(مقالهٔ پژوهشی)

بررسی اثر حفاظتی عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی(*Salvia officinalis*) بر آسیب بافتی و نقص‌های نورولوژیک در مدل سکتهٔ مغزی در موش صحرایی

الهام قاسملو[۱]، مهدی رهنما[۲*]، محمدرضا بیگدلی[۳]

۱-کارشناسی ارشدفیزیولوژی.
۲-دانشیار گروه فیزیولوژی.
۳-دانشیار گروه فیزیولوژی.

۱و۲-گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان، زنجان، ایران.
۳- گروه فیزیولوژی، دانشکدهٔ زیست-شناسی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران.

[*] نویسندهٔ مسؤول:
مهدی رهنما؛گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی،واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۲۱۴۱۳۹۶۹
Email: meh_rahnema@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: پس از برقراری جریان خون مجدد به‌دنبال ایسکمی موضعی در مغز، رادیکال‌های آزاد ایجادشده، سبب مرگ سلولی می‌شوند. گیاه مریم‌گلی دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که می‌تواند از مرگ سلولی جلوگیری کند. به همین دلیل در این مطالعه به بررسی اثر عصارهٔ هیدروالکلی مریم گلی بر حجم آسیب بافتی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک پرداخته خواهد شد.

روش بررسی: در این مطالعهٔ تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۵ گروه هفت‌تایی تقسیم شدند. به گروه کنترل آب مقطر وبه سه گروه دیگر عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی با دوزهای ۵۰، ۷۵ و۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به‌صورت درون صفاقی و به‌مدت ۲۱ روز، تزریق شد.۲ساعت بعد از آخرین تزریق این ۴ گروه به‌مدت ۶۰ دقیقه تحت جراحی شریان میانی مغز MCAO قرار گرفتند و حجم آسیب بافتی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک در آن‌ها بررسی شد.گروه پنجم، گروه شاهد ایسکمی که تیمار و القای ایسکمی در آن‌ها صورت نمی‌گیرد.

یافته‌ها:نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تزریق عصاره در هر سه دوز سبب کاهش حجم آسیب بافتی در ناحیهٔکور (کانون سکتهٔ مغزی)، پنومبرا (ناحیهٔ اطراف کانون سکتهٔ مغزی) و ساب کورتکس و همچنین کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیکنسبت به گروه کنترل گردید($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد مریم‌گلی به‌دلیل کاهش حجم آسیب بافتی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک بتواند طی ایسکمی مغزی اثر حفاظتی بر مغز اعمال کند.

کلید واژگان: مریم‌گلی، آسیب بافتی، نقص‌های نورولوژیک، سکتهٔ مغزی.

دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۲/۱۶ **دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۴/۹/۲** **اعلام قبولی: ۱۳۹۴/۹/۱۰**

مقدمه

سکتهٔ مغزی عمده‌ترین علت مرگ‌ومیر و ناتوانی‌های طولانی‌مدت در بزرگسالان است(۱) و بعد از سرطان و سکتهٔ قلبی یکی از دلایل عمدهٔ مرگ‌ومیر در جهان و اولین عامل از کارافتادگی افراد بالای ۶۵ سال است(۲). به کاهش خون‌رسانی به اندام یا ناحیه‌ای از بدن ایسکمی می‌گویند که باعث کاهش انتقال موادغذایی و اکسیژن به بافت‌ها شده و در نتیجه سبباختلال در عملکرد اندام‌ها می‌شود(۳). در مراحل اولیهٔ ایسکمی مغزی تولید رادیکال‌های آزاد (رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن) افزایش می‌یابد و نقش اصلی را در آسیب‌های ناشی از سکتهٔ مغزی بر عهده دارد. همچنین افزایش این رادیکال‌ها نقش مهمیدر آسیب-های ناشی از خون‌رسانی مجدد به‌دنبال ایسکمی گذرا ایفا می‌کنند(۴). رادیکال‌های آزاد می‌توانند سبب اکسیداسیون بیومولکول‌هایی نظیر: پروتئین‌ها، آمینواسیدها، لیپیدها و دئوکسی‌ریبونوکلئیک‌اسید گردند، که این آسیب‌ها می‌تواند سبب آسیب سلولی و حتی مرگ سلولی شوند. عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن، استرس اکسیداتیو نامیده می‌شود(۵). بافت مغزی به-دلیل دارا بودن اسید چرب‌های اشباع نشدهٔ فراوان که به راحتی دچار پراکسیداسیون می‌گردند و نیز به دلیل مصرف اکسیژن زیاد مستعد آسیب‌های اکسیداتیو است. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مغز ضعیف می‌باشد(۶).

