DOI: 10.48305/jims.v43.i843.1706

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و سوم/شماره‌ی ۸۴۳/هفته‌ی سوم بهمن ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۰۴ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۵ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۱۱/۲۳

بررسی اثرات فیستین بر سطح سرمی فاکتورهای اینترلوکین ۲ و ۱۰ و پیشگیری از تخریب بافت میلین القا شده با کاپریزون

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

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری‌های نورودژنراتیو از شایع‌ترین بیماری‌های التهابی هستند که با ایجاد اختلال در عملکرد سیستم عصبی، ناتوانی‌های فیزیکی زیادی را بوجود می آورند. فیستین، به عنوان یک فلاونوئید، نقش مهمی در پیشگیری از آسیب عصبی دارد. در این مطالعه، اثرات فیستین بر سطح سرمی فاکتورهای اینترلوکین- ۲ و ۱۰ و پیشگیری از تخریب بافت میلین القا شده با کاپریزون مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: ۲۰ عدد موش سوری C57BL/6 به طور تصادفی در گروه‌های کنترل، شم، کاپریزون، فیستین و کاپریزون-فیستین قرار گرفتند. کاپریزون با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه برای القای دمیلیناسیون استفاده شد. بعلاوه فیستین در گروه‌های تحت تیمار با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بصورت داخل صفاقی تزریق شد. نهایتاً رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای بررسی میلین و روش ELISA برای ارزیابی سطح سرمی اینترلوکین- ۲ و ۱۰ استفاده شد. آنالیز آماری با استفاده از روش One Way ANOVA انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میانگین سطح سرمی اینترلوکین ۲ در گروه کاپریزون نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری داشت ($P \leq ۰/۰۱$). همچنین میانگین تراکم میلین ($P \leq ۰/۰۰۱$) و سطح سرمی اینترلوکین- ۱۰ در گروه فیستین ($P \leq ۰/۰۱$) و در گروه کاپریزون- فیستین ($P \leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کاپریزون افزایش معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: کاپریزون با اثرات التهابی خود می‌تواند باعث مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی و تخریب بافت میلین شود. از طرفی دیگر، فیستین با اعمال اثرات ضد التهابی و محافظت کنندگی نورونی قادر است از مرگ سلول‌های سازنده‌ی میلین پیشگیری کند و با کاهش اثرات مخرب التهابی توانایی حفظ تراکم میلین را دارد.

واژگان کلیدی: فیستین؛ غلاف میلین؛ اینترلوکین- ۲؛ اینترلوکین- ۱۰

ارجاع: بهادر آرمینا، اسفندیاری ابراهیم، قاسمی ناظم. **بررسی اثرات فیستین بر سطح سرمی فاکتورهای اینترلوکین- ۲ و ۱۰ و پیشگیری از تخریب بافت میلین القا شده با کاپریزون.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۴۳): ۱۷۰۶-۱۷۱۳.

مقدمه

بیماری‌های نورودژنراتیو، یکی از علل ا صلی ناتوانی و مرگ و میر در جهان هستند. این بیماری‌ها عمدتاً با تخریب تدریجی سلول‌های ع صبی، دژنرا سیون آک سونی و دمیلینه شدن، منجر به آتروفی مغز و اختلالات عملکردی مغز می شوند (۱). در میان عوامل متعددی که در بروز این شرایط پاتولوژیک دخالت دارند، نقش عوامل ایمونولوژیکی از همه مهم‌تر است. در مطالعات مختلف گزارش شده است که تهاجم سلول‌های ایمنی به آکسون‌های میلین‌دار منجر به اختلال در ساختار و عملکرد بافت ع صبی می شود (۵-۲). عواملی با آنتی‌ژن‌های هسته‌ای مشابه با پروتئین بازی میلین و گلیکوپروتئین های مرتبط با بافت میلین می‌توانند سلول‌های ایمنی را فعال کرده و در نتیجه به غلاف میلین آ سیب بر سانند. این عوامل شامل عوامل ویرو سی و باکتریایی (ویروس اپشتین بار، ویروس هرپس انسانی نوع ۶ و مایکوپلاسما پنومونیا (۶) سیگار کشیدن (۷)، کمبود ویتامین‌ها بویژه ویتامین D (۸)، رژیم‌های غذایی ناسالم (۹) و قرار گرفتن در معرض اشعه‌ی ماوراء بنفش (۱۰) می‌باشند. به دنبال ایجاد این شرایط غیرطبیعی و به دلیل مرگ الیگودندرو سیت‌ها و تخریب میلین، بیماران علائم متعددی مانند اختلالات بینایی، مشکلات حسی و حرکتی، عدم تعادل و

