Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی۱۲، جلد ۴، شماره ۱، زمستان ۸۹، صفحه ۵۹ تا صفحه ۶۵

بررسی اثر عصاره الکلی برگ *Salvia staminea* بر دژنراسیون موتونورون‌های نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت

مریم طهرانی پور[۱]، طوبی قدمیاری[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، استادیار، گروه زیست شناسی، مشهد- ایران. maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم جانوری، مشهد- ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۶ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۹

چکیده

یکی از مهم‌ترین اشکالاتی که در رابطه با ضایعات سیستم عصبی محیطی مطرح است، برگشت این ضایعات به جسم سلولی نورون‌هایی است که آکسون آن‌ها تخریب شده است. این اثرات به صورت رتروگراید از محل ضایعه به جسم سلولی نورون‌های آلفا رسیده و سبب دژنراسیون مرکزی در نخاع می‌شود. مریم گلی دارای اثرات مفیدی بر روی دستگاه گوارش، سیستم قلبی عروقی و سیستم عصبی، اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، آنتی باکتریال، آنتی ویروس و ضد سرطانی است. امروزه در آزمایشات گوناگون اثرات آنتی اکسیدانی مریم گلی روی مغز ثابت شده است. به منظور بررسی اثرات نوروپروتکتیو عصاره تام الکلی برگ مریم گلی *(Salvia staminea)* تحقیق زیر انجام شد.در این تحقیق از ۳۰رت نر نژاد ویستار استفاده شد که در۵ گروه کنترل، کمپرسیون، تیمار (عصاره الکلی برگ در ۳ دوز ۲۵ mg/kg و ۵۰mg/kg و ۷۵mg/kg) با n=۶ تقسیم شدند. در گروه‌های کمپرسیون و تیمار برای ایجاد ضایعه در نورون‌های حرکتی آلفا، عصب سیاتیک پای راست رت از ناحیه بالای ران به وسیله قیچی قفل دار تحت کمپرسیون قرار گرفت (در گروه کنترل فقط عضله شکافته شد و عصب آشکار شد ولی عصب تحت کمپرسیون قرار نگرفت). در گروه‌های تیمار، تزریق عصاره تام الکلی برگ با ۳دوز مختلف (۲۵، ۵۰و۷۵ mg/kg) با تزریق ٤ بار درطول دوره) انجام شد. پس از ۲۸ روز رت‌ها با روش پرفیوژن فیکس شده، برش‌های ۷ میلی متری از نخاع به طور سریال تهیه و پس از طی مراحل بافتی با آبی تلوئیدین رنگ آمیزی و شمارش نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع به روش دانسیته تعداد انجام شد. مقایسه گروه کمپرسیون و تیمار با عصاره الکلی برگ (دوز۷۵ mg/kg) اختلاف معنی داری را بین دانسیته نورونی این گروه با گروه کمپرسیون(P<۰/۰۵)نشان داد. نتایج موجود حاکی بر این است که عصاره تام الکلی برگ (دوز۷۵ mg/kg)، دارای اثرات نوروپروتکتیو بر روی نورون‌های شاخ قدامی نخاع پس از ایجاد ضایعه می‌باشد.

کلید واژه: مریم گلی، دژنراسیون، عصب سیاتیک.

مقدمه

به دنبال بریده شدن و یا له شدن فیبر عصبی دژنراسیون والرین انجام می‌شود سپس میلین به قطعات بیضی شکلی منقسم می‌شود. سرانجام ماکروفاژها و سلول‌های شوان به داخل غلاف نورلما (شوان) هجوم آورده، ذرات آکسون و میلین را می‌بلعند(۱۴). چگونگی تخریب آکسون‌های صدمه دیده با فرآیند والرین متفاوت می‌باشد، زیرا تخریب و فاگوسیته کردن قطعات درسیستم عصبی مرکزی با سرعت بسیار کمتری انجام می‌شود(۱۰). در این موارد قطعات تخریب شده آکسون‌ها بعد از گذشت ماه‌ها هنوز در ناحیه آسیب قابل مشاهده هستند و سلول‌های فاگوسیتی