مریم‌گلی با نام علمی ***Salviaofficinalis***، گیاهی است گلدار، نهان‌دانه، دولپه‌ای، پیوسته گلبرگ، از راستهٔ توبی فلورال، راسته فرعی شاه‌پسند، تیرهٔ نعناعیان و جنس سالویا(۷). مریم‌گلی یگ گیاه بوته‌ای بوده و ارتفاع آن ۳۰-۶۰ سانتی‌متر می‌باشد دارای ریشهٔ چوبی و پایا، ساقه‌ای افراشته، انشعابات متعدد،پوشیده از کرک‌های کوتاه پیچیده، برگ‌های ساده، دارای پهنک، مستطیلی شکل و دمبرگ‌دار است(۸). طبق تحقیقات انجام‌شده مریم‌گلی حاوی مواد تلخ، تانن‌های گروه کاتشین (سالویا تانن)، فلاونوئیدها (اپی ژنین، لوتئولین)، اسانس‌های فرار (سینئول، کامفور، آلفا و بتا توجون)، مواد گلیکوزیدی، توکوفرول، اسیدروزمارینیک و اسیدآسکوربیک می‌باشد(۹). در بررسی‌ها مشخص گردید که پیش‌درمانی با عصاره‌های آبی و الکلی ریشهٔ سالویالریفولیا با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، به‌طور قابل-توجهی پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکمپ و عضلهٔ موش صحرایی را به دنبال ایسکمی–ریپرفیوژن کاهش می-دهد(۱۰). حق‌جو و همکاران نشان دادند که عصارهٔ مریم-گلی لاله‌زاری با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی مشابه سیلیمارین، مغز قدامی را از آسیب‌های ناشی از ایسکمی ریپرفیوژن محافظت می‌کند که این اثر حفاظتی به واسطهٔ حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است(۱۱) اسدی و همکاران بیان کردند که گونه‌های متعلق به جنس سالویا به‌دلیل حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند(۱۲).

آنتی‌اکسیدان‌ها یکی از مهم‌ترین موادی هستند که می-توانند اثرات جانبی سکتهٔ مغزی و پیامدهای ناشی از آن را کاهش دهند(۵). مطالعات اشاره‌شده نشان می‌دهد که گونه-های جنس سالویا به‌دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند اثر حفاظتی بر مغز اعمال کنند. از آنجایی که تاکنون اثر عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی (***Salvia officinalis***) بر حجم آسیب بافتی ناشی از ایسکمی مغزی، مورد بررسی قرار نگرفته است، در این مطالعه به بررسی اثر عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی بر حجم آسیب بافتی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک پرداخته شد.

روش بررسی

این مطالعهٔ تجربی در زمستان سال ۱۳۹۳ صورت گرفت. موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدودهٔ وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از مؤسسهٔ انستیتوپاستور کرج خریداری

شدند و در حیوان خانهٔ مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان در قفس‌های مناسب و در محدودهٔ دمایی ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداریشدند و به‌صورت نامحدود به آب و غذا دسترسی داشتند.سپس حیوانات به ۵ گروه که هر کدام شامل ۷ سر موش صحرایی نر بودند، تقسیم شدند: به گروه کنترل آب مقطر، و به سه گروه دیگر عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی به ترتیب با دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم، به‌مدت ۳ هفته به‌صورت درون صفاقی،تزریق شد. آخرین تزریق برای هر حیوان ۲ ساعت قبل از جراحی انجام شد وگروه شاهدایسکمی که تیمار و القای ایسکمی در آن‌ها صورت نگرفت (به این گروه فقط استرس جراحی وارد گردید). تزریق هر روز ساعت ۱۰-۱۱ صبح انجام شد و دوزها(۱۳، ۱۴) و مدت زمان و نحوهٔ تزریق(۱۵) بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شد.

روش تهیهٔ گیاه و عصارهٔ مریم‌گلی: بخش‌های هوایی گیاه در اواخر خردادماه واوایل تیرماه سال ۱۳۹۳ از مزرعه‌ای در یکی از روستاهای شهرستان خدابنده (آبی-سفلی) جمع‌آوری شد.گیاه به‌صورت خودرو در مزرعهٔ یونجه رشد کرده بود. این مزرعه هر ۷ روز یک‌بار به‌مدت ۲ ساعت آبیاری می‌شد. سپس از نظر تاکسونومیکی به تأیید هرباریوم(۲۵۹۱۱۶) دانشکدهٔ علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی زنجان رسید. گیاه جمع‌آوری‌شده در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی-گراد در سایه خشک شده و سپس توسط آسیاب پودر گردید. عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام گرفت (۱۶). مقدار ۵۰ گرم از عصاره با اتانل ۷۰ درصد در ارلن ریخته شد؛ طوری که حلال ۲ سانتی‌متر بالای پودر قرار گیرد.روی ارلن با فویل آلومینیومی پوشانده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. هر دو ساعت یک‌بار با همزن شیشه‌ای مواد مخلوط شد. پس از این مدت توسط کاغذ صافی (واتمن شمارهٔ ۱) محلول صاف شد وجهت حذف حلال در دستگاه روتاری با دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. عصاره پس از غلیظ شدن در آون با دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد تا به عصارهٔ خشک تبدیل شود. با استفاده از آب مقطر غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم تهیه شد.

