰-۱۵ هفته) در دانشکده‌ی پزشکی اصفهان و در سال ۱٤۰۳ انجام شد. در این پژوهش تمام روش‌های آزمایشگاهی و مراقبت‌های حیوانی طبق قوانین کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رعایت گردید. موش‌ها بصورت تصادفی در ۵ گروه تایی شامل گروه‌های شاهد (تغذیه طبیعی)، شم (تغذیه طبیعی، گاواژ با ۲۰۰ میکرولیتر روغن ذرت و تزریق داخل صفاقی آب مقطر)، کاپریزون، فیستین و کاپریزون/فیستین تقسیم شدند. در ابتدا موش‌ها به مدت یک هفته در شرایط غذایی و محیطی استاندارد نگهداری شدند. به منظور القاء مرگ سلول‌های میلین‌ساز MBP مثبت، از کاپریزون با دوز ٤۰۰ mg/kg/day محلول در ۲۰۰ میکرولیتر روغن ذرت و به مدت ٤ هفته، استفاده شد. در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فیستین، فیستین به میزان ۲۰ mg/kg بصورت روزانه تزریق داخل صفاقی شد و در گروه فیستین/کاپریزون این عمل با فاصله زمانی از گاواژ کاپریزون انجام گرفت.

### تکنیک ایمونوهیستوشیمی

در پایان مطالعه و به منظور ایجاد بیهوشی عمیق از تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین استفاده شد و سپس با استفاده از روش پرفیوژن قلبی، مغز موش‌ها فیکس شد (۱۳-۱۰). در ابتدا دهلیز راست برش داده شد و بعد از جمع‌آوری خون، PBS سرد و پارافرمالدهید درصد ٤ سرد از طریق بطن چپ وارد سیستم گردش خون گردید. سپس کل مغز از جمجمه خارج شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه درون پارافرمالدئید ٤ درصد مجدداً فیکس گردید. در ادامه مقاطع پارافینه بصورت سریال با ضخامت ۵ µm از ناحیه‌ی جسم پینه‌ای مغز تهیه شد. بعد از انجام تکنیک بازیابی آنتی‌ژن (با استفاده از بافر سدیم سیترات) و با کمک آنتی‌بادی اولیه ( 1:1000; Abcam, Anti Mbp (ab7349 Cambridge و آنتی بادی ثانویه متصل به فلوئورسنس، تکنیک ایمونوهیستوشیمی انجام شد. لازم به ذکر است که رنگ‌آمیزی هسته‌ها با استفاده از DAPI انجام گرفت. به منظور تعیین درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر Mbp تعداد ۲۰۰ سلول حداقل در ۵ فیلد و به شکل تصادفی شمارش گردید و درصد

سلول‌های بیان‌کننده‌ی این مارکر گزارش گردید. لازم به ذکر است که کلیه‌ی بررسی‌های ایمونوهیستوشیمی سه بار تکرار شد.

### تکنیک ELISA و بررسی سطح سرمی اینترفرون گاما

به منظور بررسی سطح سرمی اینترفرون گاما از روش الیزا استفاده شد. در پایان مطالعه و بعد از تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین بیهوشی عمیق داده شد و قبل از پرفیوژن قلبی به منظور فیکس کردن نمونه‌ی خون از دهلیز راست موش‌ها گرفته شد. بعد از سانتریفوژ و جمع‌آوری سرم خون، مراحل انجام الیزا مطابق با روش ارایه شده توسط شرکت سازنده‌ی کیت خریداری شده انجام گرفت. ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد موجود در کیت را به همه‌ی چاهک‌ها بجز چاهک مربوط به بلانک منتقل کردیم. سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد و به مدت ۵۰ دقیقه در دمای اتاق، بر روی یک شیکر با دور ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. در ادامه محلول موجود در هر یک از چاهک آسپیره شد و با استفاده از بافر شستشو، شستشوی چاهک‌ها انجام گرفت. بعد از شستشو ۵۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی کونزوگه به هر چاهک (بجز چاهک بلانک) اضافه شد و بعد از پوشاندن با سیلر پلیت به مدت ۵۰ دقیقه در دمای اتاق، بر روی یک شیکر با دور ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. فرایند آسپیراسیون/شستشو مشابه مرحله قبل تکرار گردید. در ادامه ۵۰ میکرولیتر از محلول HRP-Avidin به تمامی چاهک‌ها (بجز بلانک) اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، بر روی شیکر با دور ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. فرایند آسپیراسیون/شستشو مشابه مرحله قبل ۵ بار تکرار گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا به هر چاهک اضافه گردید و با سیلر Plate جدید پوشانده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و دور از نور انکوبه شد. در نهایت ۵۰ میکرولیتر محلول توقف به هر چاهک اضافه شد و با استفاده از میکروپلیت خوان، میزان پروتیین موجود در نمونه را در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

