

اثرات محافظتی الاژیک اسید بر سمیت عصبی ناشی از کادمیوم در سلول‌های PC12

آزاده امین‌زاده^۱، محسن عربی علی‌آباد^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کادمیوم یک فلز سنگین با سمیت قابل‌ملاحظه است. کادمیوم به‌طور گسترده در صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد و تأثیر مخربی در اکثر سیستم‌های بدن دارد. استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوژنز سمیت عصبی ناشی از کادمیوم دارد. الاژیک اسید یک ترکیب فنولی است که خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی الاژیک اسید بر سمیت عصبی ناشی از کادمیوم در سلول‌های PC12 بود.

روش‌ها: سلول‌های عصبی PC12 با غلظت‌های مختلف الاژیک اسید (۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار) پیش‌درمان شدند و سپس به مدت ۲۴ ساعت در معرض کادمیوم با غلظت ۱۰ میکرومولار قرار گرفتند. زنده‌مانی سلولی با استفاده از روش MTT اندازه‌گیری شد. پراکسیداسیون لیپیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) نیز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که الاژیک اسید در غلظت‌های ۱۰ ($P = 0.046$)، 7.44 ± 6.7 و ۲۰ میکرومولار ($P < 0.001$)، 5.47 ± 8.9 توانست به ترتیب ۱۶ و ۳۷/۴ درصد میزان زنده‌مانی سلول‌های PC12 را که در معرض کادمیوم قرار داشتند، افزایش دهد. الاژیک اسید به‌طور مؤثری پراکسیداسیون لیپیدی را در مقایسه با گروه کادمیوم کاهش داد (۱۰ میکرومولار: $P = 0.02$ ، 4.7 ± 12.3 ؛ ۲۰ میکرومولار: $P = 0.05$ ، 2.4 ± 11.1). علاوه بر این، الاژیک اسید از کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ناشی از سمیت کادمیوم جلوگیری کرد (۱۰ میکرومولار: $P = 0.044$ ، 0.1 ± 0.79 ؛ ۲۰ میکرومولار: $P = 0.025$ ، 0.13 ± 0.82).

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که الاژیک اسید با کاهش استرس اکسیداتیو اثر محافظتی در برابر سمیت عصبی ناشی از کادمیوم دارد. بنابراین، این نتایج اهمیت استفاده از الاژیک اسید را به عنوان یک عامل درمانی امیدوارکننده برای جلوگیری از سمیت عصبی ناشی از کادمیوم نشان داد.

واژگان کلیدی: الاژیک اسید؛ کادمیوم؛ سلول‌های PC12؛ سمیت عصبی

ارجاع: امین‌زاده آزاده، عربی علی‌آباد محسن. اثرات محافظتی الاژیک اسید بر سمیت عصبی ناشی از کادمیوم در سلول‌های PC12. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۴۶): ۱۸۸۵-۱۸۹۱.

مقدمه

این، کادمیوم در ایجاد سرطان نقش دارد و توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان به عنوان ماده سرطان‌زای انسانی دسته I طبقه‌بندی شده است (۲، ۳). تحقیقات نشان داده است که کادمیوم سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از جمله رادیکال‌های سوپراکساید، هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و اکسید نیتریک می‌شود. کادمیوم از طریق افزایش تولید ROS سبب استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی مرکزی می‌شود. استرس اکسیداتیو در نتیجه‌ی عدم تعادل بین تولید ROS از یک سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود. در شرایط نرمال؛ استرس اکسیداتیو از طریق زنجیره انتقال الکترون تولید می‌شود و به طور طبیعی بوسیله آنتی‌اکسیدان‌های سلولی مثل سوپراکساید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون برداشته

کادمیوم، یک آلاینده‌ی سمی گسترده است که به علت نیمه عمر بسیار طولانی در انسان (۲۰ تا ۳۰ سال) و میزان دفع پایین از بدن، در بافت‌های بدن تجمع می‌یابد. قرارگیری شغلی و محیطی در معرض کادمیوم از طریق صنایع متالورژی، صنعت پلاستیک، استخراج معادن، رنگدانه‌ها، تثبیت‌کننده‌های شیمیایی، پوشش‌های فلزی و تولید باتری صورت می‌گیرد. زمین‌های کشاورزی و مواد غذایی آلوده به کادمیوم منبع مهمی از مواجهه با کادمیوم هستند. کادمیوم همچنین می‌تواند در دود تنباکو یافت شود (۱، ۲). تجمع کادمیوم منجر به اثرات مضر در ارگان‌های مختلف بدن مانند کلیه، کبد، ریه، سیستم‌های عصبی، قلبی عروقی، اندام‌های تولید مثلی، پانکراس و استخوان می‌شود. علاوه بر