www.SID.ir

Archive of SID

(میکروگلی واکنشی) حاوی قطعات متلاشی شده می‌باشد و تا چند سال در ناحیه باقی می‌مانند و محل رشته‌های تخریب شده را نشان می‌دهند(۱۱).کروماتولیز فرایندی است که به دنبال آسیب آکسونی در جسم سلولی نورون‌ها ایجاد می‌شود، بنابراین گاهی به این پدیده (Axonal reaction) گفته می‌شود.در این زمان واکنش‌های جسم سلولی لازمه ترمیم بقایای هسته می‌باشد(۹). اگر چه بعضی نورون‌ها می‌توانند آکسونشان را کاملاًخوب، بدون تغییرات قابل توجه در متابولیسم جسم سلولی ترمیم کنند. به علاوه بعضی از نورون‌ها ترمیم آکسونشان را بعد از بهبودی از کروماتولیز دنبال می‌کنند(۱۲). مریم گلی (Salvia) ازروزگاران کهن درمجموعه‌ی گیاهان طبی یونانی‌ها ورومی‌ها مورد شناخت و توجه خاص بوده است(۱). در دوران قرون وسطی، حکمای طب سنتی اروپا ازمریم گلی ضمن خواص متعددی که برای آن قائل بودند، برای معالجه یبوست(۵)، وبا، سرماخوردگی، انواع تب‌ها(۱)، اختلالات کبدی(۲۳)، صرع و فلج استفاده می‌کرده‌اند هم چنین برای تقویت عضلات و آرام کردن اعصاب نیز تجویز می‌شده است.از قرن نهم این گیاه به اروپا راه یافته و به سرعت توسعه یافت و پس از آن به چین وارد شد(۱). از خواص درمانی آن: محرک هضم غذا(۵) و ترشح صفرا است، این گیاه دارای ترکیبات آروماتیک است و اسانس آن در عطر سازی مورد استفاده قرار می‌گیرد.ترکیبات ویا اجزای اصلی تشکیل دهنده مهم این جنس، اسانس‌ها، دی ترپن‌ها، تری ترپنوئیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، رزین، ساپونین‌ها وفنول‌ها هستند. به علاوه، ترکیب اصلی تشکیل دهنده گونه‌های Salvia، سالوانولیک اسید است(۱).گونه‌های مختلف سالویا دارای اثرات آنتی‌اکسیدانتی بوده و کارنوزئیک اسید، رزمارینک اسید، رزمانول، کارنوزول، سالوینول، سالوانیک اسید A و سالوانیک اسید B مسئول جمع آوری و حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند(۴،۲۰). هدف از این پژوهش بررسی اثرات نوروپروتکتیوی عصاره تام الکلی برگ مریم گلی بر جسم سلولی نورون‌های آلفای شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت است.

مواد وروش‌ها

پس از تهیه برگ سالویا باکد هرباریومی۲۶۷۶ از مرکز هرباریوم دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد،برگ سالویا توسط دستگاه خرد کننده (آسیاب) کاملاً آسیاب گردید. پودربرگ تا زمان عصاره‌گیری در جای خشک و خنک نگهداری گردید. از پودر برگ مریم گلی (سالویا) عصاره الکلی به طور جداگانه به روش سوکسله تهیه شد(۶).در این تحقیق از رت‌های نر نژاد ویستار خریداری شده از بخش حیوانات مؤسسه سرم سازی رازی استفاده شده است. در ابتدا ۳۰رت نر ۳ ماهه وزن (۳۵۰ -۳۰۰ گرم) در ۵ کنترل، کمپرسیون، تیمار (عصاره الکلی برگ با ۳ دوز مختلف (mg/kg ۲۵و۵۰ و۷۵) گروه تقسیم شد.

روش انجام عمل کمپرسیون:

رت‌های هر گروه با تزریق داخل صفاتی ماده بیهوشی رامپون mg/kg ۶ و کتامین mg/kg۶۰ به نسبت ۲ به ۱ بر اساس وزن بدن حیوان بیهوش گردیدند(۲). سپس عصب سیاتیک پای راست در ناحیه سر استخوان ران توسط پنس قفل دار(قفل دوم برای۳۰ ثانیه) تحت کمپرسیون قرار گرفت. پس از کمپرسیون محل ضایعه ضدعفونی و توسط گیره فلزی بخیه زده شد. در هنگام بیهوشی سعی شد بدن رت‌ها گرم نگاه داشته شود. بعد از این که رت‌ها هوشیاری اولیه خود را بدست آوردند به قفس‌های جداگانه منتقل و در شرایط استاندارد حیوانخانه از نظر نور، دما ورطوبت نگهداری شدند.در طول مدت آزمایش رت‌ها اجازه داشتند تا به قدر کافی از آب آشامیدنی و خوراک مخصوص رت استفاده نمایند. در گروه‌های تیمار اولین تزریق عصاره بلافاصله بعد از انجام عمل کمپرسیون انجام شد. به طوری که عصاره تام الکلی برگ با ۳ دوز مختلف ۲۵، ۵۰و۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم هفته‌ای یک بار در طول

