مجله دیابت و لیپید ایران. بهار ۱۳۸۹؛ دوره ۹ (شماره ۳) ۲۳۴-۲۲۷

بررسی اثر محافظتی (آنتی اکسیدانی) سیلیمارین برمیزان مرگ سلولی و تولید پراکسیداسیون چربی ناشی از گلوکز بالا در کشت سلول های عصبی PC12

یاسین اسدی[۱]، ناهید ابوطالب[۲]، علی محمد شریفی[۳*]

چکیده

مقدمه: نوروپاتی، یکی از عمده‌ترین عوارض در افراد دیابتی بوده که علت احتمالی آن مواجهه طولانی مدت سلول‌ها با میزان بالای گلوکز خون می‌باشد. این مواجهه موجب افزایش استرس اکسیداتیو و از جمله یکی از مهمترین عواقب آن یعنی پراکسیداسیون مواد به ویژه چربی‌ها گردیده و با مرگ سلولی همراه است. سیلیمارین از خانواده فلاونوییدها بوده که به جهت خاصیت آنتی اکسیدانی، نقش مهمی در بهبود بسیاری از بیماری‌های مزمن ایفا می‌کند. هدف این پژوهش، بررسی اثر محافظتی (آنتی اکسیدانی) سیلیمارین بر میزان مرگ سلولی و تولید پراکسیداسیون چربی‌ها ناشی از گلوکز بالا در سلول‌های عصبی PC12 به عنوان یک مدل نوروپاتی دیابتی است.

روش‌ها: از سلول‌های PC12 به عنوان مدلی شناخته شده از سلول‌های عصبی استفاده شده و در ۶ گروه مورد بررسی قرار گرفتند و پس از زمان‌های ۲۴ ، ۴۸ و۷۲ ساعت، میزان حیات سلولی از طریق روش MTT (Methyl-thiazol-tetrazolium) و تولید پراکسیداسیون لیپیدی به روش سنجش MDA (Malon di aldehyde) بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میزان حیات سلولی در گروه دوز بالای گلوکز، نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشته و سیلیمارین با دوز ۱۰۰ µM/ml به طور معناداری منجر به کاهش میزان مرگ سلولی گردید. همچنین سیلیمارین با دوز ۱۰۰ µM/ml منجر به کاهش معنی دار رهایش میزان MDA در حضورگلوکز گردید.

نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های موجود، گلوکز با غلظت ۲۰ mg/ml موجب مرگ سلول‌های PC12 گردیده که سیلیمارین احتمالاً از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی موجب کاهش مرگ ناشی از گلوکز بالا در سلول‌های عصبی می‌گردد.

واژگان کلیدی: سلول‌های عصبیPC12، سیلیمارین، رادیکال‌های آزاد اکسیژن، دوز بالای گلوکز، پراکسیداسیون لیپیدی

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی ، دانشگاه علوم پزشکی ایران

۲- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

۳- گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی، دپارتمان فارماکولوژی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران

* ***نشانی:*** دپارتمان فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، پست الکترونیک: sharam @ iums.ac.ir

تاریخ دریافت:۸۸/۰۶/۱۸ **تاریخ درخواست اصلاح: ۸۸/۱۰/۲۰** **تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۲۵**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-11-04]