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

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

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

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

Email: n_ghasemi@med.mui.ac.ir

اختلالات روده/مثانه/جنسی/شناختی را تجربه می‌کنند (۱۱). اخیراً، استفاده از مدل‌های حیوانی برای بررسی نقش عوامل محیطی در مرگ سلول‌های عصبی و تخریب میلین توجه محققان را به خود جلب کرده است. کاپریزون یا اسید اگزالیک بیس، یک عامل شلاته کننده‌ی مس است که باعث تخریب غلاف میلین می‌شود. تخریب میلین که توسط کاپریزون ایجاد می‌شود، یک مدل ساده برای مطالعه‌ی پاسخ‌های التهابی ذاتی مغز و مطالعه‌ی فرایندهای مرگ، دمیلیناسیون و رمیلیناسیون الیگودندروسیت‌ها می‌باشد. مکانیسم دقیق مرگ الیگودندروسیت‌ها به طور کامل شناخته نشده است، اما این ترکیب با اختلال در عملکرد آنزیم‌های میتوکندری و ایجاد استرس متابولیک می‌تواند منجر به مرگ سلول‌های الیگودندروسیت شود (۱۲). به طور معمول، از نشانگرهای سطحی خاص بافت میلین برای بررسی تراکم این بافت استفاده می‌شود. پروتئین بازی میلین از جمله پروتئین‌های خاصی می‌باشد که در فرایند میلین‌سازی آکسونی نقش مهمی بر عهده دارد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که استفاده از کاپریزون درصد سلول‌های T بالغ، سلول‌های T تنظیمی، سلول‌های T کمکی و سلول‌های B بالغ را در طول فرایند تخریب میلین افزایش می‌دهد و این اثرات منفی را می‌توان با حذف کاپریزون از رژیم غذایی کاهش داد (۱۳). تجزیه و تحلیل سیتوکین‌ها نشان می‌دهد که سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی به عنوان پاسخ اولیه به درمان کاپریزون در طول دوره‌ی دمیلین‌سازی افزایش می‌یابد (۱۳). برخی از ترکیبات گیاهی با اثرات محافظت‌کننده‌ی عصبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوز قادر به کاهش اثرات سمی ناشی از پاتوژن‌های محیطی هستند (۱۴).

فلاونوئیدها گروهی از رنگدانه‌های گیاهی هستند که به دلیل نقش‌های متعددشان به طور منظم در رژیم‌های غذایی استفاده می‌شوند (۱۵). در مطالعات متعدد، اثرات درمانی فلاونوئیدها، از جمله اثرات نوروتروفیک، ضد سرطان، ضد التهاب و آنتی‌اکسیدانی آنها، مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از انواع فلاونوئید که اخیراً توجه ویژه محققان را به خود جلب کرده است، ترکیب فیستین است. این ترکیب به وفور در میوه‌ها و سبزیجات مختلف یافت می شود. فیستین، یکی از رایج‌ترین و فعال‌ترین فلاونوئیدها است که دارای اثرات محافظت عصبی و ضد التهابی بالقوه است (۱۶، ۱۷). مطالعات مختلف گزارش داده‌اند که فیستین یادگیری و حافظه را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، مرگ سلولی مرتبط با پیری عصبی را کاهش می‌دهد و همچنین استرس اکسیداتیو را سرکوب می‌کند (۱۶، ۱۷). فیستین، به عنوان قوی‌ترین سنولیتیک، سلول‌های پیر را هدف قرار می‌دهد و با از بین بردن آنها، نقش مهمی در جلوگیری از روند پیری ایفا می‌کند. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که استفاده از فیستین در موش‌های پیر منجر به کاهش نشانگرهای پیری در بافت‌های مختلف می‌شود (۱۸، ۱۹).

فیستین، با فعالیت ضد التهابی قوی خود، قادر است با مهار بیان آنزیم‌های سیکلواکسیژناز، پروستاگلاندین و لکوترین، از التهاب مزمن جلوگیری کند. علاوه بر این، فیستین نقش مهمی در تنظیم مسیرهای سیگنالینگ ناشی از فاکتور نوروتروفیک ایفا می‌کند. علاوه بر این، به عنوان یک ترکیب محافظت کننده عصبی عمل می‌کند و از مرگ سلولی جلوگیری می‌کند. همچنین می‌تواند با کاهش فعالیت ماکروفاژها، فاگوسیتوز میلین را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند (۲۰). بر اساس داده‌های فوق، فرض بر این است که تجویز فیستین احتمالا می تواند از تخریب بافت میلین جلوگیری کند، بنابراین در مطالعه‌ی حاضر، اثرات فیستین بر سطح سرمی فاکتورهای التهابی و ضد التهابی و پیشگیری از تخریب بافت میلین القا شده با کاپریزون مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