در پایان مطالعه و به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ (version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) استفاده شد. آنالیز و مقایسه‌ی داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس One way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد. مقدار $P < ۰/۰۵$ به عنوان اختلاف میانگین داده‌ها از لحاظ آماری در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

### نتایج بیان مارکر Mbp با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی

نتایج نشان داد که درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر Mbp در مقاطع مغزی، در گروه‌های تحت تیمار با فیستین نسبت به گروه کاپریزون بصورت معنی‌داری بالاتر بود ($P < ۰/۰۵$). از لحاظ آماری بین میانگین درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر Mbp در گروه‌های تحت تیمار با فیستین با گروه‌های شم و کاپریزون تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱).

### نتایج بیان اینترفرون گاما با استفاده از تکنیک ELISA

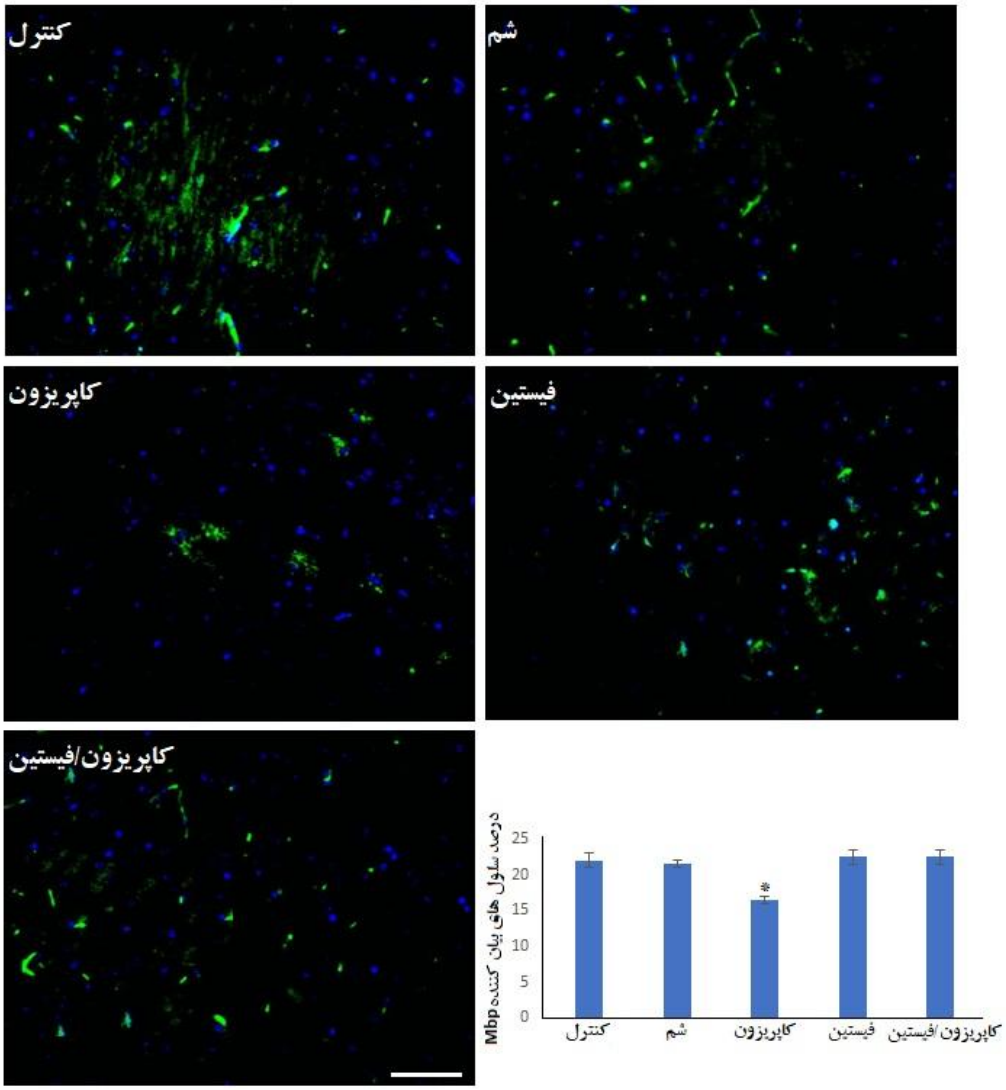
نتایج نشان داد که میانگین بیان فاکتور اینترفرون گاما در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون نسبت به گروه‌های شاهد، شم و فیستین/کاپریزون به شکل معنی‌داری افزایش یافته است ($P \leq ۰/۰۱$). همچنین در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فیستین، سطح سرمی این فاکتور در مقایسه با گروه کاپریزون بصورت معنی‌داری کاهش یافته است ($P \leq ۰/۰۰۱$) (شکل ۲).

