Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences

Rahnama and Ghasemi. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2026;48(3):
doi:10.34172/mj.026.35345
https://mj.tbzmed.ac.ir

TUOMS PRESS

Original Article

Investigation of the effects of bromelain on serum levels of inflammatory and anti-inflammatory factors and prevention of oligodendrocyte cell death in the mouse brain

In Press

Sharare Rahnama[1], Nazem Ghasemi[2*]

[1]PhD Student, Department of Anatomical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2]Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 31 Jan 2026
Revised: 2 May 2026
Accepted: 4 May 2026
ePublished: 1`Jul 2026

Keywords:
- Anti-inflammatory factors
- Inflammatory factors
- Oligodendrocyte
- Bromelain

Abstract

Background. Among the factors affecting the prevalence of myelin-related diseases are mitochondrial dysfunction, inflammation, and decreased synthesis of myelin-related proteins. Bromelain, with its anti-inflammatory effects, plays an important role in preventing nerve damage. In the present study, the effects of bromelain were investigated on serum levels of inflammatory and anti-inflammatory factors and prevention of oligodendrocyte cell death in the mouse brain.

Methods. A total of 20 C57BL/6 mice were randomly assigned to control, sham, cuprizone, and bromelain/cuprizone groups. Oligodendrocyte death and changes in serum levels of inflammatory and anti-inflammatory factors were induced by cuprizone. Bromelain was daily administered by gavage at a dose of 40 mg/kg in the relevant group. Serum levels of inflammatory and anti-inflammatory factors were assessed by ELISA and oligodendrocytes were examined by immunohistochemistry. Data were analyzed using one-way ANOVA.

Results. The mean serum levels of inflammatory factors increased significantly in the cuprizone group and decreased significantly in the bromelain group ($P \leq 0.046$). In addition, the mean serum levels of anti-inflammatory factors and the mean percentage of Olig2 and Mog positive cells in the cuprizone group were significantly reduced compared to other groups ($P \leq 0.039$), and there was no difference in the bromelain group compared to the control and sham groups.

Conclusion. Bromelain, with its anti-inflammatory effects, can play an important role in preventing the death of oligodendrocyte cells. Therefore, it can be used to prevent inflammation, the death of myelin-forming cells, and the destruction of myelin tissue.

Practical Implications. Due to its anti-inflammatory and neuroprotective effects, bromelain can play a very important role in the prevention and treatment of neurodegenerative diseases.

How to cite this article: Rahnama Sh, Ghasemi N. Investigation of the effects of bromelain on serum levels of inflammatory and anti-inflammatory factors and prevention of oligodendrocyte cell death in the mouse brain. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*.2026; 48(3): doi:10.34172/mj.026.35345. Persian.

Extended Abstract

Background

Multiple sclerosis is the most common chronic disease that damages the central nervous system. One of the main mechanisms in the development of this disease is the progressive destruction of myelin due to oligodendrocyte cells death. Following the destruction of myelin, the conduction of nerve impulses is impaired. Bromelain is a type of

*Corresponding author; Email: n_ghasemi@med.mui.ac.ir
© 2026 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

proteolytic enzyme that has significant neuroprotective and anti-inflammatory effects and can inhibit oxidative stress.

This substance is a type of dietary supplement that can be used as an alternative to nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of neurodegenerative diseases. Given the wide spectrum of functions of bromelain and the fact that it can directly or indirectly have a neuroprotective and anti-inflammatory role, it is necessary to investigate the effects of this compound on serum levels of inflammatory and anti-inflammatory factors and the prevention of oligodendrocyte cell death in the mouse brain.

Methods

In this experimental study, a total of 20 C57BL/6 mice were randomly divided into 4 groups, including control (n=5,natural diet), sham (n=5,natural diet, gavage with 200µL corn oil), cuprizone (n=5), and cuprizone/bromelain (n=5). First, the mice were subjected to standard food and environmental conditions for one week, and 400 mg cuprizone dissolved in corn oil was used for 4 weeks to induce oligodendrocyte cell death. In the bromelain group, this compound was used at a dose of 40 mg/kg daily for 4 weeks.

At the end of the fourth week, the mice were anesthetized with intraperitoneal injection of ketamine and xylazine, and blood sampling was performed. Then, the mice brains were fixed and 5 µm-thick paraffin sections were prepared from the brain. After antigen retrieval, immunohistochemistry was performed to determine the percentage of cells expressing Olig2 and Mog surface antigens. In this method, primary antibodies and secondary antibodies linked to fluorescence were used.

Moreover, the nuclei were stained using DAPI. In addition, to examine the serum levels of inflammatory and anti-inflammatory factors, the blood sample of the mice was centrifuged and the serum was prepared for ELISA according to the manufacturer's protocol.

For this purpose, 50µL of standard solution was placed in the wells except for the blank well, and 50µL of serum was added to the wells. Afterwards, the sample was placed on a shaker at 200 rpm for 50 minutes, the solution in the wells was aspirated, and 50µL of conjugated antibody was added to each well (except for the blank well). After 50minutes, 50µL of HRP-Avidin solution was added to the sample in the wells (except for the blank) and placed on the shaker for 30 minutes.

After aspiration/washing, 50µL of substrate was added to each well, similar to the previous steps, and kept at 37°C for 15 minutes. Finally, 50 µL of stop solution was added to the wells and the amount of protein was determined using a microplate reader. Data were analyzed using SPSS software.