مقدمه

دیابت، از جمله بیماری‌های مزمن و شایع در جهان است که به میزان متفاوتی تمام نژادهای انسانی را گرفتار می‌نماید [۱]. شیوع جهانی دیابت در سال ۲۰۰۰ طبق آمار سازمان جهانی بهداشت[1]، ۱۷ میلیون نفر بوده است. این رقم تنها در آمریکا در سال ۲۰۰۲، ۹/۳ درصد (۱۹/۳ میلیون نفر) برآورد شد که در افراد بالای ۶۵ سال این میزان به ۲۱/۶٪ افزایش یافت. بیماری دیابت در زمره شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز بشمار می‌آید [۲]. این بیماری، با اختلال در متابولیسم چربی‌ها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشد [۳]. هیپرگلیسمی، اصلی‌ترین مشخصه بیماران دیابتی است و از مهمترین عوامل شروع نوروپاتی محسوب می‌گردد [۴]؛ بنابراین مصرف انسولین و داروهای حساس کننده بافت‌ها نسبت به انسولین، با کاهش هیپرگلیسمی می‌تواند از نوروپاتی دیابتی پیشگیری نماید [۵،۶]. در حال حاضر کنترل قند خون بالا در بیماران دیابتی نوع ۱ و ۲، با روش‌های معمول بطور کامل امکان‌پذیر نمی‌باشد؛ لذا احتمال بروز و ایجاد نوروپاتی در این بیماران وجود دارد. قابل ذکر است که بسیاری از سازوکارهای نوروپاتی پس از شروع، وارد مرحله‌ای می‌گردند که در اکثر موارد برگشت ناپذیر می‌باشند. کاهش جریان خون اعصاب از سازوکارهایی است که به صورت غیر مستقیم از طریق ایسکمی به ایجاد نوروپاتی کمک می‌نماید [۷]. همچنین در بیماری دیابت، اختلالات متابولیک نیز منجر به استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری گردیده که از علل مهم ضایعات ایجاد شده در نوروپاتی دیابتی می‌باشد [۸،۹]. با اندازه‌گیری غیر مستقیم استرس اکسیداتیو در نورون‌های حسی نمونه‌های دیابتی، این موضوع نشان داده شده است [۱۰،۱۱]. در استرس اکسیداتیو، آزادسازی ROS[2] که شامل پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، یون سوپراکسید (O_2^-) و نیتریک اکسید (NO^-) می‌باشند، موجب تغییرات در اجزای سلول و از جمله پراکسیداسیون لیپیدی و متعاقباً مرگ سلولی می‌گردد. آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله موادی هستند، که بنظر می‌رسد با کاهش میزان ROS، بتوانند از مرگ نورونی پیشگیری نمایند [۱۲]. فلاونوییدها، از جمله مواد آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که باعث کاهش آزادسازی ROS می‌گردند [۱۲]. فلاونوییدها ترکیبات متعددی را شامل می‌گردند که این ترکیبات اثرات زیستی متنوعی در بدن دارا می‌باشند. سیلیمارین، فلاونوییدی است که اثرات متعددی از جمله اثر ضد سرطانی و خواص آنتی‌اکسیدانی را موجب می‌شود [۱۳]. سیلیمارین از میوه رسیده وخشک گیاه Silybum marianum بدست می‌آید [۱۴]. سیلیمارین عصاره‌ای است که از چندین ایزومر تشکیل شده که مهمترین ماده موجود در این عصاره، سیلی‌بینین است و حدود ۸۰ درصد از این عصاره را شامل می‌شود [۱۵]. با توجه به موارد ذکر شده فوق، مطالعه حاضر در نظر دارد اثر محافظتی (آنتی‌اکسیدانی) سیلیمارین را بر میزان مرگ ناشی از رهایش رادیکال‌های آزاد در اثر میزان بالای گلوکز در سلول‌های عصبی PC12 به عنوان یک مدل نوروپاتی دیابتی، مورد بررسی قرار دهد.

روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع مداخله‌ای بوده و به صورت مقطعی انجام گردیده است. تعداد نمونه‌های مورد آزمایش ۸ عدد بود و کلیه آزمایش‌ها برای تمامی گروه‌ها، ۲ بار تکرار گردید.گروه های مورد مطالعه در این تحقیق عبارتند بودند از: ۱- گروه کنترل(CO)، ۲- گروه با گلوکز بالا(HG)، ۳- گروه با گلوکز بالا به علاوه سیلیمارین با دوز ۲۰ µM/ml (HGS20l)، ۴- گروه با گلوکز بالا به علاوه سیلیمارین با دوز ۶۰ µM/ml (HGS60)، ۵- گروه با گلوکز بالا به علاوه سیلیمارین با دوز (HGS100) و ۶- گروه با گلوکز بالا به علاوه سیلیمارین با دوز ۲۰۰ µM/ml (HGS200).

سلول‌های PC12 از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. این سلول‌ها در محیط کشت DMEM[3] با ۵٪ سرم جنین گاوی (FBS)، ۵٪ سرم اسبی(HS) و ۱٪ آنتی بیوتیک (پنی‌سیلسن + استرپتومایسین)که تماماً از شرکت سیگما خریداری شدند، تحت شرایط کشت (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، O_2 ۹۵٪ و CO_2 ۵٪) نگهداری شدند [۱۵].