www.SID.ir

Archive of SID

دوره به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد. (در طول ۲۸ روز پس از کمپرسیون).

۲۸ روز پس از کمپرسیون از قطعات نخاعی مربوط به عصب سیاتیک نمونه برداری انجام شد از آن جا که بافت عصبی بافتی حساس است و سریعاً دچار فرایندهای اتولیز می‌شود و علاوه بر این فیکساتور به علت وجود پرده‌های سخت دور نخاع نیز به خوبی در آن نفوذ نمی‌کند برای فیکساسیون از متد پرفیوژن استفاده شد. در این متد در حیوان بیهوش فیکساتور (فرمالین ۱۰٪)در بسترهای عروقی جریان می‌یابد. پس از اتمام پرفیوژن نمونه‌برداری از نخاع انجام شد. برای یکسان بودن نمونه‌برداری در همه نمونه‌ها نخاع به طور کامل تا انتهای دم جدا گردید و از انتهای دم به اندازه ۱۸ میلی متر بالا رفته و نمونه‌هایی به طول ۸ میلی متر تهیه شد. بعد از نمونه برداری نمونه‌ها وارد مرحله پاساژ شدند. نمونه‌ها پس از طی مراحل پاساژ وارد مرحله برش شده و از آن‌ها به صورت سریال برش‌های ۷ میکرونی تهیه شده که با آبی تولوئیدین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. با استفاده از دستگاه فتو میکروسکپ از منطقه شاخ قدامی نخاع نیمه راست گرفته شد.

برای شمارش نورونی از روش نمونه‌برداری سیستماتیک رندوم (تصادفی) استفاده شده است و برای شمارش ذرات یعنی نورون‌های حرکتی آلفا از روش دایسکتور استفاده گردید(۲۴).

ΣQ: مجموع نورن‌های شمارش شده در یک نیمه نمونه.

Σ frame: مجموع دفعات نمونه برداری شده.

Vdisector: حجم چهارچوب نمونه برداری که برابر است با:

$$Vdisector = A\ frame \times H$$

A frame: مساحت چهارچوب نمونه برداری.

H: فاصله بین دو برش یا ضخامت هر برش.

میانگین $\frac{\Sigma Q}{\Sigma\ frame}$ حاصل تقسیم مجموع نورن‌های شمارش شده در مساحت چهارچوب

یک نیمه نمونه بر مجموع دفعات نمونه برداری برای بررسی داده‌ها با استفاده از برنامه‌های آماری مانند t-test در درون گروه‌ها و میان گروه‌ها نیاز به پارامتر دیگری است به نام NV(Numerical Density)یا دانسیته تعداد. این پارامتر از فرمول زیر محاسبه می گردد.

$$NV = \frac{\Sigma Q}{\Sigma\ Vdisector \times frame}$$

در این تحقیق: برای بدست آوردن اندازه واقعی مساحت دایسکتور بر روی نمونه وبا مقیاس میکرون از لام میکرومتری استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل ازبررسی پدیده دژنراسیون مرکزی در طول یک ماه پس از کمپرسیون و هم چنین بررسی اثر نوروپروتکتیو گروه‌های تیمارشده با عصاره‌های تام الکلی برگ به طور جداگانه به صورت شمارش نورون‌های حرکتی آلفا در شاخ قدامی نخاع نشان می‌دهد که پدیده کمپرسیون باعث کاهش معناداری در دانسیته نورونی نورون‌های شاخ قدامی نخاع نسبت به گروه کنترل شده است($p<۰/۰۰۱$) (جدول۱).