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، پژوهشکده‌ی نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۲- داروساز، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: آزاده امین‌زاده؛ دانشیار، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، پژوهشکده‌ی نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

Email: azadehaminzadeha98@gmail.com

روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه‌ی تجربی مورد-شاهدی می‌باشد. سلول‌های PC12 از انستیتو پاستور خریداری شده و در محیط کشت DMEM: همراه با ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS)، ۱۰٪ سرم اسبی (HS) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک (پنی سیلین + استرپتومایسین)، تحت شرایط کشت (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO₂) نگهداری شدند. به منظور تعیین غلظت انتخابی کادمیوم برای آزمایشات بعدی، سلول‌های PC12 به مدت ۲۴ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف کادمیوم (۲۰-۲/۵ میکرومولار) قرار گرفتند و غلظتی که سبب کاهش ۵۰ درصدی در زنده‌مانی سلول‌های PC12 می‌شود، تعیین شد (شکل ۱). گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از: ۱- گروه کنترل، ۲- گروه کادمیوم (با غلظت انتخابی ۱۰ میکرومولار)، گروه‌های ۳-۵ شامل گروه‌های کادمیوم به علاوه الازیک اسید با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار (انتخاب غلظت‌ها بر اساس بررسی مقالات و انجام یک مطالعه پایلوت صورت گرفت). لازم به ذکر است که در مطالعه پایلوت، از غلظت‌های مختلف الازیک اسید استفاده شد و غلظت‌هایی که زنده‌مانی سلول‌های PC12 را که در معرض کادمیوم قرار داشتند، به میزان بیشتری افزایش دادند برای این مطالعه انتخاب شدند (نتایج آن آورده نشده است).

اندازه‌گیری میزان زنده‌مانی سلولی به روش MTT

سلول‌ها پس از شمارش به تعداد ۷۰۰۰ سلول در هر چاهک به پلیت ۹۶ خنله‌ای منتقل شدند. بعد از گذراندن زمان ۲۴ ساعت، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف الازیک اسید (۵ تا ۲۰ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت پرانکوبه شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در معرض کادمیوم (۱۰ میکرومولار) قرار گرفتند. ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ درصد) به هر چاهک اضافه گردیده و پلیت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲-۴ ساعت قرار داده شد. سپس محیط داخل چاهک‌ها خالی گردیده و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به رسوب اضافه شد و در نهایت میزان جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌ریدر (Bio-Tek ELX800, WA, USA) در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی

جهت ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدی، مولکول مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی بررسی می‌شود. در این روش با ارزیابی مواد واکنش‌دهنده تیوباربتوریک‌اسید (TBARS) می‌توان آسیب وارد شده به لیپیدها را اندازه‌گیری نمود. برای این منظور سلول‌های هر گروه، در داخل فلاسک‌های کشت سلولی ۲۵ cm² بصورت جداگانه و به تعداد ۲ میلیون سلول در هر فلاسک کشت داده شدند و بعد از گذراندن زمان ۲۴ ساعت با الازیک اسید پرانکوبه شده و سپس در معرض کادمیوم

می‌شود. تولید زیاد استرس اکسیداتیو می‌تواند به پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک آسیب وارد کند و عملکرد آن‌ها را مختل نماید (۱، ۴). مطالعات نشان داده است که کادمیوم به صورت وابسته به زمان و غلظت سبب تولید ROS و آپوپتوز در سلول‌های PC12 و SHSY5Y می‌شود (۵، ۶). کادمیوم از سد خونی مغزی عبور می‌کند و در مغز تجمع پیدا می‌کند و سبب اختلال عملکرد سیستم عصبی با علائمی مانند سردرد و سرگیجه، کند شدن عملکرد وازوموتور، نوروپاتی محیطی، کاهش تعادل، ناتوانی یادگیری و اختلالات در تمرکز می‌شود. مطالعات بالینی نشان دادند که کادمیوم موجب اختلالات عصبی مانند اختلالات یادگیری، بیش‌فعالی و افزایش پرخاشگری انسان می‌شود. در کارگران در معرض کادمیوم؛ سبب اختلال عملکرد بویایی، نقص توجه، اختلال سایکوموتور و حافظه می‌شود (۷، ۸). سمیت عصبی کادمیوم به عنوان یک عامل احتمالی بیماری‌های عصبی مانند بیماری پارکینسون، بیماری آلزایمر و بیماری اسکروز جانبی آمیوتروفیک (ALS) پیشنهاد شده است (۷، ۹).