گروه‌بندی

برای انجام این مطالعه‌ی تجربی در سال ۱۴۰۳ تعداد ۲۰ عدد موش سوری نژاد C57BL/6 تهیه شد و در دانشکده‌ی پزشکی اصفهان تحت شرایط استاندارد و طبق قوانین کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با کد اخلاق (IR.MUI.AEC.1403.027) نگهداری شد. موش‌ها به طور تصادفی در پنج گروه ۴تایی شامل گروه‌های کنترل (دسترسی آزاد به غذا بدون هیچگونه مداخله‌ی دیگری)، شم (دسترسی آزاد به غذا و گاواژ روزانه ۲۰۰ میکرولیتر روغن ذرت و تزریق روزانه ۲۰۰ میکرولیتر نرمال‌سالین)، کاپریزون (دسترسی آزاد به غذا و گاواژ روزانه کاپریزون)، فیستین (دسترسی آزاد به غذا و تزریق روزانه فیستین) و کاپریزون/فیستین (دسترسی آزاد به غذا و گاواژ کاپریزون و تزریق فیستین) تقسیم شدند. در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی کاپریزون، ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از ترکیب کاپریزون محلول در روغن ذرت به مدت ۵ هفته استفاده شد. بعلاوه در گروه‌های تحت درمان، فیستین به میزان ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت داخل صفاقی به مدت ۵ هفته استفاده شد.

تکنیک ایمونوهیستوشیمی

به منظور بررسی تراکم بافت میلین از روش ایمونوهیستوشیمی در پایان مطالعه استفاده شد (۲۳-۲۱). بعد از ایجاد بیهوشی عمیق که با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین ایجاد شد به کمک روش پرفیوژن قلبی و با استفاده از PBS سرد و پارافرمالدهید ۴ درصد سرد، مغز موش‌ها فیکس گردید (۱۳-۱۰). بعد از انجام کرانیوتومی کل مغز از جمجمه خارج شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه درون پارافرمالدئید ۴ درصد مجدداً فیکس گردید. در پایان، مقاطع سریال با ضخامت پنج میکرومتر از مغز موش‌ها تهیه

شد. بعد از پارافین‌زدایی و بازیابی آنتی‌ژن‌ها با کمک بافر سیترات سدیم تکنیک ایمونوهیستوشیمی انجام شد. در این روش از آنتی‌بادی اولیه (1:1000; Abcam, ab7349) rat anti-Mbp (Cambridge, MA, USA) و آنتی‌بادی ثانویه متصل به فلوئورسنس (1:500, Abcam, ab6840 Cambridge, MA, USA) goat anti-rat secondary antibody FITC)، استفاده شد و به منظور تعیین میانگین تراکم میلین پنج فیلد در هر گروه به شکل تصادفی انتخاب شد و با استفاده از نرم‌افزار Image j مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که بررسی‌های ایمونوهیستوشیمی در هر گروه سه بار تکرار گردید.

تکنیک ELISA و بررسی سطح سرمی اینترلوکین‌های ۲ و ۱۰

بررسی سطح سرمی اینترلوکین‌های ۲ و ۱۰ با استفاده از روش الیزا مورد بررسی قرار گرفت. قبل از انجام پرفیوژن قلب مقدار ۱ سی‌سی خون از دهلیز راست قلب گرفته شد و بعد از سانتریفوژ خون، سرم جمع‌آوری گردید و مراحل انجام الیزا مطابق با روش ارایه شده توسط شرکت سازنده‌ی کیت خریداری شده انجام شد. بطور خلاصه میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد در همه‌ی چاهک‌ها اضافه شد و در چاهک بلانک محلول استانداردی اضافه نگردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم خون به چاهک‌ها اضافه شد و ۵۰ دقیقه در دمای اتاق، بر روی یک شیکر با دور ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. بعد از آسپیره کردن محلول موجود در چاهک‌ها شستشوی چاهک‌ها سه دفعه انجام گرفت. در ادامه ۵۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی کونزوگه بر علیه اینترلوکین‌های ۲ و ۱۰ به هر چاهک (بجز چاهک بلانک) اضافه شد و بعد از پو شاندن با سیلر پلیت به مدت ۵۰ دقیقه در دمای اتاق، بر روی یک شیکر با دور ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. بعد از انجام فرآیند آسپیراسیون/شستشو، 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 ۵ بار تکرار شد. 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 انتها 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.

به منظور تجزیه و تحلیل و مقایسه داده ها از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ (Version:25) version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون آنالیز واریانس (One way ANOVA) و تست تعقیبی Tukey استفاده گردید. مقدار $P \leq ۰/۰۵$ به عنوان اختلاف میانگین داده‌ها از لحاظ آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج بررسی تراکم میلین با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی

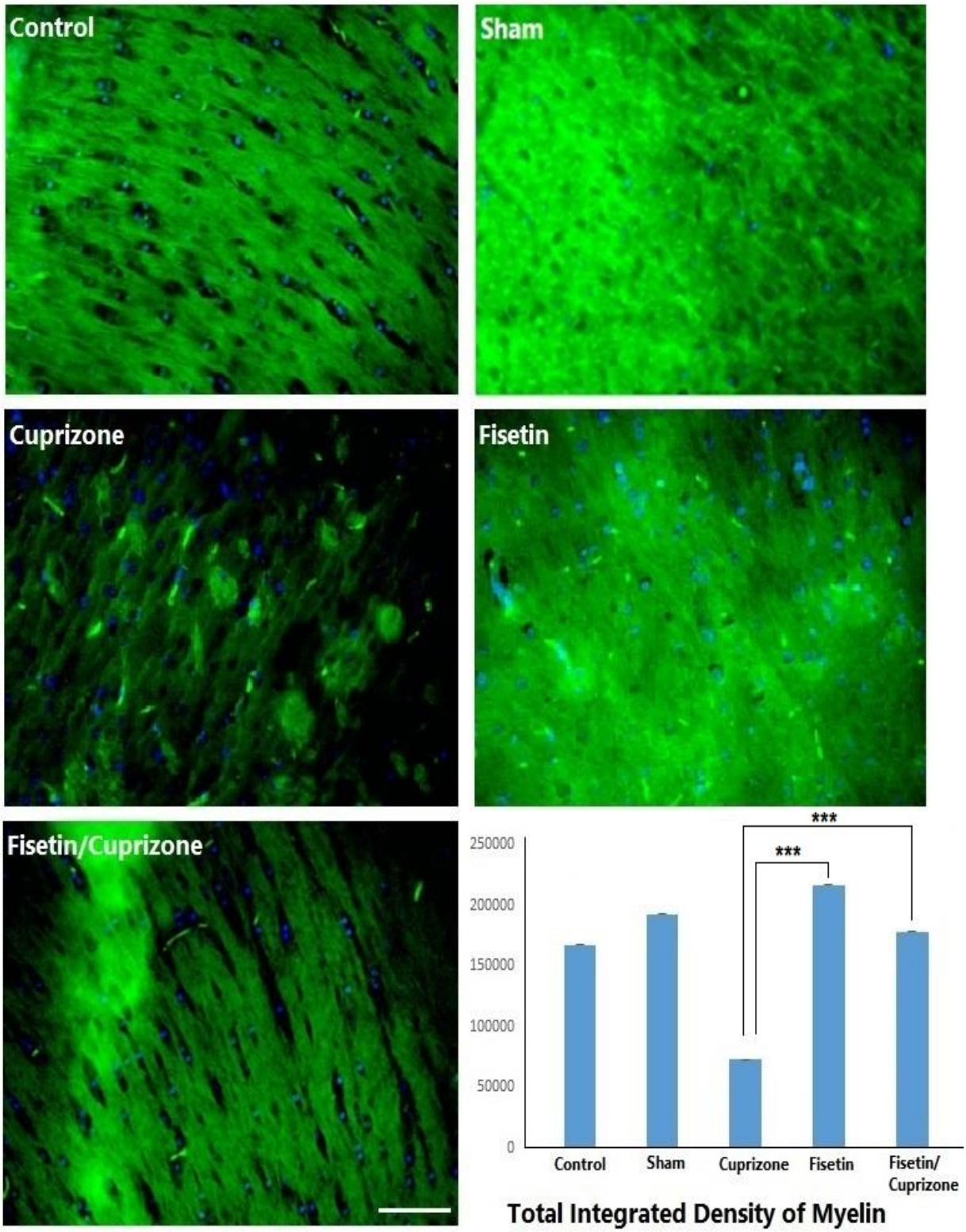
بعد از انجام تکنیک ایمونوهیستوشیمی، نواحی میلینه به دلیل استفاده از آنتی‌بادی کونژوکه شده با FITC به رنگ سبز نمایان شد. نتایج نشان داد که میانگین تراکم میلین در ناحیه‌ی جسم پینه‌ای مقاطع مغزی، در گروه‌های تحت تیمار با فیستین نسبت به گروه کاپریزون بصورت معنی‌داری بالاتر بود ($P \leq ۰/۰۱$) اما در مقایسه با گروه‌های شم و کاپریزون تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱).