1- World Health Organization
2- Reactive Oxygen Patios'
3- Dulbeccoos Modfied Eagles Medium

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-11-04]

سلول‌های مورد نظر، ۲۴ ساعت پس از انتقال به درون فلاسک حاوی محیط کشت به کف فلاسک چسبیده و به تدریج حالت رشته‌ای به خود می‌گیرند. این در حالی است که سلول‌های مرده کروی شده و در سطح محیط کشت شناور می‌گردند [۱۵] . محیط کشت حاوی سلول‌های مرده حذف گردیدند و سلول‌های چسبیده به کف فلاسک با استفاده از تریپسین (TE) پاساژ داده شدند. سلول‌ها پس از شمارش به تعداد ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک به پلیت ۲۴ خانه‌ای منتقل شدند. این سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت رشد در معرض مواد قرار گرفتند. سیلیمارین(خریداری شده از شرکت سیگما) حل شده در الکل به محیط کشت حاوی سلول‌ها اضافه گردید. یک ساعت پس از افزودن سیلیمارین گلوکز با غلظت ۲۰ mg/dl جهت ایجاد مرگ به محیط کشت اضافه گردید و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد، سلول‌ها از نظر توان حیاتی و میزان تو لید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مورد بررسی قرار گرفتند.

نحوه اندازه‌گیری توان حیاتی سلول‌ها به روش MTT

MTT، روشی برای تعیین سلول‌های زنده در بسیاری از نمونه‌های بیولوژیک می‌باشد. در این روش، معرف MTT یا تترازولیوم که ماده‌ای زرد رنگ است به نمونه‌ها افزوده می‌شود، تترازولیوم توسط آنزیم میتوکندریایی سوکسینیت دهیدروژناز شکسته شده و فورمازون نامحلول ایجاد می‌کند، میزان فورمازون به روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری می‌شود [۱۶]. در اجرای این روش، به ترتیب زیر عمل شده است:

۱۰ میکرو لیتر از محلولMTT (۵ درصد)را به پلیت ۹۶ چاهی اضافه شد و به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید. در گام بعدی سلول‌ها و کریستال‌های رنگی با اضافه کردن ۱۰۰ میکرو لیتر ازDMSO[1] بصورت محلول درآمدند و میزان جذب نوری آنها در طول موج ۵۷۰ نانومتر (رفرانس ۶۲۰ نانومتر) در دستگاه Elisa Readerخوانده شد. میزان جذب ارتباط مستقیم با حیات سلولی دارد [۱۷].

نحوه اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی به روش MDA

یکی از موادی که در اثر پراکسیداسیون اسیدهای چرب در سلول‌ها تولید می‌شود، مالون دی آلدهید(MDA) است. این ماده وقتی که در معرض تیوباربیتوریک اسید (TBA) قرار می‌گیرد، تشکیل پیوند می‌دهد. کمپلکس این دو ماده در نمونه‌ها قابل تشخیص است و به شکل (TBA-MDA-TBA) تشکیل می‌گردد [۱۷].

تمامی معرف‌هایی که قرار بود استفاده شود، یک ساعت قبل از انجام پروتکل آماده شد تا تازه باشند و به خوبی مخلوط شد. نمونه‌هایی که MDA در آنها مورد سنجش قرار گرفت، سلول‌هایی بودند که در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای کشت داده شدند. محلول دودسیل سولفات به نمونه‌های سلولی اضافه گردید؛ پس از هم زدن، وارد لوله‌های میکروسانتریفیوز شده و ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. به هر میکروتیوب ۲۵۰ میکرو لیتر از معرف TBA (خریداری از شرکت فراز گستر) اضافه شد و پس از این مرحله، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استیک اسید ۲۰٪ (شرکت کیا آزما) به هر میکروتیوپ اضافه شد. درب میکروتیوب‌ها بسته و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه انکوبه گردید؛ تیوب‌ها برداشته شد و با استفاده از ظرف یخ به دمای اتاق رسید، نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ rpm و به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. مایع رویی یا سوپرناتانت از میکروتیوب‌ها جمع‌آوری شده در داخل کوبت اسپکتروفوتومتر ریخته و میزان جذب در طول موج نوری ۵۳۲ نانومتر سنجیده شد [۱۷].