الازیک اسید یک ماده طبیعی و ترکیب فنلی است که در بسیاری از میوه‌ها، سبزیجات و بویژه در انار یافت می‌شود. گزارشات نشان داده است که الازیک اسید خواص متعدد دارویی مانند اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، آنتی‌موتازنیک و آنتی‌پرولیفراتیو دارد (۱۰). تحقیقات نشان داده است که اثرات محافظتی الازیک اسید از طریق مهار فعال شدن NF-κB، کاهش آزادسازی نیتریک اکساید (NO) و کاهش رادیکال‌های آزاد از طریق تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی می‌باشد (۱۱، ۱۲). مطالعه‌ای نشان داد که الازیک اسید در سلول‌های H9C2 اثر محافظتی بر هیپرتروفی ناشی از آنژیوتانسین در سلول‌های قلبی دارد و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (۱۳). مطالعه دیگری نشان داد که الازیک اسید از طریق کاهش استرس اکسیداتیو اثر محافظتی بر سمیت طحال ناشی از سولفات برلیوم در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دارد (۱۴). همچنین مطالعه‌ای نشان داد که الازیک اسید از سمیت قلبی عروقی ناشی از دوکسوروبیسین در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی جلوگیری می‌کند (۱۵). علاوه بر این، تحقیقات نشان داده است که درمان با الازیک اسید کبد را از آسیب‌های ایسکمی و رپرفیوژن محافظت می‌نماید و موجب کاهش سطح استرس اکسیداتیو و جلوگیری از القای التهاب و مرگ سلولی شده است (۱۶). با توجه به مطالب فوق و اهمیت بالای سمیت کادمیوم و همچنین با توجه به اینکه تاکنون اثر الازیک اسید بر سمیت عصبی کادمیوم در سلول‌های PC12 بررسی نشده است، لذا در این مطالعه اثرات محافظتی و آنتی‌اکسیدانی الازیک اسید بر سمیت ناشی از کادمیوم در سلول‌های عصبی PC12 مورد بررسی قرار گرفت.

قرار گرفتند و مایع رویی آن‌ها جمع‌آوری شده و پس از سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰ g و به مدت ۶ دقیقه تا انجام آزمایش‌های اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

در این روش مالون‌دی‌آلدئید در شرایط اسیدی و دمای بالا با تیوباریتوریک اسید تشکیل پیوند می‌دهد. کمپلکس این دو ماده در نمونه‌ها قابل تشخیص است و به شکل (TBA-MDA-TBA) تشکیل می‌گردد. به طور خلاصه، نمونه با ۱ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰ g سانتریفیوژ شد. سپس، مایع رویی نمونه با ۱ میلی‌لیتر محلول TBA (۰/۲ درصد در سولفات سدیم) مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. کمپلکس TBA-MDA با اضافه کردن n -بوتیل الکل استخراج شد. سپس مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به پلیت ۹۶ خانه‌ای منتقل شد و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام از روش (FRAP Ferric Reducing Ability of Power) استفاده گردید. این روش بر اساس توانایی احیاکنندگی یون‌های فریک به فرو در حضور ماده‌ای به نام تری‌پیریدیل‌تری‌آزین (TPTZ) استوار است. محلول FRAP به ترتیب محتوی TPTZ در HCl (۴۰ میلی‌مولار)، محلول کلرید آهن (III) (۲۰ میلی‌مولار) و بافر استات (۳۰۰ میلی‌مولار، pH 3.6) با نسبت‌های ۱-۱-۱۰ می‌باشد. نمونه به ۱ میلی‌لیتر محلول FRAP اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. با احیای یون‌های فریک و تبدیل آن به یون‌های فرو در pH اسیدی و با حضور معرف FRAP، کمپلکس آبی‌رنگی ایجاد می‌شود که در طول موج ۵۹۳ نانومتر دارای حداکثر جذب است.