## بحث

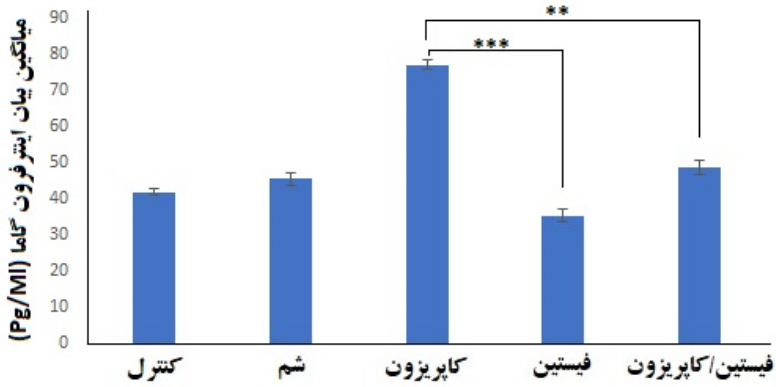
در مطالعه‌ی حاضر اثرات محافظتی و ضدالتهابی فیستین بر سطح سرمی اینترفرون گاما و بقای سلول‌های بیان‌کننده‌ی فاکتور Myelin basic protein در مغز موش سوری به دنبال گاواژ کاپریزون مورد بررسی قرار گرفت. التهاب نقش بسیار مهمی در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های نوروژنراتیو دارد (۱۴). به دنبال التهاب، نفوذ سلول‌های ترشح‌کننده‌ی سیتوکین به درون بافت عصبی افزایش پیدا می‌کند و این افزایش عامل مهمی در شروع مرگ سلول‌های عصبی می‌باشد. یکی از سیتوکین‌هایی که در مطالعه‌ی حاضر مورد بررسی قرار گرفت، اینترفرون گاما می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که اینترفرون گاما به طور معمول در سیستم عصبی مرکزی وجود ندارد و لذا افزایش سطح این سیتوکین با بروز اختلالات مرتبط با تخریب میلین رابطه‌ی مستقیم دارد.

در مطالعه‌ای اثبات شده است که درمان بیماران اماس با اینترفرون گاما منجر به تشدید بیماری می‌شود. همچنین موش‌های تراریخته‌ای که به طور نابجا سطوح پایینی از اینترفرون گاما را در سیستم عصبی مرکزی بیان می‌کنند، هنگام مواجهه با کاپریزون هیچگونه نشانه‌ای مبنی بر مرگ الیگودندروگلیال، آستروگلیوز یا میکروگلیوز را از خود نشان ندادند (۱۵). همانطوری که در شکل ۲ دیده می‌شود به دنبال استفاده از ترکیب فیستین، سطح سرمی اینترفرون گاما کاهش پیدا کرده است. در توجیه این مسأله می‌توان گفت که فیستین به عنوان فعال‌ترین فلاونوئید با اثرات بالقوه فراوان (۲۱-۱۶) می‌تواند باعث سرکوب التهاب شود و سطح سیتوکین‌های التهابی را کاهش بدهد.

