ORIGINAL ARTICLE

# *Effect of Lavender on Blood Brain Barrier Permeability in Rats Subjected to Ischemia*

Zahra Rabiei[1],
Mostafa Gholami[2],
Mahmoud Rafieian kopaei[3]

[1] MSc in Physiology, Medical Plants Research Center, Faculty of Medical Science, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[2] MSc in Physiology, Clinical Biochemistry Research Center, Faculty of Medical Science , Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[3] Professor, Medical Plants Research Center, Faculty of Medical Science, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

(Received April 7, 2015 Accepted August 24, 2015)

## *Abstract*

**Background and purpose:** Lavender is a medicinal plant with antioxidant activity. Stroke causes long term disability and is associated with oxidative stress. The present study was conducted to evaluate the protective effect of lavender extract against blood brain barrier permeability and its possible mechanisms in an experimental model of stroke.

**Materials and methods:** In this experimental study, 42 male Wistar rats weighing 250 to 300 g were used. The rats were divided into 6 groups (n= 7 per group). Group 1 was ischemic, groups 2 and 3 were ischemic that were given 100 and 200 mg/kg lavender extract, respectively. Group 4 were intact and groups 5 and 6 were intact groups which received lavender extract with dose of 100 and 200 mg/kg. Group 7 was also considered as the sham. Focal cerebral ischemia was induced in rats by the transient occlusion of the middle cerebral artery for 1 hr. Data were analysed with SPSS and comparison of means were compared using One Way Anova.

**Results:** The ethanolic extract of lavender at 200 mg/kg significantly reduced the blood brain barrier permeability in rat stroke model compared with ischemic group.

**Conclusion:** The results indicate that lavender extract has neuroprotective activity against cerebral ischemia and alleviated neurological function in rats.

***Keywords:*** Brain ischemia, reperfusion, *Lavandula officinalis,* blood brain barrier permeability

**J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(129): 46-56 (Persian).**

Archive of SID

www.SID.ir

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۲۹ مهر سال ۱۳۹۴ (۵۶-۴۶)

# اثر اسطوخدوس بر نفوذپذیری سد خونی- مغزی در موش‌های صحرایی در معرض ایسکمی

زهرا ربیعی[۱]
مصطفی غلامی[۲]
محمود رفیعیان[۳]

## چکیده

**سابقه و هدف:** سطوخدوس گیاهی است که خواص آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد. سکته مغزی علت اصلی ناتوانی‌های طولانی مدت در جهان می‌باشد و همراه با استرس اکسیداتیو است. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر حفاظتی عصاره اسطوخدوس در برابر نفوذپذیری سد خونی- مغزی و مکانیسم احتمالی آن در مدل سکته مغزی موش صحرایی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی از ۴۲ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوان‌ها به شش گروه هفت‌تایی تقسیم شدند که عبارت بودند از: ۱. گروه ایسکمی؛ ۲و۳. گروه‌های ایسکمی که دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره را دریافت کردند؛ ۴. گروه کنترل سالم؛ ۵ و۶. گروه‌های سالم که فقط دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره را دریافت کردند؛ و ۷.گروه شم. ایسکمی مغزی کانونی توسط انسدادگذرای شریان مغزی میانی به مدت ۱ ساعت در موش صحرایی القاء شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش One Way Anova مقایسه شد.

**یافته‌ها:** این تحقیق نشان می‌دهد که تیمار موش‌های صحرایی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره باعث یک کاهش معنی‌داری در نفوذپذیری سد خونی- مغزی در مقایسه با گروه ایسکمی شده است.

**استنتاج:** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره اسطوخدوس فعالیت حفاظت مغزی در برابر ایسکمی مغزی دارد و نفوذپذیری سد خونی مغزی را در موش‌های صحرایی در معرض ایسکمی کاهش می‌دهد و مکانیسم آن ممکن است در ارتباط با مهار استرس اکسیداتیو در مغز موش‌های صحرایی باشد.

**واژه های کلیدی:** ایسکمی مغزی، خونرسانی مجدد، نفوذپذیری سد خونی- مغزی، اسطوخدوس

## مقدمه

هر ساله میلیون‌ها نفر از مردم جهان در سنین مختلف دچار سکته مغزی می‌شوند. سکته مغزی سومین علت مرگ و میر در دنیاست(۱). ایسکمی کانونی و گلوبال مغزی از بیماری‌های شایع جوامع بشری هستند. بافت مغزی به دلیل متابولیسم بالا و ذخایر اکسیژن کم حساسیت بسیار زیادی به آسیب ایسکمی دارد(۲). طی ایسکمی، مغز به علت کاهش غلظت اکسیژن به گلیکولیز بی‌هوازی روی می‌آورد که این فرآیند از نظر تامین انرژی ناکارآمد است. به دنبال سکته مغزی رادیکال‌های آزاد زیادی تولید شده و پروستاگلاندین‌های ساخته