Results

The findings of this study showed that the percentage of cells expressing the Olig2 marker (P=0.043) and Mog (P=0.039) in brain sections was significantly higher in the bromelain-treated group than in the cuprizone group; however, there was no significant difference compared to the sham and control groups.

Additionally, the percentage of cells expressing these markers in the cuprizone group was significantly reduced compared to the control and sham groups. The results of the ELISA technique also showed that the mean serum levels of the inflammatory factors IFN-γ (P=0.0091) and IL-17 (P=0.0083) in the cuprizone-treated group were significantly increased compared to the other groups. In addition, in the bromelain-treated groups, the serum levels of the anti-inflammatory factors TGF-β (P=0.041) and IL-10 (P=0.046) were significantly increased compared to the cuprizone group.

Moreover, the mean serum levels of anti-inflammatory factors in the cuprizone group were significantly reduced compared to the sham and control groups.

Conclusion

According to the results, cuprizone can increase cell death by increasing the serum levels of inflammatory factors IFN-γ and IL-17. Previous studies have proven that the serum levels of pro-inflammatory cytokines such as IFN-γ increase significantly as an initial response to treatment with

cuprizone. The administration of cuprizone by gavage increased immune responses and lymphocyte stimulation, leading to an increase in the levels of pro-inflammatory cytokines such as IFN-γ. Following the use of bromelain, the mean number of cells expressing Olig2 and Mog markers increased significantly compared to the cuprizone group.

It can be said that by increasing serum levels of IL-10 and increasing TGF-β signaling, bromelain can create a key pathway to limit cuprizone-induced inflammation, and by increasing serum levels of anti-inflammatory cytokines and inhibiting inflammatory factors, it can maintain the oligodendrocyte population.

رهنما و قاسمی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۵؛ ۴۸(۳):
doi:10.34172/mj.026.35345
https://mj.tbzmed.ac.ir

مقاله پژوهشی

اثرات بروملین بر سطح سرمی فاکتورهای التهابی، ضدالتهابی و پیشگیری از مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی در مغز

In Press

شراره رهنما[1]، ناظم قاسمی[*2]

[1]دانشجوی دکتری تخصصی، دانشکده پزشکی،گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[2]گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۱۱
اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۲/۱۲
پذیرش: ۱۴۰۵/۲/۱۴۱
انتشار برخط: ۱۴۰۵/۴/۱۰

کلیدواژه ها:
- فاکتورهای ضدالتهابی
- فاکتورهای التهابی
- الیگودندروسیت
- بروملین

چکیده

زمینه. از عوامل مؤثر در شیوع بیماری‌های مرتبط با میلین می‌توان به اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها، التهاب و کاهش سنتز پروتئین‌های مرتبط با میلین اشاره کرد. بروملین با داشتن اثرات ضدالتهابی نقشی مهم در پیشگیری از آسیب‌های عصبی دارد. در مطالعه حاضر اثرات بروملین بر سطح سرمی فاکتورهای التهابی، ضدالتهابی و پیشگیری از مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی در مغز موش سوری مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌کار. موش‌های سوری نژاد C57BL/6 به‌طور تصادفی در گروه‌های کنترل، شم، کاپریزون، بروملین/کاپریزون قرار گرفتند. مرگ الیگودندروسیت‌ها و تغییرات سطح سرمی فاکتورهای التهابی-ضدالتهابی توسط کاپریزون القا شد. بروملین روزانه ۴۰ mg/kg در گروه مربوطه گاواژ شد. ارزیابی سطوح سرمی فاکتورهای التهابی- ضدالتهابی با روش ELISA و بررسی الیگودندروسیت‌ها با روش ایمونوهیستوشیمی انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون One Way ANOVA تحلیل شدند.

یافته‌ها. میانگین سطح سرمی فاکتورهای التهابی در گروه کاپریزون به شکل معناداری افزایش و در گروه دریافت‌کننده بروملین کاهش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۴۶). علاوه‌بر این، میانگین سطح سرمی فاکتورهای ضدالتهابی و میانگین درصد سلول‌های Olig2 و Mog مثبت در گروه کاپریزون نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌دار (P=۰/۰۳۹) و در گروه دریافت‌کننده بروملین نسبت به گروه‌های کنترل و شم بدون تفاوت گزارش گردید.

نتیجه‌گیری. بروملین با اثرات ضدالتهابی می‌تواند نقش مهمی در پیشگیری از مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی داشته باشد. لذا می‌توان از این ترکیب جهت پیشگیری از التهاب، مرگ سلول‌های میلین‌ساز و تخریب بافت میلین بهره برد.

پیامدهای عملی. برملین به‌دلیل داشتن اثرات ضدالتهابی و محافظت‌کنندگی عصبی می‌تواند نقش بسیار مهمی در پیشگیری و درمان بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی داشته باشد.