همانطوری که در شکل ۱ دیده می‌شود، به دنبال گاواژ کاپریزون سطح سرمی اینترفرون گاما افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند. این نتیجه در راستای یافته‌های مطالعه‌ی Digehsara و همکاران در سال ۲۰۲۱ می‌باشد. در این مطالعه تجزیه و تحلیل سیتوکین نشان داد که سطح سایتوکین‌های پیش‌التهابی نظیر اینترفرون گاما به عنوان پاسخ




**شکل ۱.** مقایسه‌ی میانگین بیان مارکر **Mbp** با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی. هسته‌ی سلول‌ها با کمک **DAPI** رنگ‌آمیزی شده است. بیان مارکر **Mbp** (به رنگ سبز) در گروه کاپریزون نسبت به سایر گروه‌ها کمتر می‌باشد (*: بیانگر $P < ۰/۰۵$ می‌باشد) (**Scale bars: 200 µm**).




**شکل ۲.** نتایج تکنیک **ELISA**. مقایسه‌ی میانگین بیان فاکتور اینترفرون گاما در گروه‌های مختلف. میانگین بیان فاکتور اینترفرون گاما در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فیستین به شکل معنی‌داری افزایش یافته است (**: بیانگر $P < ۰/۰۱$ و ***: بیانگر $P < ۰/۰۰۱$ می‌باشد).

اولیه به تیمار با کاپریزون در طول دوره دمیلینه‌سازی افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند (۲۲). در توجیه این مسأله می‌توان گفت که تیمارباکاپریزون منجر به افزایش پاسخ ایمنی وابسته به لنفوسیت‌های T و تحریک سلول‌های لنفوسیتی B و افزایش سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی نظیر اینترفرون گاما می‌شود (۲). در مطالعه‌ی حاضر به دنبال مصرف فیستین، سطح اینترفرون گاما کاهش پیدا کرده است. این نتیجه در راستای مطالعه‌ی Sun و همکاران در سال ۲۰۲۱ می‌باشد. در این مطالعه اثبات شد که فیستین با مهار بعضی از مسیرهای سیگنالینگ سلولی نظیر PI3K/AKT/mTOR قادر است از بیان سیتوکین‌های التهابی جلوگیری کند (۲۳). فیستین با سرکوب فسفوریلاسیون JNK و فعال‌سازی NF-kB در سلول‌های تحت درمان با لیپوپلی ساکارید فعالیت ضد التهابی مؤثری را از خود بروز داده است (۲٤، ۲۵).

همانطوری که در شکل ۲ دیده می‌شود درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر Mbp که نوعی مارکر سطحی سلول‌های الیگودندروسیتی است در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون در مقایسه با گروه‌های شاهد و شم کاهش قابل توجهی پیدا کرده است. بعلاوه استفاده از فیستین منجر به حفظ جمعیت سلولی Mbp مثبت شده است. در توجیه این نتایج می‌توان گفت که استفاده از کاپریزون می‌تواند از طریق افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد آنزیم‌های میتوکندری، باعث مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی شوند. همچنین کاپریزون از طریق کاهش بیان ژن‌های مرتبط با تمایز الیگودندروسیت‌ها می‌تواند از تبدیل شدن سلول‌های الیگودندروسیتی نابالغ به سلول‌های بالغ و بیان‌کننده‌ی مارکر Mbp جلوگیری کند.