**مولف مسئول: محمود رفیعیان**- شهرکرد: دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دانشکده علوم پزشکی E-mail: rafieian@yahoo.com
۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. استاد، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۱/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۴/۳/۱۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۶/۲

Archive of SID
www.SID.ir

شده به اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه غشای پلاسمایی حمله کرده، موجب آسیب و افزایش نفوذپذیری آن می‌شوند(۳). زنجیره تنفسی میتوکندری منبع اصلی برای تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS:reactive oxygen species) است و در پی تخریب عملکرد میتوکندری مرگ سلولی از نوع نکروز اتفاق می‌افتد که همراه با استرس شدید اکسیداتیو است. این استرس اکسیداتیو باعث آسیب به بسیاری از واحدهای سلولی و بافتی می‌گردد(۶-۴). آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو به سلول‌های اندوتلیالی باعث تخریب سد خونی- مغزی و در نتیجه ایجاد ادم مغزی می‌شود(۳). یکپارچگی سد خونی- مغزی (BBB: blood brain barrier) از نورون‌ها محافظت می‌کند و هنگامی که این یکپارچگی از بین می‌رود سلول‌های التهابی و مایع به مغز نفوذ می‌کنند و باعث ادم و مرگ سلولی می‌شوند. نفوذ ناپذیری سد خونی- مغزی توسط سلول‌های اندوتلیال مویرگ‌ها و از طریق اتصالات محکم و بازال لامینای مویرگ‌ها محافظت می‌شود. در طی ایسکمی مغزی تخریب اندوتلیال لایه بازال به زودی و حدود ۲ ساعت پس از شروع ایسکمی آغاز می‌شود و در طی خونرسانی مجدد ادامه یافته و به سرعت با افزایش نفوذپذیری BBB تداوم می‌یابد(۱). منبع اصلی رادیکال‌های آزاد معمولا آسیب میتوکندری‌ها و همچنین ایجاد پاسخ التهابی است(۸،۷،۱). مغز در مقابل این رادیکال‌ها توسط جمع‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون زاد مثل سوپراکسید دیسموتاز(SOD: super oxide dismutase)، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز حفاظت می‌شود(۷). در استرس‌های شدید که آنتی‌اکسیدان‌های درون زاد کافی نباشند آنتی‌اکسیدان‌های برون زاد مثل آسکوربات و آلفا تکوفرول و یا آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی معمولاً برای جلوگیری از آسیب مفید واقع می‌شوند(۱۲-۱۰). گیاه *Lavandula officinalis* که در ایران به اسم اسطوخدوس شناخته می‌شود یکی از گیاهانی است که دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا بوده و به صورت یک گیاه معطر توزیع گسترده‌ای دارد. ترکیبات فراوانی در عصاره این گیاه شناسایی شده‌اند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به ژرانیول، لینالول، لینالیل استات، سینئول، بورنئول، آلفاپینن، کامفور، اسید بوتیریک، اسید والریانیک، اسید اورسالیک و فلاونوئیدهای لوتئولین اشاره کرد(۱۳). در مطالعه ربیعی و همکاران عصاره اتانولی گیاه اسطوخدوس دارای اثرات مثبتی بر روی حافظه فضایی، یادگیری احترازی وتعادل حرکتی درموش صحرایی بوده و از اثرات ضد دردی برخوردار بوده است(۱۴). اسانس اسطوخدوس با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بدن اثرات خوبی بر کاهش میزان التهاب در موش سوری دارد(۱۳). با توجه به اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی گیاه اسطوخدوس، در این مطالعه سعی کردیم علاوه بر سنجش میزان ترکیبات پلی‌فنولی و آنتی اکسیدانی گیاه اسطوخدوس، تاثیر این گیاه بر میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی در مدل سکته‌ی مغزی موش صحرایی را مورد بررسی قرار دهیم.

## مواد و روش ها

*تهیه عصاره*

اندام هوایی گیاه اسطوخدوس تهیه گردید و نمونه‌های مورد نظر توسط گیاه شناس مورد تائید قرار گرفت. مقدار ۵۰ گرم پودر گیاه خشک شده با ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول (۹۶ درصد) به روش ماسراسیون عصاره‌گیری شد. نمونه‌ها پس از گذشت ۴۸ ساعت به وسیله کاغذ واتمن شماره یک صاف شدند. سپس عصاره‌های صاف شده به روش تبخیر در خلاء توسط روتاری تغلیظ شده و بعد از خشک کردن در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش در یخچال در دمای ۴+ درجه سانتی گراد نگهداری شدند(۱۴).