نتایج بررسی سطح سرمی اینترلوکین‌های ۲ و ۱۰ با استفاده از تکنیک ELISA

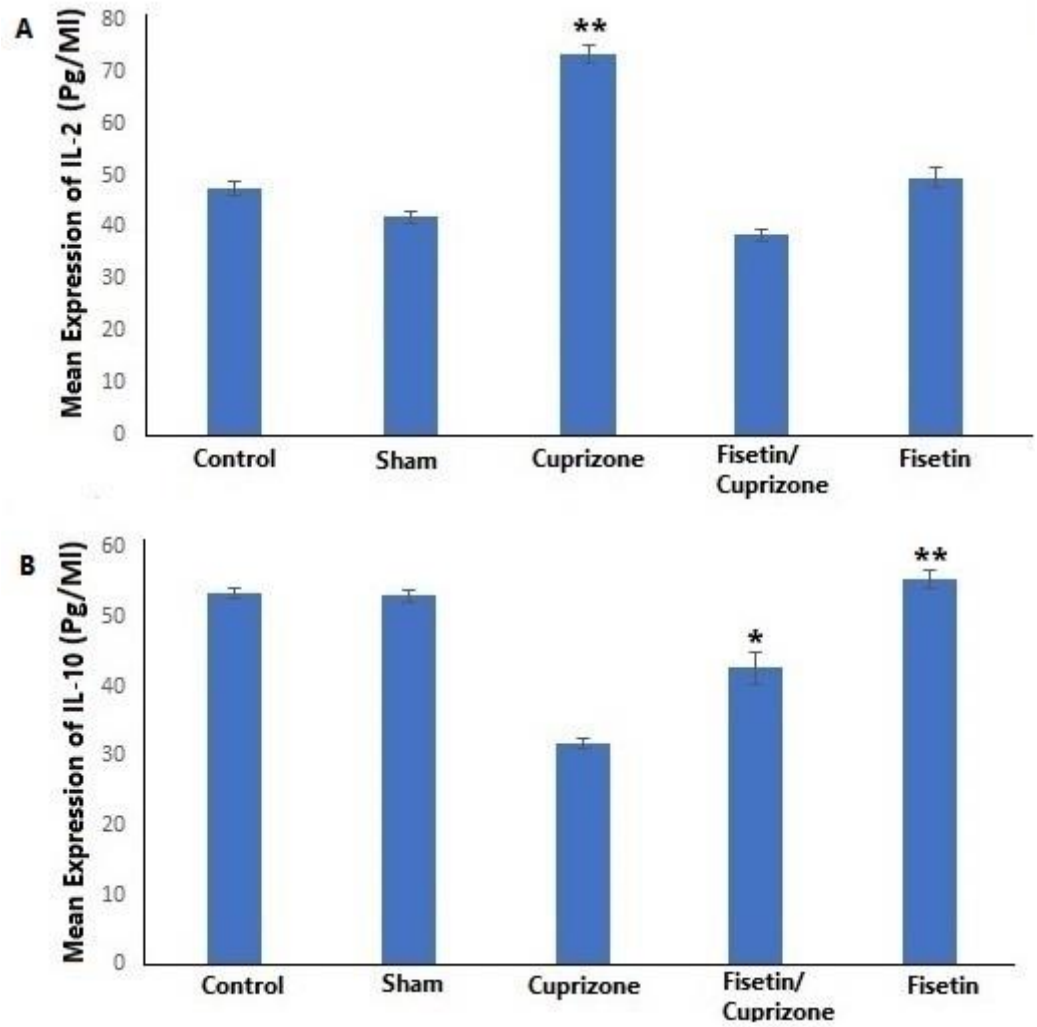
نتایج نشان داد که میانگین بیان فاکتور پیش‌التهابی اینترلوکین- ۲ در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون نسبت به سایر گروه‌ها به شکل معنی‌داری افزایش یافته است ($P \leq ۰/۰۱$). همچنین در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فیستین، سطح سرمی فاکتور ضدالتهابی اینترلوکین- ۱۰ در مقایسه با گروه کاپریزون بصورت معنی‌داری افزایش یافته است که بیشترین افزایش را می‌توان در گروه فیستین مشاهده کرد ($P \leq ۰/۰۰۱$) (شکل ۲).

بحث

یکی از علل اصلی ناتوانی و مرگ و میر در جهان ابتلا به بیماری‌های نورودجنریتیو می‌باشد. این بیماری‌ها تقریباً ۱۵ درصد از کل جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار داده‌اند و لذا تحقیقات زیادی در زمینه‌ی درمان این بیماری‌ها در حال انجام است (۲۴، ۲۵). این وضعیت پاتولوژیک عمدتاً به دلیل تخریب تدریجی بافت عصبی پس از قرار گرفتن در معرض عوامل سمی، پاتوژن‌ها و عوامل التهابی رخ می‌دهد (۲۵). التهاب، نه تنها نقش مهمی در دفاع میزبان در برابر میکروارگانیسم‌های مهاجم دارد، بلکه در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های نورودژنراتیو نیز جایگاه مهمی دارد. آسیب به بافت عصبی ناشی از مرگ سلول‌های عصبی و گلیال از جمله تغییرات پاتولوژیک مهمی است که پس از التهاب رخ می‌دهد. سیتوکین‌های پیش‌التهابی، نقش مهمی در شروع این وضعیت بر عهده دارند. سیتوکین‌ها، دسته‌ی بزرگی از پروتئین‌های کوچک هستند که مستقیماً با تداخل در سیگنالینگ سلولی، تنظیم پاسخ میزبان به عفونت، پاسخ های ایمنی، التهاب و ترو ما را تنظیم می‌کنند. سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین- ۲ التهاب را تحریک یا تشدید می‌کنند. ثابت شده است که پس از استفاده از کاپریزون، عوامل التهابی مانند اینترفرون گاما، اینترلوکین‌های- ۱ آلفا و ۲ به طور قابل توجهی افزایش می‌یابند (۱۳).