آنالیز آماری

تمامی اطلاعات بدست آمده به صورت mean± SEM گزارش شده‌اند. برای مقایسه یک به یک متغیرها با هم، از آزمون آماری Student t-test استفاده شد. اطلاعات مربوط به متغیرهای متعدد توسط روش آماری one way ANOVA و با استفاده از برنامه JMP70 تجزیه وتحلیل گردید. $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

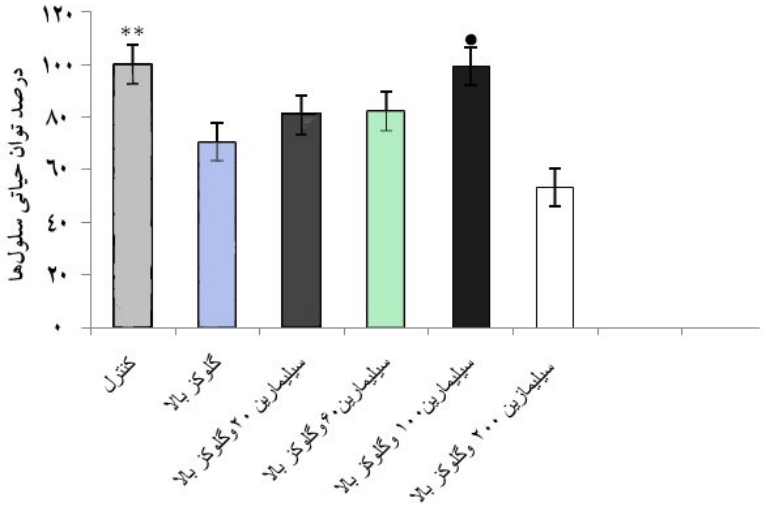
1- Di Methyl Soulfat

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-11-04]

یافته‌ها

بررسی توان حیاتی سلول‌ها

پس از سنجش توان حیاتی سلول‌ها با روش MTT، مشاهده شد که گلوکز با غلظت بالا به طور معنی‌داری پس از ۴۸ ساعت باعث القای مرگ سلولی شده و میزان جذب نوری که توسط سلول‌های زنده صورت می‌گیرد را کاهش داده است. سیلیمارین با دوزهای ۲۰ µM/ml و µM/ml ۶۰، میزان سلول‌های زنده را نسبت به گروه با گلوکز بالا افزایش داد اما این اثر معنادار نبود. در حالی که سیلیمارین با دوز ۱۰۰ µ M/ml توانست اثرات کشندگی گلوکز بالا را به طور معناداری کنترل کند. اما همان طور که در نمودار شماره ۱ مشاهده می‌شود، سیلیمارین با دوز ۲۰۰µM/ml، خود ایجاد مرگ سلولی کرد.



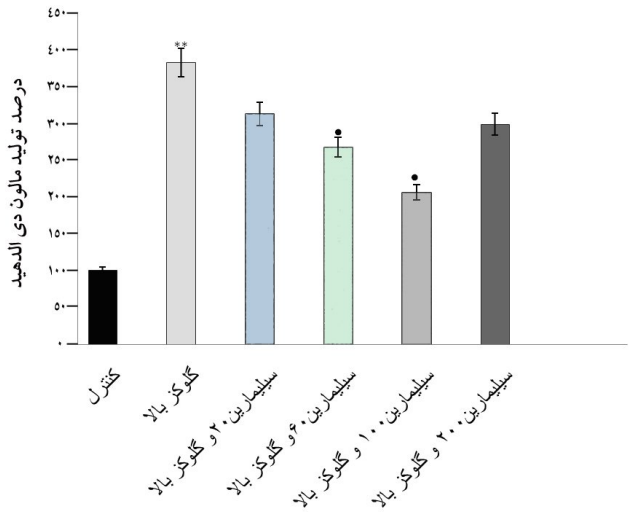
نمودار ۱- مقایسه توان حیاتی سلول‌ها در گروه‌های مختلف ۴۸ ساعت پس از درمان با سیلیمارین