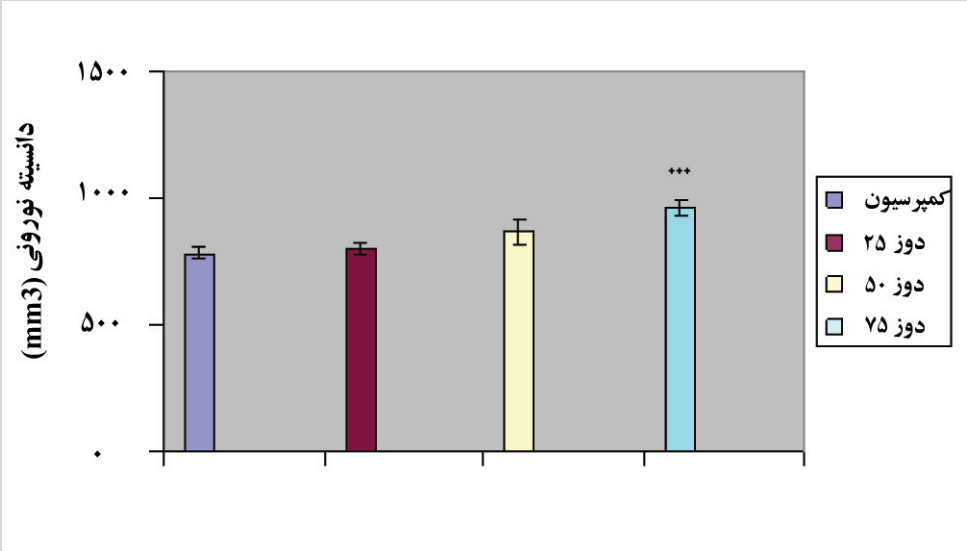
تیمار با عصاره الکلی برگ با دوز ۷۵mg/kg افزایش چشم گیری در دانسیته تعداد نورون‌ها داشته، به طوری که اختلاف معنی داری بین این گروه با گروه کمپرسیون مشاهده می‌شود($p<۰/۰۵$)، در حالی که تیمار با ۲ دوز ۲۵و۵۰mg/kg علیرغم افزایش دانسیته تعداد نورون‌ها اختلاف معنی داری بین این گروه‌ها و گروه کمپرسیون را نشان نمی‌دهد(نمودار۱).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- میانگین دانسیته تعداد نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع

نام گروه	NV Mean± SE
کنترل	۱۷۳۹/۳ ± ۷۸/۵
کمپرسیون	۷۸۱/۲ ± ۲۷/۹
تیمارالکلی برگ در ۳ دوز mg/kg ۲۵و۵۰و۷۵	۸۰۰±۲۳ ۸۷۰±۴۹ ۹۶۵±۲۸



نمودار ۱- دانسیته تعداد(mm^2)نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در گروه‌های تیمار شده عصاره الکلی برگ بادوزهای (mg/kg ۲۵،۵۰و۷۵) در مقایسه با گروه کمپرسیون(n=۶)

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی پدیده مرگ یاخته‌های عصبی طی تکامل طبیعی، بیماری‌ها و آسیب‌های بافتی تاریخچه‌ای نسبتاً طولانی دارد، در سال‌های ۱۹۴۰ تا ۱۹۵۰ اکسوتومی به عنوان الگوی القایی مرگ نورون‌ها معرفی وتحقیق‌های فراوانی بر روی پاسخ نورون به دنبال اکسوتومی انجام شد، اثبات شد که قطع عصب سیاتیک در نوزادان موش صحرایی باعث کاهش نورون‌های حرکتی نخاع می‌شود(۱۵). Snider با انجام اکسوتومی باعث مرگ یاخته‌های عصبی شد و اظهار کرد که این فرآیند شبیه به مرگ طبیعی نورون‌هاست و یاخته‌های جوان‌تر نسبت به نورون‌های بالغ به ضایعه حساس‌ترند.به دنبال قطع عصب، سلول دست خوش تغییرات ساختمانی و مورفولوژیک مشابه تغییرات در نورون‌هایی که مرگ برنامه ریزی شده را متحمل می‌شوند،می‌گردد از جمله این تغییرات خارج از مرکز بودن هسته، چین خوردگی غشای هسته وپکنوزیس هسته می‌باشد(۱۶). به طوری که در گروه‌های دچار کمپرسیون شده تعداد نورون‌های آلفای شاخ قدامی پس از کمپرسیون کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل یافته است. اعمال هرگونه فشار به آکسون و یا وقوع ضایعه آکسونی به دلیل قطع ارتباط آکسون با جسم نورن سبب