مقدمه

بیماری‌های دمیلینه‌کننده التهابی، گروه ناهمگنی از اختلالات عصبی هستند که در پس‌زمینه یک فرآیند التهابی حاد یا مزمن رخ می‌دهند. وجود ضایعات دمیلینه کانونی با حفظ نسبی آکسون و آستروگلیوز مشخصه پاتولوژیک اصلی این اختلالات محسوب می‌شود.[1] پلاک‌های دمیلینه در ماده سفید و خاکستری قشر مغز، مخچه و هسته‌های ساقه مغز بوجود می‌آیند و تخریب آکسون و نورون در این ضایعات یک بستر اصلی برای نقص عصبی دایمی در بیماران به‌وجود میآورد. عوامل گوناگونی در بروز این بیماری‌ها دخیل هستند که از جمله آنها می‌توان به استعداد ژنتیکی فرد و عوامل محیطی اشاره کرد.[2] التهاب مغز به‌دلیل انفیلتراسیون سلول‌های ایمنی و سیتوکین‌های مربوطه علت اولیه آسیب معرفی شده است.[3] به‌دنبال نفوذ سلول‌های لنفوسیتی و ماکروفاژها، نواحی مختلفی از التهاب در سیستم عصبی مرکزی ایجاد می‌شود و در نتیجه، مرگ الیگودندروسیت‌ها و تخریب غشا میلین رخ می‌دهد. همچنین، در بخش‌هایی از سیستم عصبی مرکزی پلاک‌هایی متشکل از سلول‌های لنفوسیتی، آکسون‌های بدون میلین و تخریب‌شده و سلول‌های آستروسیت تشکیل می‌شود که با انتقال صحیح ایمپالس‌های عصبی تداخل خواهد داشت.[4] راهکارهای درمانی اولیه برای این بیماری بر پایه استفاده از

* نویسنده مسؤول؛ ایمیل: n_ghasemi@med.mui.ac.ir

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز CC BY 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

داروها و یا ترکیبات طبیعی ضدالتهابی و تعدیل‌کننده ایمنی قرار داده شده است.

در حال حاضر، به‌منظور بررسی عوامل محیطی موثر در تخریب بافت عصبی و روش‌های پیشگیری از آن از مدل‌های حیوانی، استفاده از عومل توکسیک و یا ترکیبات محافظت‌کننده عصبی استفاده می‌شود. از جمله این ترکیبات می‌توان به ترکیب سمی کاپریزون اشاره کرد. کاپریزون نوعی شلاتور مس است که با ایجاد اختلال در متابولیسم انرژی سلول‌های الیگودندروسیتی شرایط آپوپتوز این سلول‌ها را فراهم می‌کند و باعث تخریب بافت میلین می‌شود. به‌منظور بررسی آسیب‌های ایجاد شده در بافت عصبی، معمولا از نشانگرهای سطحی خاص سلول‌های عصبی و بافت میلین نظیر پروتئین پایه میلین استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر به‌منظور القا التهاب و مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی و همچنین جهت بررسی اثرات احتمالی ترکیب برومولین در پیشگیری از مرگ الیگودندروسیت‌ها و سرکوب التهاب از ترکیب کاپریزون استفاده شد.

ترکیبات طبیعی با اثرات محافظت‌کننده عصبی، تعدیل‌کننده ایمنی و سرکوب‌کننده التهاب می‌توانند اثرات سمی ناشی از پاتوژن‌های محیطی را کاهش دهند. برومولین یک آنزیم پروتئولیتیک و پلیمری محلول در آب است که به‌صورت تجاری از ساقه میوه یا آناناس به‌دست می‌آید. این ترکیب به‌دلیل داشتن اثرات ضدالتهابی احتمالا قادر است فرایند تخریب بافت میلین را به تعویق اندازد. مکانیسم اثرات فیزیولوژیکی برومولین شامل تقابل با التهاب، تعدیل ایمنی، اثر بر سیگنال‌های سلولی، مسیرها و مولکول‌های انعقادی و همچنین تأثیر بر آنتی‌ژن‌های سطح سلول است.[5] داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز، باعث کاهش سطوح پروستاگلاندین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی می‌شوند و به‌طور انتخابی تولید ترومبوکسان التهابی را مهار می‌کنند.[6] اما برومولین در انسان می‌تواند بدون تجزیه و بدون اینکه خاصیت بیولوژیک خود را از دست بدهد جذب شود. بنابراین، برومولین یک مکمل غذایی است که می‌تواند به‌عنوان جایگزین داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی استفاده شود و به‌عنوان کمک‌کننده در درمان بیماری‌های التهابی مزمن، بدخیم و خودایمنی به‌کار برده شود.[7]

از آنجایی‌که استفاده از داروهای سرکوب‌کننده ایمنی و ضدالتهاب غیراستروئیدی عوارض زیادی در بدن دارد، استفاده از ترکیبات طبیعی جایگزین می‌تواند نقش مهمی در درمان بیماری‌های تخریب‌کننده ایمنی داشته باشد؛ بنابراین، برومولین را می‌توان نوعی مکمل غذایی جایگزین برای داروهای سرکوب‌کننده ایمنی و ضدالتهاب غیراستروئیدی در نظر گرفت و در درمان بیماری‌های التهابی مزمن، بدخیم و خودایمنی از آن بهره برد.

بررسی اثرات برومولین در پیشگیری از مرگ سلول‌های سازنده میلین تاکنون انجام نشده است. با توجه به شیوع فراوان بیماری‌های تخریب‌کننده نورونی و طیف وسیع عملکرد برومولین و به لحاظ اینکه برومولین قادر است از سد خونی-مغزی عبور کند، بررسی اثرات آن بر سطح سرمی فاکتورهای التهابی، ضدالتهابی و پیشگیری از مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی در مغز موش سوری ضروری است.