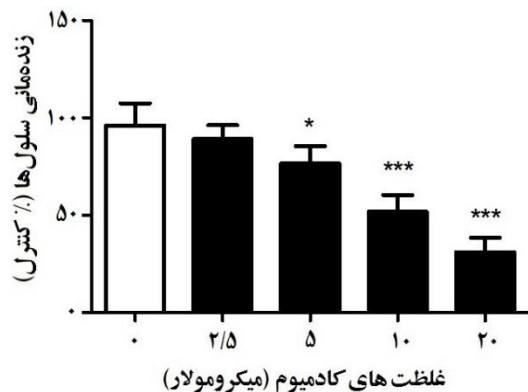
آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه‌ی ۵ (Graph Pad Software, USA) استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده‌اند و برای مقایسه‌ی نتایج زنده‌مانی سلولی، پراکسیداسیون لیپیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در بین گروه‌های مختلف از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقباً آزمون Tukey استفاده شد. اختلافات در سطح $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأثیر کادمیوم بر زنده‌مانی سلولی

آزمایش MTT به منظور بررسی لثر کادمیوم بر زنده‌مانی



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر زنده‌مانی سلول‌های PC12. نتایج بصورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده‌اند ($n = 5$). $P < 0/05$ * و $P < 0/001$ *** اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل

تأثیر الازتیک اسید بر سمیت سلولی ناشی از کادمیوم

سلول‌های PC12 با غلظت‌های مختلف الازتیک اسید (۵ تا ۲۰ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت پرانکوبه شدند و سپس به مدت ۲۴ ساعت در معرض کادمیوم قرار گرفتند. همانطور که در شکل ۲A و جدول ۱ نشان داده شده است، الازتیک اسید در غلظت‌های ۱۰ ($P = 0/046$)، $7/44 \pm 67/8$ و ۲۰ ($P < 0/001$)، $7/54 \pm 89/2$ میکرومولار در مقایسه با گروه کادمیوم توانست به ترتیب ۱۶ و ۳۷/۴ درصد میزان زنده‌مانی سلول‌های PC12 را که در معرض کادمیوم قرار داشتند، افزایش دهد. همچنین غلظت ۲۰ میکرومولار الازتیک اسید سبب افزایش معنی‌داری در زنده‌مانی سلول‌های PC12 در مقایسه با غلظت ۱۰ میکرومولار الازتیک اسید شد ($P = 0/005$).

تأثیر الازتیک اسید بر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سمیت

کادمیوم

در شکل ۳ و جدول ۱، سمیت کادمیوم به مدت ۲۴ ساعت در مقایسه با گروه کنترل سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های PC12 شد ($P < 0/001$)، $13/12 \pm 168/33$. پرانکوباسیون سلول‌ها با غلظت‌های ۱۰ ($P = 0/02$)، $12/47 \pm 123/33$ و ۲۰ ($P = 0/005$)، $12/24 \pm 115$ میکرومولار الازتیک اسید بطور قابل

جدول ۱. اثر الازیک اسید بر زندهمانی سلولی، پراکسیداسیون لیپیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ناشی از سمیت کادمیوم در سلول‌های PC12

گروه‌ها	زندهمانی سلولی	پراکسیداسیون لیپیدی	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام
کنترل	97/6 ± 7/93	86 ± 10/42	1/02 ± 0/13
کادمیوم	51/8 ± 7/6***	168/33 ± 13/12***	0/51 ± 0/08***
کادمیوم + الازیک اسید با غلظت 5 میکرومولار	58 ± 6/78***	135/66 ± 11/44*	0/7 ± 0/09*
کادمیوم + الازیک اسید با غلظت 10 میکرومولار	67/8 ± 7/44***, &	123/33 ± 12/47&	0/79 ± 0/10&
کادمیوم + الازیک اسید با غلظت 20 میکرومولار	89/2 ± 7/54&&&, ++	115 ± 12/24&&	0/82 ± 0/13&

نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند.

0/05 < P* و 0/001 < P*** اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل

0/05 < P&, 0/01 < P&& و 0/001 < P&&& اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کادمیوم