ایجاد مدل سکتهٔ مغزی: حیوانات بعد از توزین، با داروی کلرالهیدرات (مرک آلمان) بهمیزان۴۰۰میلی‌گرم-برکیلوگرموزنبدنبی‌هوش شده وجراحیمدل‌سازی انسداد شریان میانی مغز یا همان MCAO مطابقدستورالعملالونگاو همکاران انجام گرفت(۱۷). به‌طور خلاصه، تحت جراحی میکروسکوپی،یکنخبخیهنایلون۰-۳ازطریقتنه شریان کاروتیدی خارجی (External Carotid -ECA Artery) وارد رگ شریانی راست شده و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی (Anterior Cerebral -ACA Artery) از میان شریان کاروتیدی داخلی(ICA-Internal Carotid Artery)با پتریگوپالاتینبسته ادامه داده شد.در اثرتماس نخ بخیه و ACA جریان خون از هر طرف بهMCA بسته می‌شود. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت در پیشروی نخ و ورود حدود ۲۰میل‌متر طول نخ از تنه ECA مشخص گردید. بعد از۶۰ دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت. دمای بدن از طریق رکتوم با کمک دماسنج دیجیتالی اندازه‌گیری و حدود ۳۷ درجه نگهداری شد.

ارزیابی حجم آسیب بافتی ناشی از سکتهٔ مغزی: پس از ارزیابی رفتاری، حیوانات تحت بی‌هوشی عمیق قرار گرفته و مغز به سرعت خارج گردیدو در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه در سالین سرد قرار گرفت. سپس مغزهای مورد نظرتوسط ماتریکس مغزی به صورت کرونالو به مقاطع ۲ میلی‌متر برش داده شدند. برش‌های مغزی به-مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۲درصد ۲، ۳، ۵- تری فنیل-تترازولیوم کلراید (TTC، مرک آلمان) در دمای ۳۷ درجهٔ

سلسیوس برای رنگ‌آمیزی حیاتی انکوبه شدند(۱۷). بعد از رنگ‌آمیزی توسط دوربین دیجیتال از برش‌های مغزی عکس گرفته شد و حجم نواحی آسیب‌دیده توسط نرم‌افزار Imag Tools و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید(تصویر ۱):

[(مساحت ناحیهٔ آسیب‌دیده×۲)- (مساحت نیمکرهٔ راست×۲)]- (مساحت نیمکرهٔ چپ×۲)=حجم آسیب بافتی

ارزیابی رفتاری حاصل از سکتهٔ مغزی: معاینه‌های نورولوژیک بعد از ۲۴ ساعت صورت گرفت. در طول ۲۴ ساعت بعد از شروع انسداد تا قربانی شدن حیوان مراقبت-های ویژه انجام گرفت. یافته‌های نورولوژیکی در ۵ مقیاس دسته‌بندی شدند: مقیاس صفر(۰) هیچ‌گونه عارضهٔ نورولوژیک نشان ندادند؛ مقیاس(۱)، نارسایی کامل در انتهای پنجهٔ جلویی چپ (سمت مقابل نیمکرهٔ دچار ایسکمی) که یک نقص نورولوژیک کانونی خفیف؛ مقیاس(۲)، به چپ چرخیدن، نقص نورولوژیک کانونی متوسط؛ مقیاس(۳)، افتادن به سمت چپ، نقص کانونی شدید، درنظر گرفته شد. حیوانات مقیاس(۴) به‌طور خودبخودی نمی‌توانستند راه روند و سطح هوشیاری پایینی داشتند.به موش‌هایی که طی ۲۴ ساعت بعد جراحی می-مردند، در صورتی‌که بعد از رنگ‌آمیزی بخش وسیعی از مغزشان آسیب دیده و مرگ منحصر به سکتهٔ مغزی بود، مقیاس ۵ داده شد(۱۷).

آنالیزهای آماری:تمام آنالیزها به کمک نسخهٔ ۱۸ نرم-افزارSPSS انجام شد. بررسی حجم آسیب بافتی با استفاده از آزمون آنووای (ANONA) یک‌طرفه توسط مقایسهٔ میانگین‌ها به روش LSD انجام شد و نقص‌های نورولوژیک با استفاده از آزمون من‌ویتنی-Mann (Whitney U) مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت.P<۰/۰۵ از لحاظ آماری معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تزریق عصاره سبب کاهش معنادار حجم آسیب بافتیِ (حجم سکتهٔ مغزی) کل در هر سه گروه دریافت‌کنندهٔ عصاره (۷۵،۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل گردید (P<۰/۰۵). همچنین این کاهش معنادار(P<۰/۰۵) در نواحی پنومبرا، کور و ساب‌کورتکس نسبت به گروه کنترل مشاهده شد(تصویر ۲). همچنین تزریق عصاره سبب کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیک در هر سه دوز ۷۵،۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم گردید(P<۰/۰۵).

پیش‌تیماری با عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی، سبب کاهش حجم سکتهٔ مغزی(آسیب بافتی) کل، درهرسه گروه دریافت‌کنندهٔ عصاره، یعنی دوزهای ۵۰میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۱۴۷/۲۳±۳/۹۹)، ۷۵میلی‌گرم‌برکیلوگرم(۱۱۸/۸۵±۲/۹۴) و دوز ۱۰۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۹۵/۰۶±۲/۱۰) نسبت به گروه کنترل (۱۷۶/۶۷±۴/۱۷) گردید(P<۰/۰۰۱) (نمودار۱).