مطالعات نشان داده است که Neuregulin که نوعی پروتئین مربوط با خانواده فاکتورهای رشد اپیدرمی است و برای رشد الیگودندروسیت‌ها ضروری است به عنوان یک پاسخ اولیه در مواجهه با کاپریزون بین هفته‌ی ۰ تا ٤ به طور قابل توجهی کاهش پیدا می‌کند. همچنین فاکتور نوروتروفیک سیلیاری که نوعی عامل برای حفظ بقا نورون‌ها و الیگودندروسیت‌ها محسوب می‌شود در پاسخ به مصرف کاپریزون کاهش قابل توجهی پیدا می‌کند و لذا کاهش جمعیت سلول‌های میلین‌ساز می‌تواند در نتیجه کاهش بیان این عوامل رشد بوجود آید (۲٦). در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فیستین میانگین درصد سلول‌های بیان‌کننده‌ی مارکر Mbp نسبت به گروه کاپریزون بالاتر می‌باشد. در توجیه این مسأله می‌توان گفت که فیستین از طریق فعالیت‌های نوروپروتکتیوی و اثرات آنتی‌اکسیدانی بقاء و تمایز سلول‌های الیگودندروسیتی را افزایش می‌دهد. فیستین در تنظیم مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با فاکتورهای نوروتروفیکی نقشی کلیدی را بازی می‌کند. این ماده با کاهش فعالیت ماکروفاژها، می‌تواند فاگوسیتوز میلین را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند (۹). در راستای نتایج مطالعه‌ی حاضر، Khatoon و همکاران در سال ۲۰۲۳ اثبات کردند که فیستین با افزایش بیان فاکتور نوروتروفیکی مشتق از مغز قادر است باعث بهبود اختلالات عصبی شود (۲٦).

فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات گیاهی هستند که به دلیل اثرات نوروتروفیک، ضدسرطان، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی به طور منظم در رژیم‌های غذایی استفاده می‌شوند (٤). مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که مصرف زیاد فلاونوئیدهای رژیمی می‌تولند خطر بیماری عروق کرونر قلب، سرطان، سکته مغزی، بیماری‌های تخریب‌کننده‌ی میلین و سایر بیماری‌های مزمن التهابی را کاهش دهد (۲۱-۱٦).

فیستین، فعال‌ترین فلاونوئیدهایی است که دارای اثرات بالقوه محافظت‌کننده‌ی عصبی و ضد التهابی می‌باشد. در مجموع، استفاده از فیستین به عنوان یک فلاوونوئید طبیعی می‌تواند نقشی مهم در پیشگیری از تخریب بافت میلین و ایجاد مشکلات حسی- حرکتی در افراد مستعد به بیماری‌های نورودجنریتیو داشته باشد. این مهم از طریق کاهش سطح سرمی فاکتورهای التهابی نظیر IFN-γ و افزایش جمعیت سلول‌های بیان‌کننده‌ی فاکتور Mbp که در مطالعه‌ی حاضر اثبات شد امکان‌پذیر خواهد بود.

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که کاپریزون با افزایش سطح سرمی فاکتور التهابی اینترفرون گاما، قادر است باعث افزایش مرگ سلول‌های نوروگلیای بیان‌کننده‌ی فاکتور Mbp شود. همچنین فیستین به عنوان نوعی فلاونوئید احتمالاً با اعمال اثرات ضدالتهابی و محافظت‌کنندگی نورونی نقشی مهم در محافظت از سلول‌های نوروگلیا داشته باشد و اثرات مخرب عوامل التهابی را کاهش می‌دهد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دانشجویی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳٤۰۳۲۲۲ مصوب معاونت محترم دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد که نویسندگان از مسؤولین محترم دانشگاه کمال تشکر را دارند.