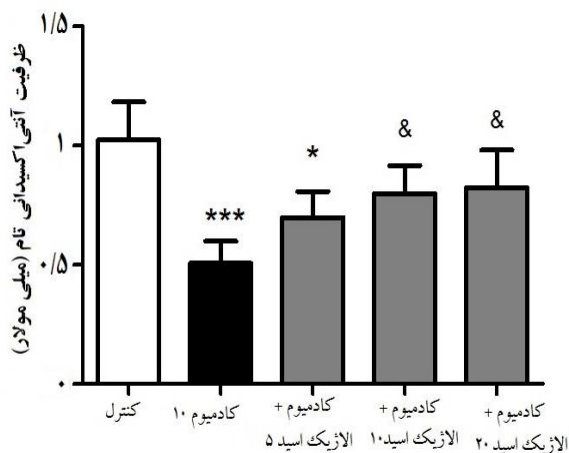
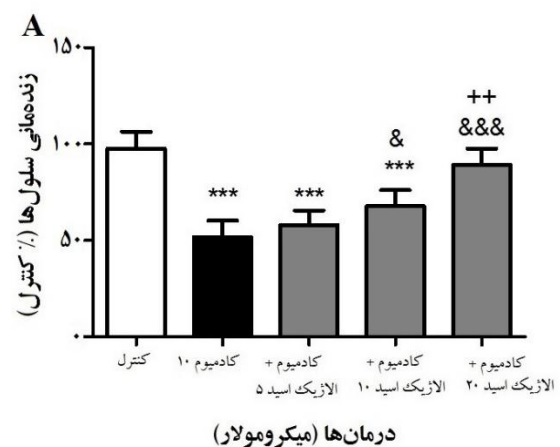
0/01 < P++ اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کادمیوم + الازیک اسید با غلظت 10 میکرومولار

ملاحظه‌ای از افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نمود.

تأثیر الازیک اسید بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ناشی از سمیت

کادمیوم

همانطور که در شکل ۳ و جدول ۱ نشان داده شد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در گروه کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل، به میزان معنی‌داری کاهش یافت (0/51 ± 0/08, P < 0/001). الازیک اسید توانست در غلظت‌های 10 (0/79 ± 0/10, P = 0/044) و 20 (0/82 ± 0/13, P = 0/025) میکرومولار از کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ناشی از سمیت کادمیوم جلوگیری نماید.



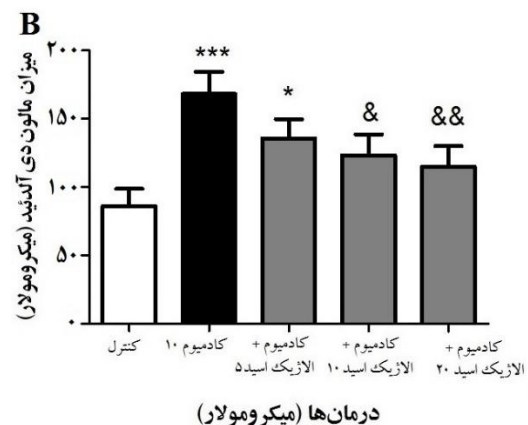
درمان‌ها (میکرومولار)

شکل ۳. اثر الازیک اسید بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ناشی از سمیت کادمیوم.

نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند (n = 3).

0/05 < P* و 0/001 < P*** اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل

0/05 < P& اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کادمیوم



شکل ۲. اثر الازیک اسید بر زندهمانی سلولی و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سمیت کادمیوم در سلول‌های PC12.

نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند (n = 3-5).

0/05 < P* و 0/001 < P*** اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل

0/05 < P&, 0/01 < P&& و 0/001 < P&&& اختلاف معنی‌دار در

مقایسه با گروه کادمیوم

0/01 < P++ اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کادمیوم + الازیک اسید با

غلظت 10 میکرومولار

بحث

مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر الاژیک اسید بر پارامترهای استرس اکسیداتیو ناشی از سمیت کادمیوم در سلول‌های عصبی PC12 صورت گرفته است. نتایج نشان داد که الاژیک اسید در برابر آسیب‌های استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی ناشی از سمیت کادمیوم در سلول‌های عصبی PC12 اثرات محافظتی دارد. در این مطالعه دیده شد که الاژیک اسید پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داده است و از کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ناشی از سمیت کادمیوم جلوگیری کرده است.

کادمیوم یک آلاینده محیطی بسیار سمی است که توزیع آن به دلیل افزایش انتشار گازهای گلخانه‌ای، دفع زباله و دود سیگار به سرعت در حال افزایش است. کادمیوم بدلیل سمیت و حلالیت بالا در آب، به راحتی از خاک به گیاهان منتقل می‌شود و در نهایت به راحتی وارد زنجیره غذایی انسان می‌گردد (۱، ۲). کادمیوم پس از مصرف، وارد جریان خون شده و به انواع مختلف بلف‌ها و لندها منتقل شده و در آنجا تجمع می‌یابد و باعث ایجاد اختلالات و بیماری‌های مختلف مانند اختلال عملکرد کلیه، بیماری قلبی عروقی، سمیت عصبی، سمیت کبدی، سمیت تولیدمثلی، سمیت ژنتیکی، فشار خون بالا، پوکی استخوان و سرطان می‌شود (۲، ۱۷). گرچه چندین مکانیسم برای سمیت ناشی از کادمیوم پیشنهاد شده است ولی مکانیسم دقیق آن هنوز شناسایی نشده است. یکی از مکانیسم‌های بالقوه و مضر کادمیوم، تولید بیش از حد ROS و به دنبال آن تولید پراکسیدهای لیپیدی و استرس اکسیداتیو است (۱).