شکل ۱. بررسی میانگین تراکم میلین با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی. میانگین تراکم میلین (نواحی سبز رنگ) در گروه‌های تحت تیمار با فیستین نسبت به گروه کاپریزون بصورت معنی‌داری بالاتر می‌باشد (P ≤ ۰/۰۰۱ ***). هسته‌ی سلول‌ها به رنگ آبی (DAPI) مشاهده می‌شود. Scale bar = ۱۰۰ µm



شکل ۲. نتایج تکنیک ELISA و بررسی سطح سرمی اینترلوکین‌های- ۲ و ۱۰. میانگین سطح سرمی فاکتور اینترلوکین- ۲ در گروه دریافت‌کننده‌ی کاپریزون و میانگین سطح سرمی فاکتور اینترلوکین- ۱۰ در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی فیستین به شکل معنی‌داری افزایش یافته است (*: بیانگر ۰/۰۵ > P و **: بیانگر ۰/۰۱ > P در مقایسه با گروه کاپریزون می‌باشد).

در آزمایش‌های مشابه، نشان داده شده است که سطح بالایی از اینترلوکین- ۲ در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس وجود دارد. بنابراین، می‌توان گفت که بین افزایش اینترلوکین- ۲ و شروع بیماری اماس رابطه‌ای وجود دارد (۲۶). درمان‌های رایج برای بیماری‌های نورودجنریتیو مبتنی بر سرکوب التهاب و تعدیل سیستم ایمنی هستند. با این حال، داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی عوارض جانبی بسیار جدی دارند و نمی‌توانند به طور کامل تخریب بافت عصبی را متوقف کنند (۸). بر اساس نتایج منتشر شده، درمان مبتنی بر استفاده از عوامل ضد التهابی و نوروتروفیک، مانند سنولیتیک‌های طبیعی، یک الگوی بالقوه جدید برای درمان بیماری‌های نورودژنراتیو ایجاد کرده است. داده‌های منتشر شده نشان می‌دهد که فیستین نوعی سنولیتیک قوی می باشد .سنولیتیک‌ها مولکول‌هایی هستند که سلول‌های پیر را هدف قرار می‌دهند و با از بین بردن آنها نقش مهمی در جلوگیری از روند پیری بر عهده دارند. نتایج مطالعه‌ای نشان داده شده است که استفاده از فیستین در موش‌های مسن منجر به کاهش نشانگرهای پیری در بافت‌های مختلف شده است (۱۹). فیستین، یکی از رایج‌ترین و فعال‌ترین فلاونوئیدها است که اثرات محافظت عصبی و ضد التهابی بالقوه‌ای دارد (۹،۱۰،۱۶). مطالعات با استفاده از تکنیک‌های ایمونولوژیکی ثابت کرده‌اند که فیستین قادر به افزایش یادگیری و حافظه، کاهش مرگ سلولی مرتبط با پیری عصبی و همچنین سرکوب استرس اکسیداتیو است (۱۶).

در مطالعه‌ی حاضر، اثرات ضد التهابی فیستین و نقش آن در جلوگیری از تخریب بافت میلین مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، فیستین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانسته است از دمیلیناسیون جلوگیری کند. افزایش تراکم میلین در گروه‌های دریافت‌کننده فیستین را می‌توان به حفظ بقای سلول‌های الیگودندروسیت نسبت داد. نتایج مطالعه ای در سال ۲۰۲۰ در مورد درمان بیماری پارکینسون با استفاده از فیستین نشان داد که این ترکیب می‌تواند عملکرد حرکتی را بهبود بخشد و تغییرات ناشی از روتنون در آنزیم‌های میتوکندری، سطح دوپامین، سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تغییرات بافت‌شناسی را معکوس کند.