*تعیین ترکیبات فنولی*

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره رقیق شده (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۶۰

Archive of SID

www.SID.ir

درجه) ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول فولین سیوکالتیو (مرک، آلمان) اضافه گردید و پس از ۳ تا ۵ دقیقه مقدار ۰/۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد(مرک، آلمان) اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق جذب نمونه‌ها در مقابل بلانک آب مقطر قرائت گردید. همزمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف اسید گالیک (سیگما، آمریکا) تهیه و منحنی استاندارد تهیه شد. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنول تام هر عصاره بر حسب میلی‌گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید(۱۵).

*حیوانات آزمایشگاهی*

این مطالعه از نوع تجربی بوده و حیوانات با روش تصادفی ساده در گروه‌های مختلف آزمایشی قرار گرفتند. در این مطالعه از ۴۲ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم که از انستیتو پاستور ایران خریداری شده بودند استفاده گردید. حیوانات حین و قبل از مطالعه در شرایط دوازده ساعته تاریکی- روشنایی در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری و با غذای استاندارد موش‌های صحرایی تهیه شده از انستیتو پاستور ایران تغذیه شدند. حیوان‌ها به شش گروه هفت ۷ تایی تقسیم شدند:

گروه کنترل- ایسکمی (Control-ischemia): گروهی که آب مقطر دریافت کرده و تحت ایسکمی مغزی کانونی سمت راست مغز قرار گرفت.

۱- گروه شم(Sham): گروهی که تحت جراحی بدون انسداد شریان مغزی قرار گرفت.

۲- (Ischemia+100): گروهی که تحت جراحی ایسکمی مغزی قرار گرفته و عصاره اتانولی اسطوخدوس را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن(۱۲) دریافت کرد.

۳- (Ischemia+200): گروهی که تحت جراحی ایسکمی مغزی قرار گرفته و عصاره اتانولی اسطوخدوس را با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن(۱۲) دریافت کرد.

۴- (Control-intact): گروهی که تحت هیچ گونه جراحی قرارنگرفته و فقط آب مقطر دریافت کرد و از سرم و بافت مغزشان برای تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

۵- (Intact100): گروهی که تحت هیچ‌گونه جراحی قرار نگرفته و فقط عصاره با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم دریافت کرد و از سرم و بافت مغزشان برای تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

۶- (Intact200): گروهی که تحت هیچ‌گونه جراحی قرار نگرفته و فقط عصاره با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم دریافت کردو از سرم و بافت مغزشان برای تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

عصاره اسطوخدوس به صورت پیش تیمار به مدت ۲۵ روز به روش تزریق داخل صفاقی به حیوانات داده شد و دو ساعت بعد از آخرین تیمار گروه‌های ایسکمی تحت جراحی انسداد شریان مغزی قرار گرفتند و در حین ایسکمی از طریق ورید دم اوانس بلو تزریق شد و ۲۴ ساعت بعد از خونرسانی مجدد میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی آن‌ها اندازه‌گیری گردید. گروه‌های دست نخورده تحت بیهوشی عمیق از قلبشان خونگیری به عمل آمده و بافت مغز (پنومبرای قشر مغزی و کانون قشر مغزی) آن‌ها خارج شده و تست‌های بیوشیمیایی انجام شد(۱۶). در این پژوهش برای پرهیز از دو متغیره شدن مطالعه فقط از گروه های دست نخورده برای انجام تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

*جراحی*

موش‌های صحرایی به وسیله تزریق داخل صفاقی 50 mg/kg کتامین(آلفاسان، هلند) و 5 mg/kg زیلازین (آلفاسان، هلند) بیهوش شدند(۱۷). مدل‌سازی جراحی انسداد شریان میانی مغز (MCAO: middle cerebral artery occlusion) مطابق دستورالعمل لونگا و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد. تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون ۰-۳ که با استفاده از حرارت سر آن گرد شده بود ابتدا وارد شریان کاروتید خارجی و سپس در

Archive of SID
www.SID.ir

ادامه وارد شریان کاروتید داخلی گردید و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی عبور داده شد. در اثر تماس نخ بخیه با شریان مغزی قدامی جریان خون از هر طرف به شریان میانی مغزی بسته شد. بعد از ۶۰ دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت(۱۸).