نتایج حاصل از مقایسه توان حیاتی سلول‌ها در گروه‌های مختلف، ۴۸ ساعت پس از درمان با تجویز دوزهای متفاوت داروی سیلیمارین بر حسب µ M/ML، گلوکز بالا (µM /ML ۲۰) و آنالیز یافته‌ها با استفاده از آزمون آماری T-Student. n =۸ و ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک انجام شده است. تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل در مقایسه با گروه گلوکز بالا (HG) ** P< ۰/۰۰۱ و گروه گلوکز بالا (HG) در مقایسه با گروه سیلیمارین µM/ml ۱۰۰+ گلوکز بالا ● P< ۰/۰۰۵ مشاهده شد.

بررسی میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن

با اندازه‌گیری MDA، مشاهده گردید که سیلیمارین با غلظت µ M/ml ۱۰۰ و در زمان ۴۸ ساعت پس از درمان، به طور معنی‌داری منجر به کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-11-04]



نمودار ۲- مقایسه میزان آزادسازی MDA در گروه‌های مختلف در زمان ۴۸ ساعت پس از درمان با سیلیمارین

نتایج حاصل از متقایسه میزان آزادسازی MDA از سلول‌ها در گروه‌های مختلف، ۴۸ ساعت پس از درمان با تجویز دوزهای متفاوت داروی سیلیمارین بر حسب µM/ML، گلوکز بالا (۲۰ µM/ML) و آنالیز یافته ها با استفاده از آزمون آماری T-Student. n= ۸ و ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک) انجام شده است.
تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل در مقایسه با گروه گلوکز بالا (HG) ** P<۰/۰۰۱، گروه سیلیمارین ۱۰۰ + گلوکز (SIL100HG) در مقایسه با گروه گلوکز بالا (HG) ● P<۰/۰۰۵ و گروه سیلیمارین ۶۰ + گلوکز (SIL60HG) در مقایسه با گروه گلوکز بالا (HG) ● P<۰/۰۰۵ مشاهده می‌گردد.

بحث

وقوع دیابت و عوارض متعاقب آن بطور چشمگیری در حال افزایش است. کاهش کیفیت زندگی و افزایش مرگ و میر، از مشکلات جدی مبتلایان به دیابت می‌باشد. این مشکلات در دراز مدت و ناشی از عواقب مزمن بیماری ایجاد می‌گردند. نوروپاتی دیابتی که یکی از عواقب مزمن بیماری دیابت می‌باشد، می‌تواند منجر به نارسایی‌های متعدد در اعصاب محیطی حسی و حرکتی و همچنین در اعصاب خودکار گردد. وقتی نورون‌های محیطی در معرض غلظت‌های بالای گلوکز قرار می‌گیرند، تغییرات از درون سلول آغاز می‌شود که در ادامه و نهایتاً به کمک عوامل عروقی و تغییرات بین بافتی منجر به تخریب سلول‌های عصبی می‌گردند. از جمله تغییراتی که در اثر مواجهه با گلوکز بالا ایجاد می‌شود، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، نیتروژن و پراکسیداسیون اسیدهای چرب در سلول می‌باشد که منجر به تحت تاثیر قرار دادن میزان حیات سلولی می‌گردند [۱۸]. در این مطالعه اثرات محافظتی سیلیمارین بر مرگ سلولی و رهایش رادیکال‌های آزاد بر اثرگلوکز بالا بر روی سلول PC12 به عنوان مدلی از نورون محیطی مورد بررسی قرار گرفت.

در این مطالعه بطور معنی‌داری سیلیمارین موجب کاهش مرگ سلول‌های PC12 در اثر میزان بالای گلوکز گردید و از طرف دیگر از پراکسیداسیون سلولی حاصل گلوکز بالا نیز بطور معنی‌داری جلوگیری نمود.