بر اساس نتایج این مطالعه، می‌توان فرض کرد که فیستین ممکن است فعالیت آنزیم‌های میتوکندریایی را بهبود بخشد و از این طریق از پاتوژنز پارکینسون جلوگیری کرده است. علاوه بر این، مطالعه دیگری در همان سال نشان داد که فیستین می‌تواند با تعدیل استرس اکسیداتیو و عملکرد آنتی‌اکسیدانی، آپوپتوز ناشی از روتنون را خنثی کند (۲۸). همین گروه در سال ۲۰۲۲ اثربخشی فیستین را در درمان بیماری اماس ارزیابی کردند. علت اصلی بیماری اماس، تشکیل ضایعات در سیستم عصبی مرکزی و تخریب غلاف میلین می باشد که منجر به عوارض پاتولوژیک متعددی می شود. از آنجایی که فیستین می‌تواند با پروتئین‌های هدف اماس (کاسپاز ۱، کالپین ۱، کاتپسین) تداخل داشته باشد، بنابراین می‌تواند کاندیدای قوی برای درمان و کاهش علائم این بیماری باشد (۲۹). همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود، پس از گاواژ کاپریزون، سطح سرمی اینترلوکین- ۲ به طور قابل توجهی افزایش می یابد. این نتیجه با یافته‌های مطالعه‌ی Avşar و همکاران مطابقت داشت. در این مطالعه، تجزیه و تحلیل سیتوکین‌ها نشان داد که سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین- ۲ به عنوان پاسخ اولیه به درمان کاپریزون در طول دوره دمیلیناسیون به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۱۳). در توجیه این موضوع می‌توان گفت که درمان با کاپریزون منجر به افزایش پاسخ ایمنی وابسته به لنفوسیت‌های T، تحریک لنفوسیت‌های B و افزایش سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود. در مطالعه‌ی حاضر، سطح اینترلوکین- ۲ پس از تجویز فیستین کاهش پیدا کرد. علاوه بر این، سطح سرمی اینترلوکین ضدالتهابی ۱۰ نیز به طور قابل توجهی افزایش یافت. این نتایج با مطالعه‌ی Sun و همکاران در سال ۲۰۲۱ مطابقت داشت. در این مطالعه نشان داده شد که فیستین قادر است با مهار برخی از مسیرهای سیگنالینگ سلولی مانند PI3K/AKT/mTOR از بیان سیتوکین‌های التهابی جلوگیری کند (۳۰). لذا می‌توان گفت که فیستین قادر است با سرکوب التهاب از مرگ سلول‌های سازنده‌ی میلین و تخریب بافت میلین پیشگیری کند و شاید بتوان از این ترکیب در درمان بیماری‌های نورودجنریتیو بهره برد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه، می‌توان گفت که کاپریزون با افزایش سطح سرمی فاکتور التهابی اینترلوکین- ۲، قادر است باعث افزایش مرگ سلول‌های میلین‌ساز و تخریب بافت میلین شود. همچنین فیستین به عنوان نوعی فلاوونوئید با اعمال اثرات ضدالتهابی و محافظت‌کنندگی نورونی، نقشی مهم در محافظت از سلول‌های سازنده‌ی میلین دارد و اثرات مخرب عوامل التهابی را کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی علوم تشریحی با کد ۳۴۰۳۲۲۲ می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسیده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Teleanu DM, Niculescu AG, Lungu II, Radu CI, Vladâcenco O, Roza E, Costăchescu B, Grumezescu AM, Teleanu RI. An overview of oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegenerative diseases. Int J Mol Sci 2022; 23(11): 5938.
2. Bando Y. Roads to formation of normal myelin structure and pathological myelin structure. Adv Exp Med Biol 2019; 1190:257-264.
3. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. N Engl J Med 2000;343(13):938-52.
4. Wagner CA, Roqué PJ, Goverman JM. Pathogenic T cell cytokines in multiple sclerosis. J Exp Med 2020; 217(1): e20190460.
5. Egashira Y, Zhao H, Hua Y, Keep RF, Xi G. White matter injury after subarachnoid hemorrhage: role of blood-brain barrier disruption and matrix metalloproteinase-9. Stroke 2015; 46(10): 2909-15.
6. Asgharzadeh M, Najafi-Ghalehlou N, Poor BM, Asgharzadeh V, Pourostadi M, Vegari A, Kafil HS, Fadaee M, Farhoudi M, Rashedi J. IFN-γ and TNF-α Gene Polymorphisms in Multiple Sclerosis Patients in Northwest Iran. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 2021; 21(3): 520-525.
7. O'Gorman C, Bukhari W, Todd A, Freeman S, Broadley SA. Smoking increases the risk of multiple sclerosis in Queensland, Australia. J Clin Neurosci 2014; 21(10): 1730-3.