*اندازه گیری نفوذ پذیری سد خونی-مغزی*

استحکام سد خونی- مغزی توسط اندازه‌گیری میزان خروج اوانس بلو (مرک، آلمان) ارزیابی شد. نخست، موش‌های صحرایی از طریق ورید دم محلول اوانس بلوی ۲ درصد را به اندازه ۴ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد از جریان مجدد خون، موش‌های صحرایی تحت بی‌هوشی از ناحیه قفسه سینه باز شده و با ۲۵۰ میلی‌لیتر سالین از طریق بطن چپ از وجود اوانس بلوی داخل رگی پاک شدند تا زمانی که مایع پرفیوز بی‌رنگ از دهلیز راست خارج شد. سپس مغز خارج گردید. برای اندازه‌گیری میزان خروج اوانس بلو، بافت مغز در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (مرک، آلمان) هموژن شد و برای رسوب پروتئین به آن ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۶۰ درصد (مرک، آلمان) اضافه گردید. سپس ۳ دقیقه با ورتکس هم زده شد و ۳۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد خنک گردید. آن‌گاه به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، جذب نوری اوانس بلو در بخش رویی توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu) درطول موج ۶۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و مطابق منحنی استاندارد غلظت آن محاسبه گردید(۱۶).

*ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی (پلاسما و مغز)*

از میزان مالون دی آلدئید مغزی برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی استفاده شد.

*اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید در پلاسما*

پس از خونگیری و سانتریفیوژ آن در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه (RPM)، به مدت ۱۰ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از نمونه را برداشته و ۵۰ میکرولیتر BHT[1] (0.05%) (مرک، آلمان) به آن اضافه شد. سپس ۴۰۰ میکرولیتر H3PO4 (0.44M) (مرک، آلمان) به آن اضافه کرده و در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر TBA (42mM) (تیوباربیتوریک اسید) (مرک، آلمان) را اضافه و پس از ورتکس کردن به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از آن محلول را ۵ دقیقه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد سرد کرده و سپس 250µl بوتانول نرمال (مرک، آلمان) به آن اضافه کرده و به خوبی ورتکس گردید. پس از سانتریفیوژ کردن (5min , 14000 rpm) 20µl از محلول رویی به دستگاه HPLC تزریق شد(۱۷).

*اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید در مغز*

برای اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید در مغز ۱ میلی‌لیتر از بافت مغز هموژنیزه شده (در ۲/۵ درصد KCl) (مرک، آلمان) سرد گشته و با نسبت ۱۰ درصد در یک لوله شیشه‌ای ۲۰ میلی‌لیتر وارد شد و در دمای $37 \pm 1^{o}c$ در یک شیکر متابولیک به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری گردید. بعد از یک ساعت انکوباسیون، ۱ میلی‌لیتر تتراکلرواستیک اسید ۵ درصد (مرک، آلمان) به همراه ۱ میلی‌لیتر ۶۷ درصد TBA (مرک، آلمان) به آن اضافه شد و بعد از هر مرحله به خوبی مخلوط گردید. ترکیب از هر ویال به یک لوله سانتریفیوژ انتقال داده شد و در ۳۰۰۰ دور در دقیقه (RPM) برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از آن، محلول رویی به لوله دیگری انتقال داده شده و در حمام آب جوش قرار گرفت. بعد از ۱۰ دقیقه لوله‌های آزمایش خنک شده و جذب هر بخش در nm ۵۳۵ اندازه‌گیری شد(۱۹،۱۸).

*آنالیز آماری*

برای تحلیل آماری داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود معنی‌داری از

1. Butylated Hydroxy Toluene

Archive of SID

www.SID.ir

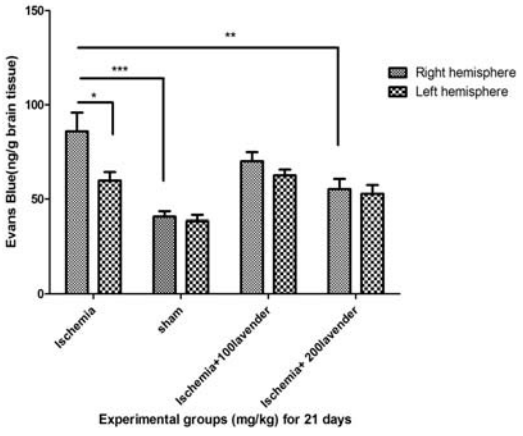
آزمون توکی جهت تعیین سطح تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها استفاده گردید و $p<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظرگرفته شد. نرم‌افزار آماری استفاده شده SPSS 11 بود.

## یافته ها

میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره اسطوخدوس استفاده شده در این مطالعه مورد اندازه‌گیری قرار گرفته و کل پلی فنول‌های آن ۸۰/۸ میلی‌گرم برگرم بود.