روش‌کار

ضمن رعایت کلیه قوانین مربوط به کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، تعداد ۲۰ عدد موش سوری نژاد C57BL/6 به‌صورت تصادفی در چهار گروه ۵ تایی شامل گروه‌های کنترل (تغذیه طبیعی)، شم (تغذیه طبیعی، گاواژ با ۲۰۰ میکرولیتر روغن ذرت)، کاپریزون و کاپریزون/برومولین تقسیم شدند. بعد از یک هفته نگهداری موش‌ها در شرایط غذایی و محیطی استاندارد به منظور القا مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی، از گاواژ ۴۰۰ میلی‌گرم کاپریزون محلول در روغن ذرت به مدت چهار هفته استفاده شد.[8,9] در گروه دریافت‌کننده برومولین، این ترکیب به میزان ٤٠mg/kg و با فاصله زمانی از گاواژ کاپریزون و به مدت ٤ هفته، روزانه استفاده شد.[10,11] در پایان مطالعه موش‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین بیهوش شدند و پس از نمونه‌گیری خون، مغز آن‌ها با روش پرفیوژن قلبی و با استفاده از PBS سرد و پارافرمالدهید ٤درصد سرد فیکس گردید. در ادامه مغز از جمجمه خارج شد و به مدت یک شبانه روز در دمای ٤ درجه درون پارافرمالدئید ٤درصد مجدداً فیکس گردید. به‌منظور انجام تکنیک ایمونوهیستوشیمی،[12-14] مقاطع پارافینه با ضخامت ۵ میکرومتر از مغز تهیه شد و بعد از بازیابی آنتی‌ژن‌ها، تکنیک ایمونوهیستوشیمی برای تعیین درصد سلول‌های بیان‌کننده آنتی‌ژن‌های سطحی Olig2 و Mog انجام شد. در این روش از آنتی‌بادی اولیه Anti Olig2 و Anti Mog و آنتی‌بادی‌های ثانویه متصل به فلوئورسنس، استفاده گردید. بعد از اتمام انکوباسیون با آنتی‌بادی‌ها، رنگ‌آمیزی هسته‌ها با استفاده از DAPI انجام گرفت. جهت تعیین درصد سلول‌های بیان‌کننده مارکر ویژه سلول‌های الیگودندروسیتی، حداقل ۲۰۰ سلول در ۵ فیلد شمارش گردید و درصد سلول‌های بیان‌کننده این مارکرها گزارش شد. لازم به ذکر است که کلیه بررسی‌های ایمونوهیستوشیمی برای هر نمونه سه بار تکرار گردید.

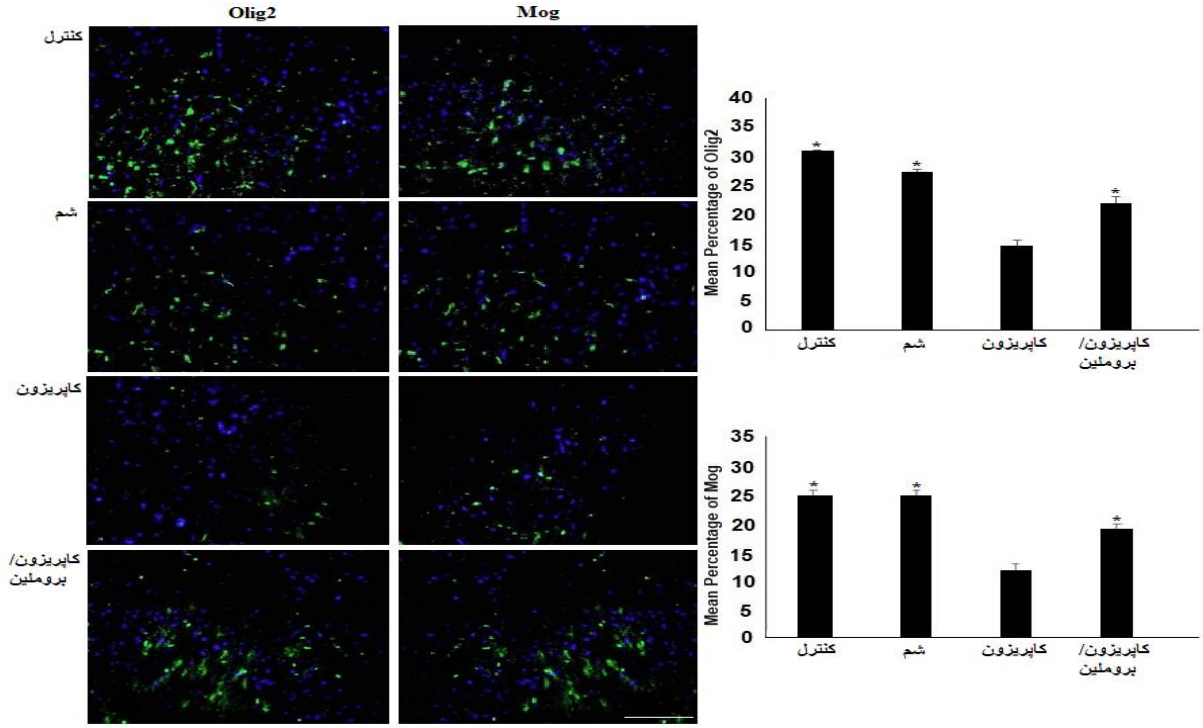
پس از خون‌گیری، برای جداسازی سرم، سانتریفوژ نمونه‌های خونی انجام شد و سرم تهیه شده جهت انجام الیزا مطابق با روش ارایه شده توسط شرکت سازنده انجام گرفت. بدین منظور ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد به‌درون چاهک‌ها بجز چاهک بلانک قرار داده شد و سپس ۵۰ میکرولیتر سرم به چاهک‌ها اضافه گردید. بعد از قرار دادن نمونه‌ها بر روی شیکر با ۲۰۰ دور در دقیقه و گذشت ۵۰ دقیقه، محلول موجود در چاهک‌ها آسپیره شد و پس از شستشو ۵۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی کونزوگه به هر چاهک (بجز چاهک بلانک) اضافه گردید. پس از انکوباسیون ۵۰ دقیقه‌ای بر روی شیکر، فرآیند آسپیراسیون/شستشو تکرار شد. سپس، ۵۰ میکرولیتر از محلول HRP-Avidin به نمونه موجود در چاهک‌ها (بجز بلانک) اضافه و ۳۰ دقیقه بر روی شیکر قرار داده شد. بعد از آسپیراسیون/شستشو مشابه با مراحل قبلی، ۵۰ میکرولیتر سوبسترا به هر چاهک اضافه و ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دور از نور نگهداری شد. در پایان ۵۰ میکرولیتر محلول توقف به چاهک‌ها اضافه گردید و به کمک دستگاه میکروپلیت خوان، مقدار پروتئین موجود در هر نمونه در طول موج ۴۵۰ نانومتر مشخص شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و تست تعقیبی Tokey انجام گرفت. مقدار $P<0.05$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