## References


1. Zirngibl M, Assinck P, Sizov A, Caprariello AV, Plemel JR. Oligodendrocyte death and myelin loss in the cuprizone model: an updated overview of the intrinsic and extrinsic causes of cuprizone demyelination. Mol Neurodegener 2022; 17(1): 34.
2. Avşar T, Erdem GC, Terzioğlu G, Turanli ET. Investigation of neuro-inflammatory parameters in a cuprizone induced mouse model of multiple sclerosis. Turk J Biol 2021; 45(5): 644-55.
3. Razavi S, Nazem G, Mardani M, Esfandiari E, Salehi H, Zarkesh Esfahani SH. Neurotrophic factors and their effects in the treatment of multiple sclerosis. Adv Biomed Res 2015; 4: 53.
4. Imran M, Saeed F, Gilani SA, Shariati MA, Imran A, Afzaal M, et al. Fisetin: An anticancer perspective. Food Sci Nutr 2021; 9(1): 3-16.
5. Elsallabi O, Patruno A, Pesce M, Cataldi A, Carradori S, Gallorini M. Fisetin as a senotherapeutic agent: biopharmaceutical properties and crosstalk between cell senescence and neuroprotection. Molecules 2022; 27(3): 738.
6. Zhang S, Xue R, Geng Y, Wang H, Li W. Fisetin prevents HT22 cells from high glucose-induced neurotoxicity via PI3K/Akt/CREB signaling pathway. Front Neurosci 2020; 14: 241.
7. Yousefzadeh MJ, Zhu YI, McGowan SJ, Angelini L, Fuhrmann-Stroissnigg H, Xu M, et al. Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan. EBioMedicine 2018; 36: 18-28.
8. Blagosklonny MV. Anti-aging: Senolytics or gerostatics (unconventional view). Oncotarget 2021; 12(18): 1821-35.
9. Hassan SS, Samanta S, Dash R, Karpiński TM, Habibi E, Sadiq A, et al. The neuroprotective effects of fisetin, a natural flavonoid in neurodegenerative diseases: Focus on the role of oxidative stress. Front Pharmacol 2022; 13: 1015835.
10. Ghosouri S, Soleimani M, Bakhtiari M, Ghasemi N. Evaluation of in vivo lithium chloride effects as a GSK3-β inhibitor on human adipose derived stem cells differentiation into oligodendrocytes and re-myelination in an animal model of multiple sclerosis. Mol Biol Rep 2023; 50(2): 1617-25.
11. Ghosouri S, Bakhtiari M, Mitra S, Ghasemi N. Valproic acid effects on human adipose-derived stem cell differentiation into oligodendrocytes and improved remyelination in a mouse model of Multiple Sclerosis. Int J Dev Biol 2023; 67(3): 101-8.
12. Bakhtiari M, Ghasemi N, Salehi H, Amirpour N, Kazemi M, Mardani M. Evaluation of Edaravone effects on the differentiation of human adipose derived stem cells into oligodendrocyte cells in multiple sclerosis disease in rats. Life Sci 2021; 282: 119812.
13. Mardani M, Ganji R, Ghasemi N, Kazemi M, Razavi S. Impact of intraventricular human adipose-derived stem cells transplantation with pregnenolone treatment on remyelination of corpus callosum in a rat model of multiple sclerosis. Cell J 2022; 24(12): 748-56.
14. Ghasemi N, Razavi S, Nikzad E. Multiple sclerosis: pathogenesis, symptoms, diagnoses and cell-based therapy. Cell J 2017; 19(1):1-10.
15. Gao X, Gillig TA, Ye P, D'Ercole AJ, Matsushima GK, Popko B. Interferon-γ protects against cuprizone-induced demyelination. Mol Cell Neurosci 2000; 16(4): 338-49.
16. Jiang Y, Tang X, Deng P, Jiang C, He Y, Hao D, et al. The Neuroprotective Role of Fisetin in Different Neurological Diseases: A Systematic Review. Mol Neurobiol 2023; 60(11): 6383-94.
17. Rauf A, Abu-Izneid T, Imran M, Hemeg HA, Bashir K, Aljohani AS, et al. Therapeutic potential and molecular mechanisms of the multitargeted flavonoid fisetin. Curr Top Med Chem 2023; 23(21): 2075-96.
18. Zhou C, Huang Y, Nie S, Zhou S, Gao X, Chen G. Biological effects and mechanisms of fisetin in cancer: a promising anti-cancer agent. Eur J Med Res 2023; 28(1): 297.
19. Prem PN, Sivakumar B, Boovarahan SR, Kurian GA. Recent advances in potential of Fisetin in the management of myocardial ischemia-reperfusion injury–A systematic review. Phytomedicine 2022; 101: 154123.
20. Qnais E, Alqudah A, Bseiso Y, Gammoh O, Wedyan M, Alotaibi B. Exploring the therapeutic potential of fisetin: a comprehensive study on its anti-nociceptive and anti-inflammatory effects. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2023; 27(21): 10773-84.
21. Pal HC, Pearlman RL, Afaq F. Fisetin and its role in chronic diseases. Adv Exp Med Biol 2016; 928: 213-44.
22. Digehsara SG, Name N, Sartipnia N, Karim E, Taheri S, Ebrahimi MT, et al. Analysis of inflammasomes and CYP27B1 genes in cuprizone demyelinated C57BL/6 mice and evaluation of Th1 and Th2 patterns after oral administration of Lactobacillus casei strain T2 (IBRC-M10783). Microb Pathog 2021; 155: 104931.
23. Sun Y, Qin H, Zhang H, Feng X, Yang L, Hou DX, et al. Fisetin inhibits inflammation and induces autophagy by mediating PI3K/AKT/mTOR signaling in LPS-induced RAW264. 7 cells. Food Nutr Res 2021; 65.
24. Gelderblom M, Leypoldt F, Lewerenz J, Birkenmayer G, Orozco D, Ludewig P, et al. The flavonoid fisetin attenuates postischemic immune cell infiltration, activation and infarct size after transient cerebral middle artery occlusion in mice. J Cereb Blood Flow Metab 2012; 32(5): 835-43.
25. Kim SC, Kang SH, Jeong SJ, Kim SH, Ko HS, Kim SH. Inhibition of c-Jun N-terminal kinase and nuclear factor κ B pathways mediates fisetin-exerted anti-inflammatory activity in lipopolysccharide-treated RAW264. 7 cells. Immunopharmacol Immunotoxicol 2012; 34(4): 645-50.
26. Khatoon S, Samim M, Dahalia M. Fisetin provides neuroprotection in pentylenetetrazole-induced cognition impairment by upregulating CREB/BDNF. Eur J Pharmacol 2023; 944: 175583.