*اثر عصاره اسطوخدوس بر نفوذپذیری سد خونی- مغزی*

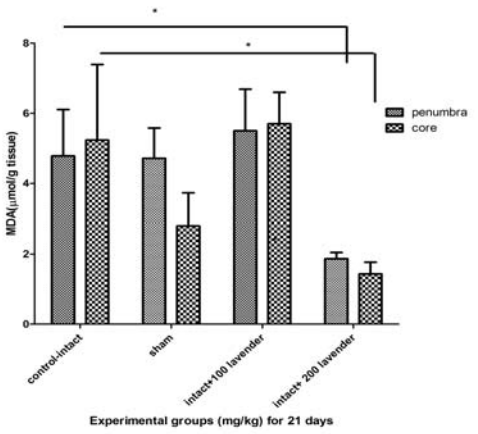
این تحقیق نشان می‌دهد که تیمار موش‌های صحرایی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره باعث کاهش معنی داری در نفوذپذیری سد خونی- مغزی در مقایسه با گروه کنترل- ایسکمی شده است ($p=۰/۰۰۴$). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری در نفوذپذیری سد خونی- مغزی بین گروه شم و گروه کنترل-ایسکمی مشاهده می‌گردد ($p=۰/۰۰۰$). از طرف دیگر، اختلاف معنی‌داری بین نفوذپذیری سد خونی- مغزی در نیمکره راست (تحت ایسکمی) و نیمکره چپ (سالم) در گروه کنترل-ایسکمی مشاهده می‌شود ($p=۰/۰۳۴$) (تصویر شماره ۱).



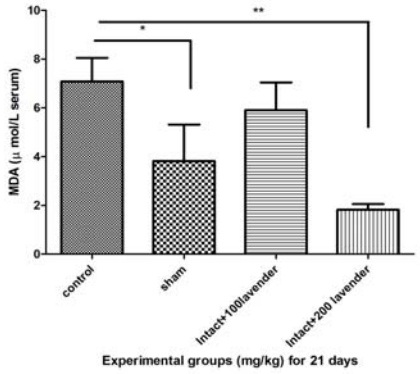

**تصویر شماره ۱:** میزان خروج اوانس بلو از سد خونی- مغزی در گروه های آزمایشی مختلف ( شم، کنترل-ایسکمی، ischemia+100mg lavender و ischemia+200mg lavender ) در نیمکره راست (تحت ایسکمی) و نیمکره چپ (سالم) (*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001; n=7).

*اثر عصاره اسطوخدوس روی پراکسیداسیون لیپید در مغز و سرم*

میزان پراکسیداسیون لیپید (سطح مالون دی‌آلدئید) در ناحیه پنومبرا و کانون (بافت مغز) به طور معنی‌داری در گروه کنترل- سالم نسبت به گروه سالم با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بالاتراست (به ترتیب $p=۰/۰۴۴$ و $p=۰/۰۲۱$ (تصویرشماره ۲). به‌علاوه، عصاره اسطوخدوس در گروه سالم که دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره را دریافت کرده‌اند سطح مالون دی‌آلدئید سرم را به طور معنی‌داری نسبت به کنترل کاهش داده است ($p=۰/۰۰۳$)، در حالی که دوز پایین‌تر (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثری بر سطح مالون دی آلدئید سرم نداشته است (تصویر شماره ۳).




**تصویر شماره ۲:** اثر عصاره اسطوخدوس بر سطح مالون دی آلدئید ناحیه پنومبرا و کانون مغز (*P<0.05; n=7) در گروه‌های دست نخورده: کنترل-سالم، سالم- دوز ۱۰۰، سالم-دوز ۲۰۰ (MDA: مالون دی‌آلدئید)




**تصویر شماره ۳:** اثر عصاره اسطوخدوس بر سطح مالون دی آلدئید سرم (*P<0.05; **P<0.01; n=7) در گروه های دست نخورده: کنترل-سالم، سالم- دوز ۱۰۰، سالم-دوز ۲۰۰ (MDA: مالون دی آلدئید)