لازم به ذکر است که بررسی سطوح سرمی فاکتورهای التهابی و ضدالتهابی برای هر نمونه سه بار تکرار گردید.

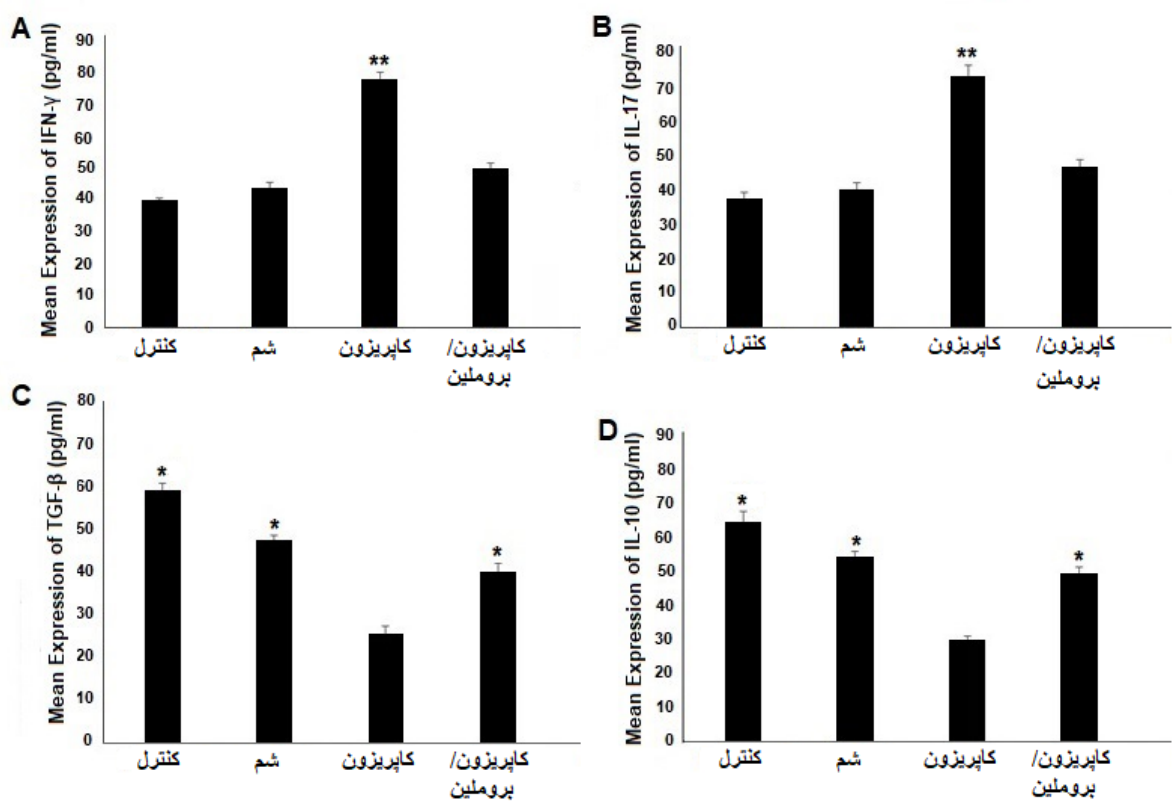
یافته‌ها

نتایج نشان داد که درصد سلول‌های بیان‌کننده مارکر Olig2 ($P=0.043$) و Mog ($P=0.039$) در مقاطع مغزی، در گروه تحت تیمار با بروملین نسبت به گروه کاپریزون به‌صورت معنی‌داری بالاتر بود؛ اما در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. همچنین، درصد سلول‌های بیان کننده این مارکرها در گروه کاپریزون نسبت به گروه‌های کنترل و شم به‌صورت معنی‌داری کاهش داشت (شکل ۱).

همچنین، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که میانگین سطح سرمی فاکتورهای التهابی IFN-γ ($P=0.091$) و IL-17 ($P=0.083$) در گروه دریافت‌کننده کاپریزون نسبت به سایر گروه‌ها به شکل معنی‌داری افزایش یافته است. در گروه‌های دریافت‌کننده بروملین نیز سطح سرمی فاکتورهای ضدالتهابی TGF-β ($P= 0.041$) و IL-10 ($P= 0.046$) در مقایسه با گروه کاپریزون به‌صورت معنی‌داری افزایش یافته است. از سوی دیگر، میانگین سطح سرمی فاکتورهای ضدالتهابی در گروه کاپریزون نسبت به گروه‌های شم و کنترل به‌صورت معنی‌داری کاهش داشت (شکل ۲).