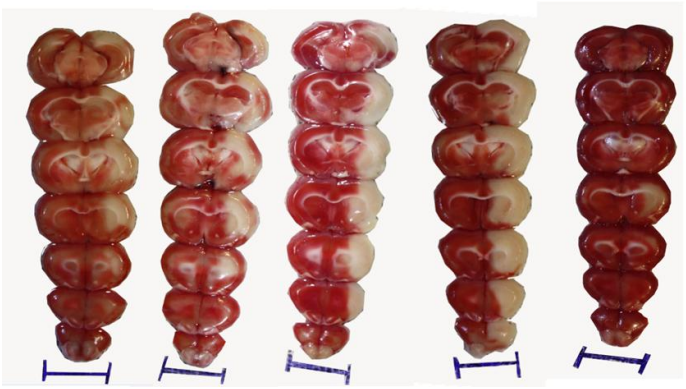
پیش‌تیماری با عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی سبب کاهش حجم آسیب بافتی ناحیهٔ کور در دوزهای ۵۰ میلی-گرم‌برکیلوگرم (۷۴/۸۲±۱/۹۹)، ۷۵ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۵۷/۰۳±۲/۱۱) و ۱۰۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۴۲/۳۷±۳/۶۲) نسبت به گروه کنترل(۸۷/۲۹±۴/۰۷) گردید(به‌ترتیب P=۰/۰۰۹، P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۰۱).همچنین حجم سکتهٔ مغزی در ناحیهٔپنومبرایِ هرسه دوز۵۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۴۲/۰۵±۳/۴۱)، ۷۵میلی‌گرم بر کیلوگرم(۳۹/۸۵±۲/۱۴) و۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم (۲۹/۶۵±۳/۵۵) نسبت به گروه کنترل (۵۲/۴۵±۴/۵۳) کاهش معناداری(به‌ترتیب P=۰/۰۴۷، P=۰/۰۱۸ و P<۰/۰۰۱) نشان داد. پیش‌تیماری با عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی سبب کاهش حجم آسیب بافتی در ناحیهٔ ساب‌کورتکسِ هرسه دوز ۵۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۲۶/۵۱±۳/۴۲)، ۷۵ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۲۱/۹۶±۲/۳۰) و ۱۰۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۱۶/۶۱±۲/۳۲)نسبت به گروه کنترل(۳۶/۹۱±۴/۲۱) گردید(به‌ترتیب P=۰/۰۲۹، P=۰/۰۰۳ و P<۰/۰۰۱).

حجم آسیب بافتی در بخش‌های مختلف مغز(کور، پنومبرا، ساب‌کورتکس) در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم نسبت به دوز ۵۰ کاهش معناداری نشان داد. همچنین حجم آسیب بافتی کل دوز ۱۰۰ نسبت به دوزهای ۵۰ و ۷۵ کاهش معناداری نشان داد(نمودار۲).

پیش‌تیماری با عصارهٔ مریم‌گلی سبب کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیک در دوزهای ۵۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۲/۱۴±۰/۴۰)، ۷۵ میلی‌گرم‌برکیلوگرم (۱/۷۱±۰/۴۲) و ۱۰۰ میلی‌گرم‌برکیلوگرم(۱±۰/۴۴)نسبت به گروه کنترل(۴/۱۴±۰/۳۴)گردید (به‌ترتیب$P=۰/۰۰۷$، $P=۰/۰۰۲$ و $P=۰/۰۰۱$). امتیاز نقص‌های نورولوژیک در دوز ۱۰۰ نسبت به دوز۵۰ نیز کاهش معناداری نشان داد($P=۰/۰۱۱$) (جدول ۱).

تصویر۱: نواحی کور، پنومبرا و ساب‌کورتکس.

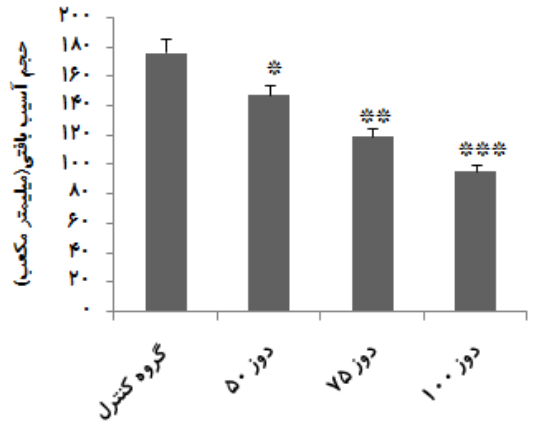
ناحیهٔ کور(۱)، همان کانون ایسکمی مغزی بوده و سلول‌های این ناحیه به صورت برگشت‌ناپذیر آسیب دیده‌اند. ناحیهٔ پنومبرا(۲)، ناحیه‌ای در اطراف کانون ایسکمی مغزی قرار دارد و سلول‌های این ناحیه در صورت درمان به‌موقع، قادر به بازسازی عملکرد طبیعی خود می‌باشند. ناحیهٔ ساب-کورتکس(۳) یا زیرقشری(۱۸).



تصویر۲: برش مغز دچار ایسکمی موضعی

برش‌ها توسط ماتریکس مغزی انجام شده و توسط محلول ۲درصد TTC رنگ‌آمیزی شده‌اند. نواحی سفیدرنگ نشان‌دهندهٔ بخش‌های دچار آسیب مغزی و نواحی قرمز نشان‌دهندهٔ بخش‌های سالم می‌باشد. آسیب بافتی در اثر مصرف عصارهٔ مریم‌گلی کاهش معناداری یافت. خطوط آبی پایین برش‌ها نشان‌دهندهٔ یک سانتی‌متر می‌باشد.

a:گروه شاهد ایسکمی،b:گروه کنترل،c:گروه دریافت‌کنندهٔ دوز ۵۰میلی‌گرم برکیلوگرم،d:گروه دریافت‌کنندهٔ دوز۷۵ میلی‌گرم برکیلوگرم،e:گروه دریافت‌کنندهٔ دوز ۱۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم.