شواهد متعددی مبنی بر تاثیر مطلوب مواد آنتی‌اکسیدان در کنترل نوروپاتی دیابتی موجود است. در مطالعاتی که بر روی موش صحرایی دیابتی صورت گرفت، مشاهده شد که میزان مالون دی آلدهید (MDA) در نورون‌ها افزایش و فعالیت آنزیم SOD (سوپراکسید دیسموتاز)کاهش یافت [۱۹]. عوامل آنتی‌اکسیدانی از جمله ویتامین C، E، U83836E وآلفا لیپوییک اسید در کنترل نوروپاتی موثر بوده‌اند [۲۰]. همچنین ملاتونین نیز به طور موثر بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد [۲۱].

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-11-04]

مطالعات بسیاری پیرامون اثرات سیلیمارین در محیط کشت و بر انواع سلول‌ها صورت گرفته است که با نتایج مشابه بدست آمده از این مطالعات، بر اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی این عصاره گیاهی دلالت دارد [۲۲]. در مطالعه‌ای که اخیراً انجام شده، آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سیلیمارین و کوارستین با ثبات بخشیدن به گانگلیوزیدهای غشایی، باعث تداوم غشاهای زیستی و افزایش توان حیاتی سلول‌ها شده‌اند. ازطرفی عوامل کارسینوژن مانند آرسنیک، باعث ایجاد بدخیمی در سلول‌های پوست و القای استرس اکسیداتیو شده، که سلیمارین تا حدودی با هر دو پدیده مقابله می‌کند [۲۳]. سیلیمارین همچنین در سلولهای عصبی PC12، باعث افزایش فاکتور رشد عصبی (NGF) شده و افزایش حیات سلولی در محیط کشت گردیده است. سیلیمارین در سلول‌های کشت شده هیپوکامپ موش صحرایی باعث کاهش آپوپتوز ناشی از مواد می‌شود[۲۴]. همچنین سیلیمارین در محیط کشت باعث تمایز این سلول‌ها می‌گردد. از طرفی مشاهده شده است که سیلیمارین با مهار گیرنده‌های تیروزین کیناز که بوسیله فاکتور رشد فعال می‌شوند، از رشد و تمایز بی رویه سلولی و بعبارت دیگر از سرطانی شدن آنها پیشگیری می‌نماید [۲۴]. با توجه به موارد ذکر شده، اثر سیلیمارین بر سازوکارهای داخل سلولی و همچنین اثر مهار کنندگی و یا محرک رشد آن وابسته به دوز و مدت زمان تماس سلول‌ها در معرض دارو می‌باشد.

نتایج حاصل از پژوهشی که انجام شد، نشان می‌دهد که اثرات توکسیک گلوکز با غلظت ۲۰mg/dl بر سلول‌ها در کمتر از ۲۴ ساعت شروع می‌شود و میزان حیات سلولی را کاهش می‌دهد. با گذشت زمان، اثرات توکسیک گلوکز بر سلول‌ها بیشتر می‌شود تا اینکه پس از ۴۸، ساعت میزان سمیت ناشی از گلوکز به بیش از دو برابر می‌رسد؛ اما بین زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از افزودن گلوکز، تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. این یافته نشان می‌دهد که زمان مطلوب برای ایجاد اثرات توکسیک، همان زمان ۴۸ ساعت پس از افزودن گلوکز است. از طرفی وقتی در کنترل این اثرات توکسیک با سیلیمارین، دارو به صورت وابسته به دوز عمل می‌نماید؛ در زمان ۲۴ ساعت، با افزایش دوز سیلیمارین از توان حیاتی سلول‌ها کاسته می‌شود که ممکن است به علت اثرات آنتی کارسینوژنیک سیلیمارین با دوزهای پایین باشد. اما با گذشت زمان، مشاهده می‌گردد که با افزایش دوز سیلیمارین، توان حیاتی سلول‌ها افزایش می‌یابد. با توجه به این یافته‌ها، بنظر می‌رسد که اثرات آنتی‌اکسیدانی سیلیمارین در دوزهای بالاتر و نه دوزهای بسیار بالا، قابل مشاهده خواهد بود. زمان مطلوب برای مشاهده اثرات آنتی‌اکسیدانی ۴۸ ساعت پس از افزودن سیلیمارین به محیط کشت بود. طی زمان مذکور، بیشترین افزایش در توان حیاتی سلول‌ها مشاهده شد. بیشترین اثر کاهش آزادسازی MDA از سلول‌ها، توسط سیلیمارین در ۴۸ ساعت پس از درمان و با دوز ۱۰۰ µM/ml ایجاد شده است. از نتایج بدست آمده، این گونه استنباط می‌شود که احتمالاً سیلمارین در هر دو دوز۶۰ و ۱۰۰ µM/ml، باعث کاهش میزان MDA می‌گردد؛ اما سیلیمارین در دوز۱۰۰µM/ml ممکن است از طریق سازوکارهای دیگر، موجب افزایش هرچه بیشتر حیات سلولی شده باشد، لذا توصیه می‌گردد در مطالعات آینده اثر دوزهای مختلف داروی مورد نظر بر سایر سازوکارهای مرتبط با حیات سلولی بررسی شود. همچنین مشاهده گردید که سیلیمارین در دوزهای بالاتر (µM/ml ۲۰۰) اثرات توکسیک بر سلول‌ها اعمال می‌نماید و باعث کاهش توان حیاتی سلول‌ها و افزایش آزادسازی MDA می‌شود. احتمالاً سیلیمارین نیز مانند برخی آنتی‌اکسیدان‌ها، در دوزهای بالاتر به عنوان یک پرواکسیدان عمل می‌نماید [۲۵].