شکل ۱. مقایسه میانگین بیان مارکر Olig2 و Mog با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی. بیان مارکر Olig2 و Mog در گروه کاپریزون نسبت به سایر گروهها کمتر می‌باشد (* بیانگر $P\leq 0.05$ می‌باشد).



شکل ۲. تکنیک ELISA و مقایسه‌ی میانگین بیان فاکتورهای التهابی- ضدالتهابی. میانگین سطح سرمی IFN-γ و IL-17 در گروه دریافت کننده کاپریزون نسبت به سایر گروهها به شکل معنی داری افزایش ($P\leq$۰/۰۱) و سطح سرمی فاکتور های TGF-β و IL-10 کاهش یافته است ($P\leq$۰/۰۵) (شکل ۲). (*بیانگر$P\leq$۰/۰۵ و ** بیانگر$P\leq$۰/۰۱ می‌باشد).

بحث

نتایج مطالعات مختلف در مورد بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی نظیر بیماری آلزایمر، پارکینسون، اسکلروز جانبی آمیوتروفیک، هانتینگتون و مولتیپل‌اسکلروزیس نشان داده است که التهاب نه تنها نتیجه تخریب عصبی است، بلکه نقش مهمی در شروع این فرآیند دارد.[۱۵] التهاب عصبی ناشی از تغییرات ژنتیکی در سلول‌های عصبی مرکزی یا سلول‌های ایمنی محیطی ممکن است باعث رسوب پروتئین در برخی از جمعیت‌های حساس شود.[۱۶] نتایج مطالعات نشان داده است که مسیرهای سیگنال‌دهی متعدد و طیف وسیعی از سلول‌های سیستم عصبی مرکزی در پاتوژنز تخریب عصبی دخیل هستند. با توجه به موفقیت محدود روش‌های درمانی سنتی، مسدود یا تقویت کردن مسیرهای سیگنالینگ التهابی درگیر در تخریب عصبی، استراتژی‌های امیدوارکننده‌ای برای درمان بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی به‌وجود آورده است و بسیاری از آنها نتایج هیجان‌انگیزی را در مدل‌های حیوانی یا آزمایش‌های بالینی نشان داده‌اند. در پژوهش حاضر، اثرات بروملین به‌عنوان یک ترکیب طبیعی با طیف وسیع اثرات ضدالتهابی و محافظت‌کنندگی عصبی بر سطح سرمی فاکتورهای التهابی، ضدالتهابی و پیشگیری از مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی در مغز موش سوری گاواژ شده با ترکیب سمی کاپریزون مورد بررسی قرار گرفت.

بروملین نوعی آنزیم پروتئولیتیک محلول در آب است که از ساقه آناناس استخراج می شود و به‌دلیل داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی قادر است فرایندهای التهابی و استرس اکسیداتیو را مهار کند. بعد از هضم بروملین در سیستم گوارشی، پپتیدهای مشتق‌شده از آن می‌توانند به‌راحتی از سد خونی-مغزی عبور کنند و اثرات خود را به شکل مستقیم در بافت مغزی اعمال کنند.

همان‌طوری که در شکل ۲ دیده می‌شود، با گاواژ کاپریزون سطح سرمی IFN-γ و IL-17 به‌صورت قابل‌توجهی افزایش پیدا می‌کند. در گروه دریافت‌کننده بروملین نیز، سطح سرمی فاکتورهای ضدالتهابی TGF-β و IL-10 در مقایسه با گروه کاپریزون به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. هم‌راستا با این نتایج، مطالعه‌ای گزارش کرد که سطح سرمی سایتوکین‌های

پیش‌التهابی نظیر IFN-γ به‌عنوان پاسخ اولیه به درمان با کوپریزون در طول دوره دمیلینه‌سازی افزایش قابل‌توجهی پیدا می‌کند.[۱۷] به‌دنبال گاواژ کاپریزون افزایش پاسخ ایمنی وابسته به لنفوسیت‌های T و تحریک لنفوسیت‌های B منجر به افزایش سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی نظیر IFN-γ می‌شود. در پژوهش حاضر به دنبال مصرف بروملین سطح IFN-γ کاهش پیدا کرده است. در راستای نتایج مطالعه حاضر، در سال ۲۰۲۱ اثبات شد که درمان زودهنگام با بروملین ممکن است با کاهش پاسخ التهابی مرتبط با بیماری، پیشرفت بیماری پارکینسون را کاهش دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که بروملین را می‌توان برای مطالعات بالینی بیشتر در نظر گرفت و حتی می‌تواند به‌عنوان درمان پیشگیرانه برای بیماران مبتلا به پارکینسون مورد استفاده قرار گیرد.[۱۸]