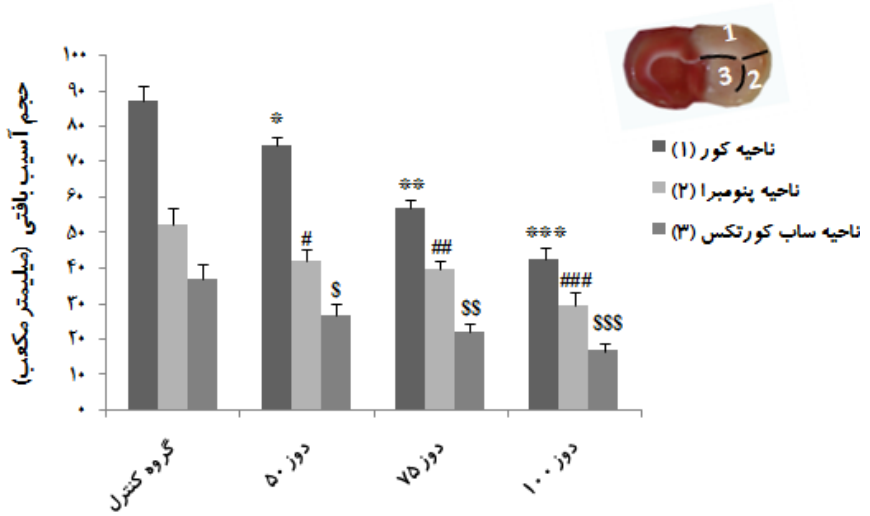


نمودار۱:مقایسهٔ حجم آسیب بافتیِکل. پیش‌تیماری با عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی سبب کاهش حجم آسیب بافتیِ کلگردید.

* اختلاف معنادار در سطح(P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل

** اختلاف معنادار در سطح (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل و دوز ۵۰

*** اختلاف معنادار در سطح(P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل و دوزهای ۵۰ و ۷۵



نمودار ۲: مقایسهٔ حجم آسیب بافتی در نواحی کور، پنومبرا و ساب‌کورتکس. پیش‌تیماری با هر سه دوز عصارهٔ هیدروالکلی مریم‌گلی سبب کاهش معنادار آسیب بافتی در نواحی کور(۱)، پنومبرا(۲) و ساب‌کورتکس(۳) گردید.

*اختلاف معنادار در سطح (P=۰/۰۰۹) نسبت به گروه کنترل

** اختلاف معنادار در سطح (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل و دوز ۵۰

***اختلاف معنادار در سطح (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل و دوز ۵۰ و در سطح (P=۰/۰۰۳) نسبت به دوز ۷۵

#اختلاف معنادار در سطح (P=۰/۰۴۷) نسبت به گروه کنترل

اختلاف معنادار در سطح (P=۰/۰۱۸) نسبت به گروه کنترل

###اختلاف معنادار در سطح (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل و در سطح (P=۰/۰۲۰) نسبت به دوز ۵۰

$ اختلاف معنادار در سطح (P=۰/۰۲۹) نسبت به گروه کنترل

$$ اختلاف معنادار در سطح (P=۰/۰۰۳) نسبت به گروه کنترل

$$$ اختلاف معنادار در سطح (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل و در سطح (P=۰/۰۳۷) نسبت به دوز ۵۰

جدول۱: مقایسهٔ امتیاز نقص‌های نورلوژیک

ردیف	گروه آزمایشی	تعداد کل	نقص‌های نورولوژیک						میانگین
			۰	۱	۲	۳	۴	۵	
۱	کنترل	۷	۰	۰	۰	۲	۲	۳	۴/۱۴
۲	دوز ۵۰	۷	۰	۲	۳	۱	۱	۰	۲/۱۴
۳	دوز ۷۵	۷	۱	۲	۲	۲	۰	۰	۱/۷۱
۴	دوز ۱۰۰	۷	۳	۲	۱	۱	۰	۰	۱
	کل	۲۸	۴	۶	۶	۶	۳	۳	–

نتایج آماری

(P=۰/۰۱۱)و۱:۴ (P=۰/۰۰۱)و ۱:۴(P=۰/۰۰۲)۱:۳ و (P=۰/۰۰۷)۱:۲

ستون چهارم نشان‌دهندهٔ تعداد موش‌هایی است که هرکدام از مقیاس‌ها (صفر تا پنج) را داشته‌اند. پیش‌تیماری با عصاره سبب کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیک در هر سه دوز ۵۰ ، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گردید.

بحث

پیش‌تیماری با عصارهٔ هیدرواکلی مریم‌گلی سبب کاهش معنادار حجم آسیب‌بافتی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک در هر سه گروه دریافت‌کنندهٔ عصاره گردید.