در مشاهده و تفسیر نتایج سیلیمارین در دوز ۶۰ و ۲۰ میلی مولار /میلی لیتر در میزان حیات سلولی و نتیج دوزهای مشابه در میزان MDA، شاید بتوان توضیح داد که میزان افزایش میزان MDA در قیاس با میزان ایجاد مرگ سلولی همخوانی دقیق وجود ندارد، اگرچه جهت تغییر آنها تا حدی در یک راستا می‌باشد. توضیح اینکه در اثر غلظت بالای گلوکز، حدود ۴ برابر میزان کنترل میزان MDA افزایش می‌یابد و این در حالیست که مرگ سلول‌ها به میزان حدود ثلث میزان کنترل در اثر همان میزان گلوکز می‌باشد. لذا اگرچه میزان MDA در اثر سیلیمارین غلظت

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-11-04]

۶۰ میلی مولار/میلی لیتر حدود ۳۰ درصد کاهش یافته، ولی مرگ سلولی به همان میزان نتوانسته است کاهش یابد. بعبارت دیگر میزان بیشتر کاهش MDA لازم است تا بتواند بطور معنی‌داری مرگ سلولی را کاهش دهد.

پس در مجموع مشاهده می‌کنیم که سیلیمارین با دوز ۱۰۰ µM/ml و در زمان ۴۸ ساعت پس از ورود به محیط کشت حاوی سلول‌ها به طور معنی‌داری دارای اثرات محافظتی بر سلول‌های PC12 بوده و باعث کاهش در رهایش رادیکال‌های آزاد ناشی از گلوکز بالا شده است. شاید با یک بررسی دقیق‌تر بتوان از داروهای گیاهی آنتی‌اکسیدانی مشابه سیلیمارین، در جلوگیری از عوارض دیابت استفاده نمود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از گروه فیزیولوژی وگروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران به سبب فزاهم آوردن امکانات پژوهشی و همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه ایران به موجب تأمین مالی پروژه اعلام می دارند.