اینترلوکین ۱۷ یک سیتوکین اختصاصی سلول‌های Th17 است. سطح سرمی IL-17 در شرایط التهابی سیستم عصبی مرکزی، از جمله پس از سکته مغزی و مولتیپل اسکلروزیس به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد. در مطالعات مختلف، سمیت مستقیم IL-17 بر سلول‌های دودمان الیگودندروسیتی و مهار تمایز سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیتی شناسایی شده است. نتایج مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۱ نشان داد که IL-17 باعث اختلال در بازسازی میلین و افزایش آسیب میلین با واسطه کانال پتاسیمی وابسته به ولتاژ می‌شود.[۱۵] بنابراین، مسدود کردن کانال‌های پتاسیمی به‌عنوان یک استراتژی درمانی بالقوه برای بیماری‌های التهابی عصبی ممکن است تا حدی به محافظت مستقیم بر تکثیر و تمایز سلول‌های الیگودندروسیتی نسبت داده شود. لذا در توجیه کاهش میانگین درصد سلول‌های بیان‌کننده مارکرهای ویژه سلول‌های الیگودندروسیتی (شکل ۱)

در گروه دریافت‌کننده کاپریزون نسبت به سایر گروه‌ها را می‌توان به افزایش سطح سرمی فاکتورهای IFN-γ و IL-17 نسبت داد. در راستای این نتایج، بختیاری و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان دادند که گاواژ کاپریزون باعث مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی و تخریب بافت میلین می‌شود و استفاده از عوامل نوروتروفیک می‌تواند از این روند پیشگیری کند.[۱۴] علاوه بر این، در سال ۲۰۲۱ لطفی و همکاران نشان دادند که استفاده از ترکیبات محافظت‌کننده عصبی نظیر آستاگزانتین می‌تواند از مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی القا شده با کاپریزون پیشگیری کند.[۲۰]

مطالعات نشان داده‌اند که TGF-β مستقیماً محافظت‌کننده عصبی است و می‌تواند به انواع سلول‌های اصلی مغز، از جمله آستروسیت‌ها نیز سیگنال دهد. علاوه بر این، سیگنال‌دهی TGF-β آستروسیتی پس از سکته مغزی، التهاب عصبی را کاهش می‌دهد و عملکرد عصبی را حفظ می‌کند.[۲۱] TGF-β از طریق اتصال به گیرنده‌های خود باعث فسفوریلاسیون گیرنده‌های Smad می‌شود و TGF-β در نهایت با سرکوب التهاب به فرایند رمیلینیشن کمک می‌کند.[۲۲]

عملکردهای ضدالتهابی IL-10 شامل مسدود کردن فعالیت سلول‌های Th17 و مهار تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند TNF-α، IL-1 و IFN-γ است.[۲۳] همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، به دنبال استفاده از بروملین میانگین درصد سلول‌های بیان‌کننده مارکرهای Olig2 و Mog نسبت به گروه کاپریزون افزایش قابل‌توجهی داشته است. در توجیه این افزایش می‌توان گفت که احتمالا بروملین با افزایش سطح سرمی IL-10 و افزایش سیگنال‌دهی TGF-β، یک مسیر کلیدی برای محدودکردن التهاب ناشی از کاپریزون را ایجاد کرده است و با افزایش سطح سرمی سایتوکین‌های ضدالتهابی و مهار عوامل التهابی باعث حفظ جمعیت سلول‌های الیگودندروسیتی شده است.

در راستای این نتایج، در یک مطالعه حیوانی سطح سیتوکین‌های IFN-γ، IL-1α، IL-2 ، IL-5، IL-6، IL-10، IL-17، TNF-α در نمونه‌های پلاسما موش‌های گاواژ شده با کاپریزون مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه سطح سلول‌های T بالغ و فعال، سلول‌های T تنظیم‌کننده، سلول‌های کمکی T و سلول‌های B بالغ و سیتوکین‌های پیش‌التهابی در طول دمیلینه‌سازی افزایش و با حذف کاپریزون از رژیم غذایی کاهش یافته است. گرچه نقش سلول‌های تولیدکننده IgA هنوز به‌طور کامل نامشخص است، مطالعات نشان می‌دهند که IgA تولید شده ممکن است در میلین‌سازی مجدد کمک‌کننده باشد. از طرفی دیگر، به‌نظر می‌رسد IL-6 در MS نقش محافظت‌کننده عصبی دارد و بیان بیش از حد IL-6 شدت دمیلیناسیون را در درمان با کاپریزون کاهش می‌دهد.[۲۴]

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، می توان نتیجه گرفت که کاپریزون با افزایش سطح سرمی فاکتورهای التهابی IFN-γ و IL-17، قادر است باعث افزایش مرگ سلولی شود. همچنین، بروملین با اعمال اثرات ضدالتهابی و افزایش سطح سرمی فاکتورهای TGF-β و IL-10 ضمن سرکوب اثرات سمی کاپریزون، از مرگ سلول‌های الیگودندروسیتی پیشگیری کرده است.

قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامه دانشجویی دوره دکترای تخصصی علوم تشریحی به شماره 3402559 مصوب معاونت محترم دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. نویسندگان از مسؤولین محترم دانشگاه صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنند.

مشارکت پدیدآوران

شراره رهنما: جستجوی مقالات، نوشتن پروپوزال و انجام کار عملی و دکتر ناظم قاسمی: ایده‌پردازی، تجزیه و تحلیل داده‌ها، نظارت بر انجام کار عملی و نوشتن مقاله را بر عهده داشتند.

منابع مالی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شده است.