8. Speer G. Impact of vitamin D in neurological diseases and neurorehabilitation: from dementia to multiple sclerosis. Part I: the role of vitamin D in the prevention and treatment of multiple sclerosis. Ideggyogy Sz 2013; 66(9-10): 293-303
9. Bäärnhielm M, Olsson T, Alfredsson L. Fatty fish intake is associated with decreased occurrence of multiple sclerosis. Mult Scler 2014; 20(6): 726-32.
10. Sloka S, Silva C, Pryse-Phillips W, Patten S, Metz L, Yong VW. A quantitative analysis of suspected environmental causes of MS. Can J Neurol Sci 2011; 38(1): 98-105.
11. Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Brück W, Rauschka H, Bergmann M, Schmidbauer M, Parisi JE, Lassmann H. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. Brain 2005; 128(Pt 11): 2705-12.
12. 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.
13. Avşar T, Çelikyapi Erdem G, Terzioğlu G, Tahir Turanli E. Investigation of neuro-inflammatory parameters in a cuprizone induced mouse model of multiple sclerosis. Turk J Biol 2021; 45(5): 644-55.
14. Razavi S, Nazem G, Mardani M, Esfandiari E, Salehi H, Esfahani SH. Neurotrophic factors and their effects in the treatment of multiple sclerosis. Adv Biomed Res 2015; 4: 53.
15. Imran M, Saeed F, Gilani SA, Shariati MA, Imran A, Afzaal M, Atif M, Tufail T, Anjum FM. Fisetin: An anticancer perspective. Food Sci Nutr 2020; 9(1): 3-16.
16. 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.
17. 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.
18. Yousefzadeh MJ, Zhu Y, 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.
19. Blagosklonny MV. Anti-aging: senolytics or gerostatics (unconventional view). Oncotarget 2021; 12(18): 1821-35.
20. Hassan SSU, Samanta S, Dash R, Karpiński TM, Habibi E, Sadiq A, Ahmadi A, Bunagu S. The neuroprotective effects of fisetin, a natural flavonoid in neurodegenerative diseases: Focus on the role of oxidative stress. Front Pharmacol 2022; 13: 1015835.
21. 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
22. 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.
23. 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.
24. Van Schependom J, D'haeseleer M. Advances in Neurodegenerative Diseases. J Clin Med 2023; 12(5): 1709.
25. Ghasemi N, Razavi S, Nikzad E. Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy. Cell J 2017; 19(1): 1-10.
26. Grunwald C, Krętowska-Grunwald A, Adamska-Patruno E, Kochanowicz J, Kułakowska A, Chorąży M. The Role of Selected Interleukins in the Development and Progression of Multiple Sclerosis-A Systematic Review. Int J Mol Sci 2024; 25(5): 2589.
27. Alikatte K, Palle S, Rajendra Kumar J, Pathakala N. Fisetin Improved Rotenone-Induced Behavioral Deficits, Oxidative Changes, and Mitochondrial Dysfunctions in Rat Model of Parkinson's Disease. J Diet Suppl 2021; 18(1): 57-71.
28. Rajendran M, Ramachandran R. Fisetin protects against rotenone-induced neurotoxicity through signaling pathway. Front Biosci (Elite Ed) 2019; 11(1): 20-8.
29. Malathi R, Dsouza V, Rithika R, Sneha P. Molecular Docking of Fisetin as a Multi-target drug in the treatment of Multiple Sclerosis. J Stress Physiol Biochem 2022; 18(4): 41-7.
30. Sun Y, Qin H, Zhang H, Feng X, Yang L, Hou DX, Chen J. Fisetin inhibits inflammation and induces autophagy by mediating PI3K/AKT/mTOR signaling in LPS-induced RAW264.7 cells. Food Nutr Res 2021; 65.

DOI: *10.48305/jims.v43.i843.1706*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 43, No. 843, 3rd Week, February 2026**

Received: 26.10.2025 Accepted: 04.02.2026 Published: 12.02.2026

Investigation of the Effects of Fisetin on the Serum Levels of Interleukin-2 and -10 and Prevention of Cuprizone-Induced Myelin Destruction

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

Original Article

Abstract

Background: Neurodegenerative diseases are among the most common inflammatory diseases that cause significant physical disabilities by disrupting the functioning of the nervous system. Fisetin, as a flavonoid, plays an important role in preventing nerve damage. In this study, the effects of fisetin on the serum levels of interleukin-2 and -10 and the prevention of cuprizone-induced myelin destruction were investigated.

Methods: 20 C57BL/6 mice were randomly assigned to control, sham, cuprizone, fisetin, and cuprizone-fisetin groups. Cuprizone was used at a dose of 400 mg/kg daily to induce demyelination. In addition, fisetin was injected intraperitoneally at a dose of 20 mg/kg in the treated groups. Finally, immunohistochemical staining was used to examine myelin and ELISA was used to assess serum levels of interleukin-2 and -10. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA.

Findings: The results showed that the mean serum level of interleukin-2 in the cuprizone group was significantly increased compared to the other groups ($P \leq 0.01$). Furthermore, the mean myelin density ($P \leq 0.001$) and serum level of interleukin-10 in the fisetin group ($P \leq 0.01$) and in the cuprizone-fisetin group ($P \leq 0.05$) were significantly increased compared to the cuprizone group.

Conclusion: Cuprizone, with its inflammatory effects, can cause the death of oligodendrocyte cells and the destruction of myelin tissue. On the other hand, fisetin, by exerting anti-inflammatory and neuroprotective effects, can prevent the death of myelin-forming cells and maintains myelin density by reducing the destructive effects of inflammation.

Keywords: Fisetin; Myelin Sheath; Interleukin-2; Interleukin-10

Citation: Bahador A, Esfandiari E, Ghasemi N. **Investigation of the Effects of Fisetin on the Serum Levels of Interleukin-2 and -10 and Prevention of Cuprizone-Induced Myelin Destruction.** J Isfahan Med Sch 2026; 43(843): 1706-13.

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