مطالعات نشان داده است که در سیستم عصبی، کادمیوم باعث تجمع غیرطبیعی پروتئین تاو (Tau) می‌شود. تجمع این پروتئین باعث بروز طیف گسترده‌ای از بیماری‌های عصبی از جمله آلزایمر، پارکینسون، هانتینگتون، مرگ نورون‌ها و حتی کدورت شبکه چشم می‌شود (۱۸). امروزه تحقیقات جهت شناخت روش‌ها و داروهایی که آسیب ناشی از سمیت کادمیوم یا بروز آن را کاهش دهند بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

الاژیک اسید یکی از ترکیبات پلی فنولی است که در توت فرنگی، انار، تمشک، انگور سیاه و... وجود دارد. مطالعات نشان داده است که الاژیک اسید اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، آنتی‌موتازیک و آنتی‌پرولیفراتیو دارد (۱۰). تحقیقات نشان داد که در شرایط غلظت بالای گلوکز، الاژیک اسید استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد و اثر محافظت‌کننده در سلول‌های کاردیومیوسیت H9C2 دارد (۱۹). مطالعه‌ی نشان داد که آنتی‌اکسیدان‌هایی همچون الاژیک اسید نسبت به ویتامین E محافظت بهتری در برابر استرس اکسیداتیو دارد (۲۰). نتایج MTT نشان داد که کادمیوم بصورت وابسته به غلظت سبب القای مرگ سلولی شده است و انکوباسیون سلول‌ها با الاژیک اسید

توانست از آسیب سلولی ناشی از کادمیوم جلوگیری نماید. این نتایج در توافق با مطالعه‌ی است که نشان می‌دهد در سلول‌های کاردیومیوسیت، الاژیک اسید اثرات محافظتی بر استرس اکسیداتیو و آسیب میتوکندریایی ناشی از کلوزاپین دارد و زنده‌مانی سلولی را افزایش می‌دهد (۲۱).

آنتی‌اکسیدان‌های سلولی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون به عنوان اولین خط دفاعی در برابر صدمه رادیکال‌های آزاد در شرایط استرس اکسیداتیو می‌باشند. نتایج این مطالعه نشان داد که کادمیوم میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام را کاهش داده است و الاژیک اسید بطور قابل توجهی توانست از کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ناشی از سمیت کادمیوم جلوگیری نماید. در توافق با یافته‌ی ما در مطالعه‌ی نشان داده شده است که در موش‌های کوچک آزمایشگاهی، الاژیک اسید فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی کبد را بهبود می‌بخشد و در برابر سمیت کبدی ناشی از الکل اثرات محافظتی دارد (۲۲).

تولید بیش از حد ROS می‌تولند با حمله به پروتئین‌ها، لیپیدهای غشا و اسیدهای نوکلئیک سبب اختلال عملکرد آن‌ها شود. پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از استرس اکسیداتیو از طریق تغییر در ایتگریتی غشا و تغییر در ترکیب اسیدهای چرب موجب آسیب و مرگ سلولی می‌شود. یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی، MDA می‌باشد که تجمع آن به عنوان یک مارکر استرس اکسیداتیو در سلول‌ها استفاده می‌شود. نتایج ما نشان داد که کادمیوم باعث افزایش سطح MDA در سلول‌های PC12 می‌شود و الاژیک اسید توانست سطح MDA را در این سلول‌ها کاهش دهد. این نتایج نشان داد که در شرایط سمیت کادمیوم، الاژیک اسید توانست از طریق جلوگیری از کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، سبب کاهش میزان استرس اکسیداتیو و به تبع آن کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های PC12 شود. این موافق با مطالعات قبلی است که نشان می‌دهند در سلول‌های HUVECs، الاژیک اسید آسیب سلولی ناشی از غلظت بالای گلوکز را تخفیف می‌دهد و میزان MDA را کاهش می‌دهد (۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که الاژیک اسید توانسته از کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ناشی از سمیت کادمیوم جلوگیری نموده و میزان پراکسیداسیون لیپیدی را در شرایط سمیت کادمیوم کاهش دهد. بطور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که الاژیک اسید اثرات نوروپروتکتیو بر استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی ناشی از سمیت کادمیوم در سلول‌های PC12 دارد. بنابراین، این نتایج اهمیت استفاده از الاژیک اسید را به عنوان یک عامل درهانی امیدوارکننده برای جلوگیری از سمیت عصبی ناشی از کادمیوم نشان داد. با این حال، نیاز به تحقیقات بیشتر در حیوانات آزمایشگاهی و بررسی دقیق‌تر مکانیسم‌های اثر

الازبیک اسید در سمیت کادمیوم می‌باشد.