ثابت شده است که روغن‌زیتون به‌دلیل دارا بودن ترکیبان فنولی، مانع تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌گردد و سبب کاهش حجم آسیب بافتی، که در اثر استرس اکسیداتیو ناشی از تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد به‌دنبال ایسکمی ایجاد می‌شود، می‌گردد(۱۹). عصارهٔ گیاه بومادران حجم آسیب بافتی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک ناشی از ایسکمی را کاهش می‌دهد که این اثر را به وجود ترکیبات فیتواستروژنی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی موجود در این گیاه نسبت دادند(۲۰). مشخص شده است که Daidzin (یک ترکیب پلی‌فنولی از گروه ایزوفلاون) به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی از مرگ سلولی پیشگیری کرده و سبب کاهش آسیب بافتی می‌گردد(۲۱). اسطوخودوس دارای فلاونوئیدهای فراوانی است که به‌دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی از مرگ برنامه‌ریزی‌شده ناشی از ایسکمی مغزی جلوگیری کرده و اثر حفاظتی برمغز اعمال می‌کند(۲۲). ثابت شده است حضور ترکیبات فنولی در روغن زیتون سبب پاکسازی رادیکال‌های آزادشده و مرگ سلولی و آسیب بافتی ناشی از سکتهٔ مغزی را کاهش می‌دهد (۲۳). مشخص شده است که ویتامین C، اختلالات نورولوژیک را کاهش می‌دهد. ویتامین C دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و جزو آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی محسوب می‌شود(۲۴).

گیاهان متعلق به جنس سالویا خواص دارویی بر سیستم عصبی مرکزی داشته، که علاوه بر اثر حفاظتی آن بر سیستم عصبی می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی،

ضدتب، آرام‌بخش، خواب‌آور، درمان‌کنندهٔ بیماری‌هایی چون؛ سرماخوردگی، برونشیت، ناراحتی‌های گوارشی، سل وبیماری‌های پوستی و عصبی اشاره کرد(۲۵، ۲۶). فرآیندهای التهابی از جمله عواملی هستند که سبب پدید آمدن محیط شیمیایی زیان‌بار شده و آسیب را افزایش می‌دهند(۲۷).مطالعات نشان می‌دهد که بتا کاریوفیلین موجود در عصاره از ترشح سایتوکاین‌های التهابی مانند فاکتور نکروزدهنده‌ی‌توموری‌آلفا (TNFα)، اینترلوکین‌بتایک (IL_1β) و اینترلوکین۶ (IL-6)، در مراحل اولیهٔ پس از آسیب، جلوگیری می‌کند(۲۸). ثابت شدهاست کوئرستین موجود در این گیاه به‌واسطهٔ کاهش ماکروفاژها در محل آسیب، سبب افزایش عملکردهای حرکتی در موش‌های صحرایی آسیب‌دیده می‌شود(۲۹). از عوامل دیگر مؤثر در مرگ سلولی، رادیکال‌های آزاد هستند.تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد باعث افزایش آسیب به سلول‌ها می‌گردد.موجودات زنده برای حفاظت از این آسیب‌ها باید به مواد آنتی‌اکسیدانی مجهز شود. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش ارزنده‌ای در حفاظت نورونی دارند(۳۰). مشخص شده است که محتوی اسیدآسکوربیک و فنول عصارهٔ برگ مریم‌گلی تولید مالونیل‌آلدئید در غشای سلولی و پراکسیداسیون لیپیدی القاشده توسط نیتروپروساید سدیم را کاهش می‌دهد و همچنین توانایی کاهش رادیکال‌های آزاد را نیز دارد. پس عصاره از بیماری‌های دژنراتیو، در جایی‌که درگیر استرس اکسیداتیو است، جلوگیری می‌کند(۳۰، ۳۱). مطالعهٔ دیگری مشخص کرد که سالویا با مهار آزادسازی گلوتامات، سبب جلوگیری از مرگ نورونی می‌شود، بنابراین این گیاه خاصیت آنتی‌آپوپتوزی دارد(۳۲).در مطالعه‌ای ثابت گردید که مریم‌گلی به‌دلیل حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود آلزایمر می‌گردد(۳۳).رضوی و همکاران نشان دادند که تزریق عصارهٔسالویا کلورولئوکا اثرات حفاظتی بر روی نورون‌های حرکتی آلفای نخاع دارد و این اثر را ناشی از حضور فاکتورهای ترمیمی و رشدی در عصاره دانستند که سبب پیشبرد فرآیند رژنراسیون در نورون‌های آسیب‌دیده و پیشگیری از شدت دژنراسیون می‌شود(۱۴).

ثابت شده است که گونه‌های جنس سالویا خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند و این خاصیت را به وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نسبت دادند(۱۳).

نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌رسد که مریم‌گلیبتواند به‌واسطهٔ کاهش حجم آسیب بافتی و اختلالات نورولوژیک، سبب القای پدیدهٔ تحمل به ایسکمی شده و عوارض ناشی از ایسکمی مغزی را کاهش دهد. از آن‌جایی‌که ثابت شده است سایر اعضای جنس سالویا نیز به‌دلیل حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اثرات حفاظتی بر مغز اعمال می‌کنند (۱۱، ۱۴، ۳۳)، شاید بتوان این اثرات را به حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در این عصاره نسبت داد که با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، مرگ سلولی ناشی از استرس‌اکسیداتیو را کاهش می‌دهند.