دسترسی پذیری داده‌ها

داده‌ها در صورت درخواست معقول از نویسنده مسؤول قابل دسترسی است

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر بر اساس مقررات نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی و با تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با شناسه IR.MUI.AEC.1402.073 انجام شد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

References

1. Dugger BN, Dickson DW. Pathology of neurodegenerative diseases. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2017;9(7):a028035. doi: 10.1101/cshperspect.a028035.
2. Armstrong R. What causes neurodegenerative disease? Folia neuropathologica. 2020;58(2):93-112. doi: 10.5114/fn.2020.96707
3. Ghasemi N, Razavi S, Mardani M, Esfandiari E, Salehi H, Zarkesh Esfahani SH. Transplantation of human adipose-derived stem cells enhances remyelination in lysolecithin-induced focal demyelination of rat spinal cord. Molecular biotechnology. 2014;56(5):470-8. doi: 10.1007/s12033-014-9744-2
4. Loma I, Heyman R. Multiple sclerosis: pathogenesis and treatment. Current neuropharmacology. 2011;9(3):409-16. doi: 10.2174/157015911796557911
5. Lee JH, Lee JB, Lee JT, Park HR, Kim JB. Medicinal effects of bromelain (Ananas comosus) targeting oral environment as an anti-oxidant and anti-inflammatory agent. J. Food Nutr. Res. 2018;6(12):773-84. doi: 10.12691/jfnr-6-12-8
6. Chakraborty AJ, Mitra S, Tallei TE, Tareq AM, Nainu F, Cicia D, et al. Bromelain a potential bioactive compound: a comprehensive overview from a pharmacological perspective. Life. 2021;11(4):317. doi: 10.3390/life11040317
7. Kwatra B. A review on potential properties and therapeutic applications of bromelain. World J. Pharm. Pharm. Sci. 2019;8(11):488-500. doi: 10.20959/wjpps201911-14941
8. Zhu K, Sun J, Kang Z, Zou Z, Wu G, Wang J. Electroacupuncture promotes remyelination after cuprizone treatment by enhancing myelin debris clearance. Frontiers in neuroscience. 2017;10:613. doi: 10.3389/fnins.2016.00613.
9. Kopanitsa MV, Lehtimäki KK, Forsman M, Suhonen A, Koponen J, Piiponniemi TO, et al. Cognitive disturbances in the cuprizone model of multiple sclerosis. Genes, Brain and Behavior. 2021;20(1):e12663. doi: 10.1111/gbb.12663.
10. Bahar R, Chegeni MJ, Tahvildari A, Sani M, Khakpour Y, Hashemabady M, et al. Bromelain decreases oxidative stress and Neuroinflammation and improves motor function in adult male rats with cerebellar Ataxia induced by 3-acetylpyridine. Neuropeptides. 2024;107:102455. doi: 10.1016/j.npep.2024.102455.
11. Adu TS, Mabandla MV. Effects of bromelain on motor responses following intra-medial forebrain bundle 6-OHDA injection in rat model of parkinsonism. Metabolic Brain Disease. 2019;34(6):1557-64. doi: 10.1007/s11011-019-00462-9
12. 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. Molecular Biology Reports. 2023;50(2):1617-25. doi: 10.1007/s11033-022-08181-8.

13. 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. The International Journal of Developmental Biology. 2023;67(3):101-8. doi: 10.1387/ijdb.230154ng.
14. 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 sciences. 2021;282:119812. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119812.
15. Stephenson J, Nutma E, van der Valk P, Amor S. Inflammation in CNS neurodegenerative diseases. Immunology. 2018;154(2):204-19. doi: 10.1111/imm.12922.
16. Currais A, Fischer W, Maher P, Schubert D. Intraneuronal protein aggregation as a trigger for inflammation and neurodegeneration in the aging brain. The FASEB Journal. 2016;31(1):5. doi: 10.1096/fj.201601184.
17. 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. Journal of Isfahan Medical School. 2025;43(802):46-52. doi: 10.48305/jims.v43.i802.0046
18. Adu TS, Mabandla MV. Effects of bromelain on striatal neuroinflammation in rat model of parkinsonism. Brain Disorders. 2021;3:100018. doi: 10.1016/j.dscb.2021.100018
19. Liu H, Yang X, Yang J, Yuan Y, Wang Y, Zhang R, et al. IL-17 inhibits oligodendrocyte progenitor cell proliferation and differentiation by increasing K+ channel Kv1. 3. Frontiers in cellular neuroscience. 2021;15:679413. doi: 10.3389/fncel.2021.679413.
20. Lotfi A, Soleimani M, Ghasemi N. Astaxanthin reduces demyelination and oligodendrocytes death in a rat model of multiple sclerosis. Cell Journal (Yakhteh). 2020 ;22(4):565. doi: 10.22074/cellj.2021.6999.
21. Cekanaviciute E, Dietrich HK, Axtell RC, Williams AM, Egusquiza R, Wai KM, et al. Astrocytic TGF-β signaling limits inflammation and reduces neuronal damage during central nervous system Toxoplasma infection. The Journal of Immunology. 2014;193(1):139-49. doi: 10.4049/jimmunol.1303284
22. Kim KH, Han JW, Jung SK, Park BJ, Han CW, Joo M. Kaurenoic acid activates TGF-β signaling. Phytomedicine. 2017;32:8-14. doi: 10.1016/j.phymed.2017.04.008.
23. Goudarzi S, Gilchrist SE, Hafizi S. Gas6 induces myelination through anti-inflammatory IL-10 and TGF-β upregulation in white matter and glia. Cells. 2020;9(8):1779. doi: 10.3390/cells9081779.
24. 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. Molecular neurodegeneration. 2022;17(1):34. doi: 10.1186/s13024-022-00538-8.