داروسازی با کد ۱۲۱۶ می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان که در انجام این تحقیق یاری نمودند تقدیر وتشکر می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع دکترای حرفه‌ای رشته‌ی

References

- Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The effects of cadmium toxicity. *Int J Environ Res Public Health* 2020; 17(11): 3782.
- Branca JJV, Fiorillo C, Carrino D, Paternostro F, Taddei N, Gulisano M, et al. Cadmium-induced oxidative stress: focus on the central nervous system. *Antioxidants* 2020; 9(6): 492.
- Charkiewicz AE, Omeljaniuk WJ, Nowak K, Garley M, Nikliński J. Cadmium toxicity and health effects-A brief summary. *Molecules* 2023; 28(18): 6620.
- Aminzadeh A, Salarinejad A. Effects of myricetin against cadmium-induced neurotoxicity in PC12 cells. *Toxicol Res (Camb)* 2021; 10(1): 84-90.
- Hao R, Ge J, Song X, Li F, Sun-Waterhouse D, Li D. Cadmium induces ferroptosis and apoptosis by modulating miR-34a-5p/Sirt1axis in PC12 cells. *Environ Toxicol* 2022; 37(1): 41-51.
- Wang H, Sun S, Ren Y, Yang R, Guo J, Zong Y, et al. Selenite ameliorates cadmium-induced cytotoxicity through downregulation of ROS levels and upregulation of selenoprotein thioredoxin reductase 1 in SH-SY5Y cells. *Biol Trace Elem Res* 2023; 201(1): 139-48.
- Rezaei K, Mastali G, Abbasgholinejad E, Bafrani MA, Shahmohammadi A, Sadri Z, et al. Cadmium neurotoxicity: Insights into behavioral effect and neurodegenerative diseases. *Chemosphere* 2024; 364: 143180.
- You Y, Chen Y, Li J, Zhang Q, Zhang Y, Yang P, et al. Physical activity mitigates the influence of blood cadmium on memory function: a cross-sectional analysis in US elderly population. *Environ Sci Pollut Res Int* 2023; 30(26): 68809-820.
- Xu Y, Hong H, Lin X, Tong T, Zhang J, He H, et al. Chronic cadmium exposure induces Parkinson-like syndrome by eliciting sphingolipid disturbance and neuroinflammation in the midbrain of C57BL/6J mice. *Environ Pollut* 2023; 337: 122606.
- Golmei P, Kasna S, Roy KP, Kumar S. A review on pharmacological advancement of ellagic acid. *J Pharmacol Pharmacother* 2024; 15(2): 93-104.
- El-Shitany NA, El-Bastawissy EA, El-desoky K. Ellagic acid protects against carrageenan-induced acute inflammation through inhibition of nuclear factor kappa B, inducible cyclooxygenase and proinflammatory cytokines and enhancement of interleukin-10 via an antioxidant mechanism. *Int Immunopharmacol* 2014; 19(2): 290-9.
- Rosillo MA, Sánchez-Hidalgo M, Cárdeno A, Aparicio-Soto M, Sánchez-Fidalgo S, Villegas I, et al. Dietary supplementation of an ellagic acid-enriched pomegranate extract attenuates chronic colonic inflammation in rats. *Pharmacol Res* 2012; 66(3): 235-42.
- Lee YC, Jou YC, Chou WC, Tsai KL, Shen CH, Lee SD. Ellagic acid protects against angiotensin II-induced hypertrophic responses through ROS-mediated MAPK pathway in H9c2 cells. *Environ Toxicol* 2024; 39(5): 3253-63.
- Lei Y, Jiang T, He L, Liu Y, Sun Z, Deng W, et al. Ellagic acid attenuates beryllium sulphate-induced oxidative stress and histopathological alterations of spleen in rats. *Pharm Biol* 2022; 60(1): 1047-54.
- Salinger-Martinovic S, Cosic V, Stojiljkovic N, Ilic S, Stojanovic N, Dencic T. Impact of ellagic acid application on doxorubicin-induced cardiovascular toxicity model. *Can J Physiol Pharmacol* 2021; 99(2): 185-91.
- Durgun C, Aşir F. Effect of ellagic acid on damage caused by hepatic ischemia reperfusion in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2022; 26(22): 8209-15.
- Ma Y, Su Q, Yue C, Zou H, Zhu J, Zhao H, et al. The effect of oxidative stress-induced autophagy by cadmium exposure in kidney, liver, and bone damage, and neurotoxicity. *Int J Mol Sci* 2022; 23(21): 13491.
- Ben P, Zhang Z, Zhu Y, Xiong A, Gao Y, Mu J, et al. L-Theanine attenuates cadmium-induced neurotoxicity through the inhibition of oxidative damage and tau hyperphosphorylation. *Neurotoxicology* 2016; 57: 95-103.
- Keshavarzi E, Aminzadeh A. Studying the protective effect of ellagic acid against high glucose-associated toxicity in H9C2 cardiomyocytes. *FABAD J Pharm Sci* 2022; 47(2): 183-92.
- Hassoun EA, Walter AC, Alsharif NZ, Stohs SJ. Modulation of TCDD-induced fetotoxicity and oxidative stress in embryonic and placental tissues of C57BL/6J mice by vitamin E succinate and ellagic acid. *Toxicology* 1997; 124(1): 27-37.
- Ahangari R, Khezri S, Jahedsani A, Bakhshii S, Salimi A. Ellagic acid alleviates clozapine-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in cardiomyocytes. *Drug Chem Toxicol* 2022; 45(4): 1625-33.
- Zhao L, Mehmood A, Soliman MM, Iftikhar A, Iftikhar M, Aboelenin SM, et al. Protective effects of ellagic acid against alcoholic liver disease in mice. *Front Nutr* 2021; 8: 744520.
- Sheikh S, Dehghani H, Kazerani HR. Protective effect of ellagic acid against high-glucose-induced injury in human umbilical venous endothelial cells. *Avicenna J Phytomed* 2024; 14(1): 138-41.