Archive of SID
www.SID.ir

## بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تیمار با عصاره اتانولی اسطوخدوس باعث کاهش معنی‌دار نفوذپذیری سد خونی– مغزی در موش‌های صحرایی مدل سکته مغزی می شود. هم‌چنین این عصاره کاهش سطح مالون دی آلدئید مغز و سرم را در گروه‌های آزمایشی سالم که فقط عصاره دریافت کرده بودند در پی داشت که نشان دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپیدی است. متالوپروتئینازهای ماتریکس ($MMP_s$) یک خانواده از آنزیم‌های پروتئولیتیک دارای اتصالات عنصر روی (Zn) بوده که قادر به تجزیه اجزای ماتریکس خارج سلولی در شرایط گوناگون فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک هستند. لایه بازال نقش عمده‌ای در حفظ نفوذناپذیری سد خونی- مغزی (BBB) ایفا می‌کند و در میان MMPها، دوتای آن‌ها از جمله MMP-2 و MMP-9 قادر به تجزیه غشای پایه اندوتلیال هستند و منجر به باز شدن BBB می‌شوند. در شرایط پاتولوژی ایسکمی- خونرسانی مجدد هضم لایه بازال اندوتلیال دو ساعت بعد از ایسکمی شروع می‌شود که ممکن است باعث نفوذپذیری BBB چند ساعت پس از شروع ایسکمی شود(۲۰). یکی از محصولات جانبی تولید ترکیبات پر انرژی در بدن، رادیکال‌های اکسیژن است(۲۱). حضور فراوان اکسیژن در بافت‌های هوازی مثل مغز می‌تواند این ملکول حیاتی را به گونه‌های واکنشی اکسیژن که بسیار مهلک هستند تبدیل کند(۲۲). افزایش گونه‌های واکنشی اکسیژن در مغز سبب آسیب اکسیداتیو به همه اجزای سلولی توسط تغییر در بازهای اسیدهای نوکلئیک، شکستن اسکلت DNA در دو فرم تک و دو رشته‌ای و شکستن باندهای گلیکوزیلی بین ریبوز و بازها می‌شود. ایسکمی مغزی توسط تولید آبشاری از وقایع متابولیکی، با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن، سبب تشدید آسیب سلولی می‌شود(۲۳). آسیب رادیکال‌های آزاد مکانیسمی است که در فازهای اولیه ایسکمی شروع می‌شود و یکی از وقایع اصلی در این زمان وقوع پراکسیداسیون لیپید است. در طول ایسکمی، غلظت اسیدهای چرب آزاد به خصوص اسید آراشیدونیک به میزان زیادی افزایش می‌یابد(۲۴). استرس اکسیداتیو می‌تواند به صورت مستقیم توسط آسیب به فسفولیپیدهای غشایی و نوکلئوتیدها و به‌صورت غیرمستقیم از طریق میانجی‌گری در آبشارهای سلولی سبب آسیب مغزی شود(۲۵). بنابراین، مطالعات برای توسعه عوامل حفاظت مغزی به منظور درمان سکته مغزی بر آنتی‌اکسیدان‌ها متمرکز شده‌اند. آنتی‌اکسیدان‌ها در بسیاری از آزمایش‌ها در محیط‌های in vitro و in vivo توسعه یافته و برخی از آن‌ها نیز در مطالعات بالینی بررسی شده‌اند(۲۵).

تغییرات التهابی نورون‌ها در نهایت می‌تواند سبب تخریب سدخونی- مغزی و تشکیل ادم و در نتیجه مرگ سلولی شود. بنابراین، مسیرهای التهاب نورونی می‌توانند اهدافی برای پیشبرد داروها در درمان ایسکمی باشند(۱). مکانیسم‌های زیادی برای چگونگی تخریب سد خونی- مغزی پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به ایجاد شکاف بین سلول‌های اندوتلیالی به علت واسطه‌های التهابی مثل ترومبین که سبب انقباض اندوتلیال می‌شود اشاره نمود(۲۶). تنظیم مثبت فاکتور رشد اندوتلیالی[۲] (VEGF) در طی ایسکمی سبب افزایش هدایت آبی و شکسته شدن اتصال‌های محکم بین سلول‌های اندوتلیالی می‌شود(۲۶). اسطوخدوس گیاهی با بوی بسیار مطبوع و طعم تلخ است که در عطر درمانی از آن استفاده می‌شود عطر درمانی یکی از مهم‌ترین درمان‌های مکمل در درمان افراد مبتلا به انواع ناهنجاری‌های مغزی به شمار می‌رود(۲۷). اسطوخدوس از جمله گیاهانی است که از نظر فیتوشیمی به‌طور وسیع مطالعه شده، اما جنبه‌های درمانی این گیاه هنوز به‌طور کامل مورد مطالعه قرار نگرفته است. در مطالعات انجام شده در زمینه تاثیر درمانی گیاه اسطوخدوس بر

1- Vascular Endothelial Growth Factor

Archive of SID

www.SID.ir

حیوانات آزمایشگاهی ثابت شده است که این گیاه در درمان اکثر بیماری‌های وابسته به دستگاه عصبی مرکزی مثل میگرن و صرع موثر است(۲۸).