DOI: *10.48305/jims.v43.i802.0046*

**Journal of Isfahan Medical School** **Vol. 43, No. 802, 2nd Week, April 2025**

Received: 14.12.2024 Accepted: 16.02.2025 Published: 03.04.2025

# Investigation of the Protective and Anti-Inflammatory Effects of Fisetin on Serum Levels of Interferon- Gamma and Myelin Basic Protein Expressing Cells Survival in the Mouse Brain Following Cuprisone Gavage

Armina Bahador [1], Ebrahim Esfandiari [2], Nazem Ghasemi [3]

**Original Article**

## Abstract

**Background:** External toxic agents with nuclear antigens similar to myelin basic proteins can activate immune cells and destroy the myelin sheath. Fisetin is vital in preventing nerve damage because of its neuroprotective effects. In the present study, the effects of fisetin were investigated on the interferon-gamma (IFN-γ) serum levels and prevention of Mbp-expressing cell death in the mouse brain.

**Methods:** 20 C57BL/6 mice were divided into five groups: control, sham, cuprizone, fisetin, and cuprizone/fisetin. Cuprizone was used to induce the death of MBP-positive cells. At the end of the study, the serum level of Interferon-gamma was determined by ELISA, and the average percentage of Mbp-positive cells was determined by immunohistochemistry technique. Finally, the data were analyzed using the One-Way ANOVA test

**Findings:** The mean expression of the inflammatory factor Interferon-gamma in the fisetin-receiving group was significantly reduced compared to the cuprizone group ($P \leq 0.001$). Also, following the use of cuprizone, the mean percentage of Mbp-positive cells in the cuprizone group was significantly reduced compared to the other groups ($P \leq 0.05$).

**Conclusion:** Cuprizone can increase the death of neuroglial cells expressing the Mbp factor by raising serum levels of the inflammatory factor Interferon-gamma. The results of this study indicate that fisetin, as a type of flavonoid, can play a crucial role in protecting neuroglial cells by exerting anti-inflammatory and neuroprotective effects and reducing the destructive effects of inflammatory factors on nervous tissue.

**Keywords:** Fisetin; Interferon gamma; Mbp protein; Myelin; Oligodendrocyte

**Citation:** Bahador A, Esfandiari E, Ghasemi N. **Investigation of the Protective and Anti-Inflammatory Effects of Fisetin on Serum Levels of Interferon- Gamma and Myelin Basic Protein Expressing Cells Survival in the Mouse Brain Following Cuprisone Gavage.** J Isfahan Med Sch 2025; 43(802): 46-52.

1- MSc Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
**Corresponding Author:** Nazem Ghasemi, Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: n_ghasemi@med.mui.ac.ir