قدردانی

بدین وسیله از آقای میثم فروزنده به‌دلیل همراهی ایشان در انجام مراحل مطالعه، دکتر حسین مصطفوی به‌دلیل راهنمایی‌های ایشان در انجام مطالعه، از خانم دنا قمری و خانم معصومه اسلامی به‌دلیل همکاری ایشان در مرکز تحقیقات بیولوژی ودر اختیار قرار دادن امکانات لازم، نهایت سپاس را داریم.

منابع

1-Chinwatanakul S, Boonyapisit K, Pornsriniyom D. Siriraj Acute Stroke Unit:10 years experience. J Med Assoc Thailand 2012Feb; 95(Suppl 2): 235-44.

2-Huang L, Chen N, Ge M, Zhu Y, Guan S, Wang JH. Ca2+ and acidosis synergistically lead to the dysfunction of cortical GABAergic neurons during ischemia. Biochem Biophys Res Commun 2010Apr; 394(3): 709-14.

3-Hadjinikolaou L, Kotidis K, Galinanes M. Relationship between reduced elasticity of extracardiac vesselsand left main stem coronary artery disease. Eur Heart J 2004; 25(6):508–13.

4-Chen H, Yoshioka H, Kim GS, Jung JE, Okami N, Sakata H, "et al". Oxidative stress in ischemic brain damage: mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection. Antioxid Redox Signal2011; 14(8):1505-17.

5-Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev 2010Jul-Dec;4(8):118-26.

6-Mohammadi MT, Amini R, Jahanbakhsh Z, Shekarforoush S. Effects of atorvastatin on the hypertension-induced oxidative stress in the rat brain. Iran Biomed J 2013; 17(3): 152-7.

7-Mossi AJ, Cansian RL, Paroul N, Toniazzo G, Oliveira JV, Pierozan MK, "et al". Morphological characterisation and agronomical parameters of different species of salviasp. Biology 2011Feb; 71(1): 121-9.

8-Ghasemi Pirbalouti A. The third list plants, traditional medicine and ethnoveterinary. Shahrekord: Saman-Danesh; 2009. P. 158–90.

9-Glisic SB, Ristic M, Skala D, Ivanovic J. Extraction of sage (salvia officinalis L.) by supercritical Co2: kinetic data, chemical composition and selectivity of diterpenes. J Superitica Fluids 2010Feb; 52(1):62-70.

10-Hosseinzade H, Hosseini A, Nassiri-Asl M, Sadeghnia HR. Effect of salvia leriifolia benth. Root extracts on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. J BMC Complement Altern Med 2007Jul; 7(23): 1-8.

11-Haghjoo R, Tadjalli M. The Effect of the Oral Administration of Salvia Rhytidia Extract on Neural Cell Numbers of Cerebral Cortex and Hippocampus Following Ischemia-Reperfusion in Rat. Armaghane Danesh 2015; 20(2):138-48.

12-Asadi S, Khodagholi F, Esmaeili MA, Tusi SK, Ansari N, Shaerzadeh F. Chemical composition analysis, antioxidant, antiglycating activities and neuroprotective effects of S. choloroleuca, S. mirzayanii and S. santolinifolia from Iran. Am J Chin Med 2011; 39(3): 615-38.

13-Appelros P, Stegmayr B, Terent A. Sex differences in stroke epidemiology: a systematic review. J Cereb Circul Stroke 2009Apr; 40(4):1082–90.

14-Razavi M, Tehranipour M, Khayatzadeh J.Effects of aqueous extract of Salvia chloroleuca leaves on degeneration ofalpha motoneurons in spinal cord after sciatic nerve compression in rat. J Sharkord J Uni Med Sci 2014; 16(4): 22-30.

15-Shahmohammadi SH, Khosravi M, Hajizadeh A.The effectofof Salvia officinalison catalase and superoxide dismutase activation, in the face ofoxidative stress induced byinjectionof streptozotocin(ICV)inmale rats. Physio Pharmacol J 2013; 17(2): 176-84.

16-Shahmohammadi SH, Khosravi M, Hajizadeh A.The effectofof Salvia officinalismalondialdehydeconcentration, in the face ofoxidative stress induced byinjectionof streptozotocin (ICV)inmale rats. J Azad Tehran Med Sci 2014; 23(4): 225-9.

17-Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke1989Jan; 20(1): 84-91.

18-Mohammadi E, Bigdeli MR. Effects of Preconditioning With Normobaric Hyperoxia On NA+/CA2+ Exchanger In The Rat Brain. Neuroscience 2013May; 237: 277–84.

19-Sarshoori J, Asadi MH, Mohammadi MT. Effect of olive oil on the cerebral reperfusion following ischemia injuries in rats 2014; 21(1): 56-67.

20-Imani E, Esmaili A, Alimohammadi R, Ehsani V, Shamsizadeh A, Mobini M, "et al". Effects of Achillea.millefolium on the Consequences of Stroke in Ovarectomized Rats.J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015;22(6):1725-36.

21-Bozkurt A, Guven M, Akman T, Ozkan A, Murat SH, Duz U, "et al". Neuroprotective effects of daidzein on focal cerebral ischemia injury in rats. Neural Regen Res 2015Jan;10(1):146-52.