Protective Effects of Ellagic Acid Against Cadmium-Induced Neurotoxicity in PC12 Cells

Azadeh Aminzadeh¹, Mohsen Arabi Aliabad²

Original Article

Abstract

Background: Cadmium is a heavy metal with significant toxicity. Cadmium is widely used in industry and has destructive effects on most body systems. Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of neurotoxicity caused by cadmium. Ellagic acid is a phenolic compound that has anti-inflammatory and antioxidant properties. The aim of this study was to investigate protective effect of ellagic acid on cadmium-induced neurotoxicity in PC12 cells.

Methods: Neuronal PC12 cells were pretreated with various concentrations of ellagic acid (5, 10, and 20 μM) and then exposed to cadmium at a concentration of 10 μM for 24 h. Cell viability was measured by the MTT assay. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity (TAC) were also investigated.

Findings: The results showed that ellagic acid at concentrations of 10 (67.8 ± 7.44 , $P = 0.046$) and 20 μM (89.2 ± 7.54 , $P < 0.001$) could increase the viability of PC12 cells exposed to cadmium by 16 and 37.4%, respectively. Ellagic acid effectively reduced lipid peroxidation compared to cadmium group (10 μM : 123.33 ± 12.47 , $P = 0.02$; 20 μM : 115 ± 12.24 , $P = 0.005$). Furthermore, ellagic acid prevented the decrease in TAC caused by cadmium toxicity (10 μM : 0.79 ± 0.10 , $P = 0.044$; 20 μM : 0.82 ± 0.13 , $P = 0.025$).

Conclusion: The present study showed that ellagic acid has a protective effect against cadmium-induced neurotoxicity by reducing oxidative stress. Therefore, these results indicated the importance of using ellagic acid as a promising therapeutic agent to prevent cadmium-induced neurotoxicity.

Keywords: Ellagic Acid; Cadmium; PC12 Cells; Neurotoxicity

Citation: Aminzadeh A, Arabi Aliabad M. **Protective Effects of Ellagic Acid Against Cadmium-Induced Neurotoxicity in PC12 Cells.** J Isfahan Med Sch 2026; 43(846): 1885- 91.

1- Associate Professor, Pharmaceutics Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2- Pharmacist, Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Corresponding Author: Azadeh Aminzadeh, Associate Professor, Pharmaceutics Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran; Email: azadehaminzadeha98@gmail.com