حاج هاشمی و همکاران(۲۰۰۳) در مطالعه‌ای اثرات ضد التهابی عصاره هیدروالکلی و اسانس اسطوخدوس را در موش سوری مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره اسطوخدوس اثرات ضد التهابی قابل توجهی ندارد ولی اسانس با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اثرات خوبی بر کاهش میزان التهاب دارد. هم‌چنین در این مطالعه اثر ضددردی با تست فرمالین مورد بررسی قرار گرفت که عصاره هیدروالکلی اسطوخدوس اثر ضد دردی معنی‌داری در فاز اولیه نشان نداد، درحالی که در فاز تاخیری اثر ضد دردی معنی‌داری مشاهده گردید که این اثر در دوزهای ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حاصل شد(۱۳). برخی شواهد نشان می‌دهد که اسانس اسطوخودوس به طور قابل توجهی فاکتور نکروز تومور (TNF-α) را در سلول های ماست سل جدا شده از موش صحرایی کاهش می‌دهد(۱۳). عصاره اتانولی اسطوخدوس با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش سوری اثر آرام بخشی معنی‌داری بر روی سیستم عصبی مرکزی ایجاد می‌کند، درحالی که عصاره آبی اسطوخدوس در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اثر معنی‌داری ایجاد نمی‌کند(۲۹). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که این گیاه ممکن است اثرات حفاظت مغزی مفیدی داشته باشد ولی بایستی توجه شود که این دارو در دوز های بالا اثرات سمی روی کلیه داشته است(۳۰) که موقع مصرف بایستی مد نظر قرار گیرد. گیاهان دارویی معمولا سمیت کم‌تری نسبت به داروهای سنتتیک دارند ولی طبیعی بودن این مواد نبایستی دلیلی بر بی خطر بودن آنها تلقی گردد و موقع مصرف آن‌ها نیز بایستی احتیاط لازم صورت گیرد(۳۱). سطح مالون دی آلدئید به عنوان بیومارکر اصلی استرس اکسیداتیو در مطالعات in vivo به کار می‌رود(۳۳،۳۲). مطالعه ما نشان می‌دهد که تیمار با عصاره اسطوخدوس باعث کاهش سطح مالون دی آلدئید مغز و سرم می‌شود و نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که عصاره اسطوخدوس آسیب‌های ناشی از ایسکمی- خونرسانی مجدد را از طریق مهار استرس اکسیداتیو کاهش می‌دهد. اگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه دلیل این اثرات مفید گیاه باشد بسیاری از گیاهان دیگر نیز که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند(۳۴-۳۷) بایستی اثرات مشابهی داشته باشند. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده به منظور دستیابی به دارویی جدید، ضمن بررسی اثرات مشابه این گیاهان، مواد موثره عصاره اسطوخدوس و گیاهان مشابه جدا و به صورت اختصاصی بر روی سیستم عصبی مرکزی بررسی شود.

## سپاسگزاری

در پایان بر خود لازم می دانیم از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بخاطر تامین بودجه (کد این طرح 1130 -70-01-91) لازم و کلیه عزیزانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند قدردانی نماییم.

## References

1. Lakhan SE, Kirchgessner A, Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. J Transl Med 2009; 7:97

2. 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

Archive of SID
www.SID.ir

neuroprotection. Antioxid Redox Signal 2011; 14(8): 1505-1517.
3. Vannucci SJ, Hagberg H. Hypoxia–ischemia in the immature brain. J Exp Biol 2004; 207: 3149-3154.
4. Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. J Res Med Sci 2014; 19(4): 358-367.
5. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. J Res Med Sci 2013; 18(7): 62-68.
6. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Erythropoietin ameliorates oxidative stress and tissue injury following renal ischemia/reperfusion in rat kidney and lung. Med Princ Pract 2014; 23(1): 95.
7. Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Comment on: Anti-oxidative stress activity of *Stachys lavandulifolia* aqueous extract in humans. Cell J 2013; 15(3): 272-273.
8. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. J Res Med Sci 2014; 19(1): 82-83.
9. Warner DS, Sheng H, Batinić-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. J Exp Biol 2004; 207: 3221-3231.
10. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. J Res Med Sci 2014; 19(1): 82-83.
11. Baradaran A, Nasri H, Nematbakhsh M, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant activity and preventive effect of aqueous leaf extract of Aloe Vera on gentamicin-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. Clin Ter 2014; 165(1): 7-11
12. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Tubular kidney protection by antioxidants. Iranian J Publ Health 2013; 42(10): 1194-1196.
13. Hajhashemi V, Ghannadi A, Sharif B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of Lavandula angustifolia Mill. J Ethnopharmacol 2003; 89: 67-71.
14. Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M, Mokhtari S, Alibabaei Z, Shahrani M. The effect of pretreatment with different doses of Lavandula officinalis ethanolic extract on memory, learning and nociception. Biomed Agin Pathol 2014; 4(1): 71-76.
15. Rabiei Z, Rafieian M. Effects of Zizyphus jujuba Extract on Motor Coordination Impairment Induced by Bilateral Electric Lesions of the Nucleus Basalis of Meynert in Rat. Physiology and Pharmacology 2014; 17:469-77.
16. Rabiei Z, Bigdeli M, Mohagheghi F, Rasolian B. Relationship between dietary virgin Olive oil on brain Cholesterol, Cholesteryl ester and Triglyceride levels and Blood Brain Barrier (BBB) permeability in a rat stroke model. Physiology and Pharmacology 2012; 16: 245-254.
17. Parsaei P, Karimi M, Asadi SY, Rafieian-Kopaei M. Bioactive components and preventive effect of green tea (Camellia sinensis) extract on postlaparotomy intra-abdominal adhesion in rats. Int J Surg 2013; 11(9): 811-815.
18. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 1989; 20: 84-91.
19. Rabiei Z, Rafieian-kopaei M, Heidarian E, Saghaei E, Mokhtari S. Effects of Zizyphus jujube Extract on Memory and Learning