22-Azizzadeh Delshad AR, Farzan AR.The Prophylactic Capacity of Nepeta Menthoides (Ostokhodus) in Prevention of Spinal Motoneuron Injury. J Kerman Univ Med Sci 2013; 20(1): 20-30.

23-Rabiei Z, Bigdeli MR, Mohagheghi F. Effect of dietary virgin olive oil on infarct volume and brain ceramide,cerebroside and phosphatidylcholine levels in rat stroke model. J Shahrekord Univ Med Sci 2013Apr-Mar; 15(1): 23-31.
24-Allahtavakoli M, Rezaee H, Kamrany N, Shamsizade A, Moloudi R, Amin F, "et al". Effect of Ascorbic Acid on Infract Volume and Neurological Deficits after the Embolic Model of Stroke in Rat.J Rafsanjan Univ Med Sci 2009;8(1):49-58.
25-Khaliazadeh MA, Esmaeili A, Rustaiyan AH, Eslami B, Masoudi SH. Chemicalcomposition of essential oils of three Salvia species growing wild in Iran. Chem NatCompd 2011Jan; 46(6): 836-37.
26-Imanshahidi M, Hosseinzadeh H.The pharmacological effects of salvia species on thecentral nervous system. Phytother Res 2006Jun; 20(6): 427-37.
27-Jamalpoor Z, Asgari AR., Nourani MR. Skeletal muscle tissue engineering: Present andfuture. J Mil Med 2012; 14(2): 77-84.
28-Cho JY, Chang HJ, Lee SK, Kim HJ, Hwang JK, Chun HS. Amelioration of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by oraladministration of β-caryophyllene sesquiterpene. Life Sci 2007Feb; 80(10): 932-9.
29-Schultke E, Kamencic H, Ghong Z, Griebel RW, Juurlink BH. Quercetin promotesfunctional recovery following acute spinal cord injury. J Neurotrauma 2003Jun; 20(6): 583-91.
30-Oboh G, Henle T. Antioxidant and inhibitory effects of aqueous extracts of salvia officinalis leaves on pro-oxidant-induced lipid peroxidation in brain and liver in vitro. J Med Food 2009Feb; 12(1); 77-84.
31-Lima CF, Andrade PB, Seabra RM, Ferreira FM, Pereira WC. The drinking of a salvia officinalis in fusion improves liver antioxidant status in mice and rats. J Ethopharmacol 2005Feb; 97(2): 383-9.
32-Zeighamy Alamdary SH, Khodagholi F, Shaerzadeh F, Ansari N, Sonboli A, khoramian Tusi SS. Santolinifolia protect PC12 cells from H2O2-induced apoptosis by blocking the intrinsic pathway. Cytotechnology 2012Aug; 64(4): 403–19.
33-Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH, Khani M. Salvia officinalis extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial. J Clin Pharm Ther 2003 Feb; 28(1):53-9.

The Neuroprotective Effect of Hydroalcoholic Extract of *Salvia officinalis* on Infract Volume and Neurologic Deficitsin Rat Ischemic Stroke Model

Elham Ghasemloo[1], Mehdi Rahnema[2*], Mohammad Reza Bigdeli[3]

1-MScPhysiology.
2-Associated Professor of Physiology.
3-Associated Professor of Physiology.

1,2-Department of Physiology,Biology Research Center, Azad University, Zanjan, Zanjan , Iran.
3-Department of Physiology, Faculty of Zyst¬Shnasy, Martyr Beheshti University Tehran, Tehran, Iran.

⁎Corresponding author:
Mehdi Rahnema;Biology Research Center, Azad University Zanjan, Zanjan, Iran.
Tel:+989121413969
Email: meh_rahnema@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: After reperfusion following focal ischemia, free radicals are created, causing cell death. *Salviaofficinalis* contains antioxidant compounds that may prevent cell death process. For this reason, we will examine the protective effect of *Salvia officinalis* extracts of infarct volume and neurological deficit caused by ischemic stroke.

Subjects and Methods: In this experimental study, 35 male Wistar rats were randomly divided into 5 groups of 7 rats in each group. The control group received distilled water, three groups received intraperitoneally hydroalcoholic extracts of *Salvia officinalis* respectively with doses of 50, 75 and 100 mg/kg for 21 days. Four experimental groups underwent 60 min middle cerebral artery occlusion. Two hours after the last administration of *Salvia* extracts, middle cerebral occlusion was induced. Then, infarct volume and neurologic deficits were analyzed. Sham operated groups were not pretreated before induction of brain ischemia.

Results: The results of this study showed that all three doses of the extract reduced the amount of infarct volume in the core, penumbra and subcortex as well as score of neurological deficits was reduced compared with control group ($P<0.05$).

Conclusion: It seems *Salvia officinalis* due by reduction of infarct volumeand neurological disorders, apply the protective effect against stroke damage.

Keywords: *Salvia officinalis*, Infarct Volume,Neurologic Deficits, Stroke.

►*Please cite this paper as:*
Ghasemloo E, Rahnema M, Bigdeli MR. The Neuroprotective Effect of Hydroalcoholic Extract of Salvia officinalis on Infract Volume and Neurologic Deficits in Rat Ischemic Stroke Model. Jundishapur Sci Med J 2016;15(1):35-45.

Received: May 6, 2015 **Revised: Nov 23, 2015** **Accepted: Dec1, 2015**