ماخذ

1. Wild S, RoglicG, GreenA, SicreeR, KingH.Global prevalence of diabetes: estimates for the year2000 and projections for 2030. *Diabetes care* 2004; 27:1047-1053.
2. Anderoli T E, CaroenterCCJ, GariggsRC, Loscaizo J."Cecil essential of medicine"5th edition, 2001; chapter68, P.583-598.
3. همایونفر،ه. "*علم اندوکرینولوژی در پزشکی*" انتشارات دانشگاه علوم پزشکی ایران ۱۳۸۲ ; (۵): ۱۰۶.
4. Vinik AI, Porte D Jr, Sherwin RS, Baron A. Diabetic autonomic neuropathy. In Ellenberg and Rifkin's diabetes mellitus. New York: *McGraw Hill* 2002; 789–804.
5. Skyler JS, Effect of glycemic control on diabetic complications and on the prevention of diabetes. *Clinical Diabetes* 2004; 22:162-166.
6. Chronic Complications in Diabetes. Animal Models and Chronic Complications. 2000; P. 905-907.
7. Sheetz MJ King GL .molecular understanding of hyperglycemias adverse effects for diabetic complications. *AMA* 2002; 288:2579-2588.
8. Pacher P, Obrosova I G, Mabley J G, Szado C. Role of introsative stress and proxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications. Emerging new therapeutical strategies. *Curr Med Chem* 2005; 12: 267-275.
9. Vinik AI , Diabetic neuropathy: Pathogenesis and therapy. *Diabetes* 2002; 6-11.
10. Russell JW, Golovoy D ,Vincent AM, Mahendru P, Olzmann JMentzer EL. High glucose Stress and mitochondrial dysfunction in neurons. *FASEB J* 2002; 16:1738-1748.
11. Geolotto G, Gallo A, Rosiglitazon reduces glucose-induced oxidative stress mediated by NADPH oxidase via MAPK- dependent mechanism. *Diabetes* 1997; 13: 486-493.
12. Fraschini F, Demartini G, Exposit D. Pharmacology of Silymarin. *Cline drug invest* 2002; 22(1):51-65.
13. Firenzuoli F, Gori L. Crupi A, Neri D. Flavenoeids: risks or opportunities? *Recenti Prog Med* 2004; 95(7-8) 345-351.
14. Fraschini F, Gori L, Esposti D, Pharmacology of Silymarin. *Clin drug invest* 2002; 22: 51-65-77.
15. Li Y, Decherchi P, and Raisman G, Transplanation of olfactory ensheathing cells into spinal cord lesions restores breathing and climbing. *J Neurosci* 2003; 23:727-731.
16. Wang TTY, Phang JM, Effects of estrogen on apoptotic pathways in human breast cancer cell line MCF-7. *Cancer Res* 1995; 55: 2487-2489.
17. Kwon, T and watts. Malonaldehyde in aqueous solution and iys role as a measure of lipid oxidation in foods. *Journal of Food Science* 1998; 29: 294-302.
18. Sharifi AM, Darabi R, Akbarloo N, Larijani B, Khoshbaten A. Study of high glucose-induced apoptosis in PC 12 cells: role of bax protein. *Elsevier toxicology* 2007.
19. Baluchnegad T,Homayunfar H,Roghani M,khastkhodaei Z. Survey of the effect of Silymarin on diabetic neuropathy in male rat. *J iran un* 2008; 3-5.
20. Sayyed, SG, Kumar A, Sharma SS. Effects of U8383 on nerve functions. hyperalgesia and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Life Sci* 2006; 79(8):777-83.
21. Esparza JL, Gomez M, Rosa NM, Paternian JL, Malool, Domigo JL. Melatonin induces oxidative stress and increases gene expression in the cerebral cortex and cerebellum of aluminum-exposed rats. *Journal of pineal Research* 2005; 39: 129-136.
22. Elio A.Soria, AldoR, Eynard, Patricia L. Quiroga, Guillermina A. Bongiovanni Differential effects of quercetin and Silymarin on arsenate-induced cytotoxicity in two human breast adenocarcinoma cell lines. *Cell Cul* 2007; 18:54.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-11-04]

23. KitturS, Wilasrusmee S, Pedersen WA, Mattson MP, Straube-West K, Wilasrusmee C, Jubelt B, KitturD.S. Neurotrophic and Neuroprotective Effects of Milk Thistle (Silybum marianum) on Neurons in Culture. *J ubelt* 2002; -17.
24. Shiqin Xiong, Qiuhui Zhao, Zhili Rong, Guanrong Huang, Yiling Huang, Peila Chen, Shuping Zhang, Li Liu, and Zhijie Chang . hSef Inhibits PC-12 Cell Differentiation by Interfering with Ras-Mitogen-activated Protein Kinase MAPK Signaling. *J cell* 2003; 184-205.
25. Silvano Nocentini, Miche` le Guggiari, Danielle Rouillardand Sophie Surgis. Exacerbating Effect of Vitamin E Supplementation on DNA Damage Induced in Cultured Human Normal Fibroblasts by UVA Radiation. *MS* 2001; 33:71-73.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-11-04]