Archive of SID
www.SID.ir

Impairment Induced by Bilateral Electric Lesions of the Nucleus Basalis of Meynert in Rat. Neurochem Res 2014; 39: 353-360.

20. Hamann GF, Okada Y, Fitridge R, del Zoppo GJ. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. Stroke 1995; 26: 2120-2126.
21. Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. J Med Food 2011; 14(9): 969-974.
22. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants and antioxidants: Why they are not always beneficial? Iran J Public Health 2014; 43(2): 255-257.
23. Sims CA, Wattanasirichaigoon S, Menconi MJ, Ajami AM, Fink MP. Ringer's ethyl pyruvate solution ameliorates ischemia/ reperfusion-induced intestinal mucosal injury in rats. Critical Care Medicine 2001; 29: 1513-1518.
24. Rafieian-Kopaei M, Shahinfard N, Rouhi-Boroujeni H, Gharipour M, Darvishzadeh-Boroujeni P. Effects of Ferulago angulata extract on serum lipids and lipid peroxidation. J Evid Based Complementary Altern Med 2014; 30: 23-27.
25. Margaill I, Plotkine M, Lerouet D. Antioxidant strategies in the treatment of stroke. Free Radic Biol Med 2005; 39: 429-443
26. Van Bruggen N, Thibodeaux H, Palmer JT, Lee WP, Fu L, et al. VEGF antagonism reduces edema formation and tissue damage after ischemia/reperfusion injury in the mouse brain. J Clin Invest 1999; 104: 1613-1620.
27. Lin PWK, Chan WC, Ng BFL, Lam LCW. Efficacy of aromatherapy (Lavandula angustifolia) as an intervention for agitated behaviours in Chinese older persons with dementia: a crossover randomized trial. Int J Geriatr 2007; 22: 405-410.
28. Kim HM, Cho SH. Lavender oil inhibits immediate-type allergic reaction in mice and rats. J Pharmacy Pharmacol 1999; 51: 221-226.
29. Alnamer R, Alaoui K, Bouididael H, Benjouad A, Cherrah Y. Sedative and Hypnotic Activities of the Methanolic and Aqueous Extracts of Lavandula officinalis from Morocco. Adv Pharmacol Sci 2012; 5: 1-5.
30. Taghikhani M, Nasri H, Asgari A, Afrough H, Namjoo A, et al. The renal toxicity of hydroalcoholic extract of Stachys lavandulifolia vahl in wistar rats. Life Sci 2012; 9: 3025-3031.
31. Nasri H, Shirzad H. Toxicity and safety of medicinal plants. J Herb Med Pharmacol 2014; 2: 21-22.
32. Rafieian-Kopaei M, Shahinfard N, Rouhi-Boroujeni H, Gharipour M, Darvishzadeh-Boroujeni P. Effects of Ferulago angulata extract on serum lipids and lipid peroxidation. Evid Based Complement Alternat Med 2014; 22(1): 230-235.
33. Bahmani M, Zargaran A, Rafieian-Kopaei M, Saki M. Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in the Urmia, Northwest Iran. Asian Pac J Trop Med 2014; 7: 348-354.
34. Asadi-Samani M, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of *Borago officinalis*: a review. Asian Pac J Trop Med 2014; 7: 22-28.

Archive of SID
www.SID.ir

35. Heidarian E, Rafieian-Kopaei M. Protective effect of artichoke (Cynara scolymus) leaf extract against lead toxicity in rat. Pharm Biol 2013; 51(9): 1104-1109.
36. Asgary S, Sahebkar A, Afshani M, Keshvari M, Haghjooyjavanmard Sh, Mahmoud Rafieian-Kopaei M. Clinical evaluation of blood pressure lowering, endothelial function improving, hypolipidemic and anti-inflammatory effects of pomegranate juice in hypertensive subjects. Phytother Res 2013; 28(2): 193-199.
37. Khosravi-Boroujeni H, Mohammadifard N, Sarrafzadegan N, Sajjadi F, Maghroun M, Khosravi A, et al. Potato consumption and cardiovascular disease risk factors among Iranian population. Int J Food Sci Nutr 2012; 63(8): 913-920.

Archive of SID

www.SID.ir