www.SID.ir

Archive of SID

می‌شود که هر دو قسمت دیستال و پروکسیمال آکسون دستخوش تغییر گردند. در قسمت دیستال، هم آکسون و هم غلاف میلین آن به‌طور کامل دژنره می‌شود، در این ضایعه که در ۲ تا ۳ روز بعد پدید می‌آید غلاف آندونوریم قابلیت خود را حفظ کرده علاوه بر این با توجه به قابلیت تولید میلین جدید سلول‌های شوآن در طول فیبر دژنره شده تکثیر می‌یابند بنابراین در قسمت دیستال عصب آسیب دیده شرایط لازم برای میلین دار کردن جوانه‌های منشعب شده از قسمت پروکسیمال عصب مهیا است (۱۸). در این زمان اگر وجود ترکیباتی بتواند رشد این ساختارها را افزایش وسرعت بخشد ویا این که از پیشرفت روندهای دژنراسیون جلوگیری نماید احتمالا در بهبودی وکاهش دادن اثرات تخریبی ضایعه بسیار موثر خواهد بود(۱۴). عصاره متانولی استخراج شده از برگ *Salvia leriifolia* دارای خاصیت آنتی اکسیدانتی فوق العاده‌ای می‌باشد(۷،۱۴،۲۱)، از آن جا که این گیاه همانند گیاه مورد مطالعه ما متعلق به خانواده نعناع می‌باشد می‌توان احتمال داد که در تیمار الکلی برگ ترمیم آلفا نورون‌ها با خاصیت آنتی اکسیدانتی این گیاه رابطه مستقیمی داشته است.به طوری که تزریق عصاره الکلی برگ با دوز mg/kg ۷۵ دانسیته نورونی را نسبت به گروه کمپرسیون به طور معنی داری افزایش داده است($p<۰/۰۵$). برگ‌های *Salvia officinalis* خاصیت ضدالتهابی ثابت شده‌ای دارند(۸). برگ *Salvia officinalis* حاوی اسانس و نوعی منوترپن هیدروکسی سینونامیک اسید، فنولیک دی ترپن، کارنوزیک اسید و فلاونوئیدها (آنتی اکسیدان‌ها) می‌باشد(۳). مطالعاتی که روی *Salvia officindis* انجام شد نشان داد که عصاره‌های هگزان واتیل استات برگ این گیاه بیان mRNA و پروتئین‌های آغاز کننده التهاب از جمله سیتوکاین‌ها TNFa,Lps,IL۶ را مهار کرده و اثرات ضدالتهابی قوی نشان می‌دهند (۱۳). گونه‌های مختلف سالویا دارای اثرات آنتی اکسیدانتی بوده و کارنوزئیک اسید، رزمارینک اسید، رزمانول، کارنوزول، سالوینول، سالوانیک اسید A و سالوانیک اسید B مسئول جمع آوری و حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند(۱۷،۱۹،۲۲). بنابراین احتمالا اثرات نوروپروتکتیوی خود را از طریق این خاصیت‌ها اعمال می‌نمایند.تزریق عصاره‌های الکلی برگ گیاه *Salvia staminea* دانسیته نورونی را در گروه‌های تیمار نسبت به کمپرسیون افزایش می‌دهد که این افزایش در دوز mg/kg ۷۵ معنی دار است($p<۰/۰۵$) واحتمالا ناشی از اثرات آنتی اکسیدانتی وضد التهابی این گیاه است که از پیشبرد روندهای دژنراسیون در سیستم عصبی مرکزی که متعاقب ایجاد ضایعه در اعصاب محیطی اتفاق می‌افتد جلوگیری می‌نماید و شدت ضایعات را کاهش می‌دهد.

تشکر و سپاس‌گزاری

این تحقیق در گروه زیست شناسی،دانشکده علوم،دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد صورت گرفت. بدین وسیله ازتمام همکاران گروه زیست، مدیریت گروه سرکار خانم دکتر جعفری و ریاست محترم دانشکده علوم آقای دکتر ایزدیان جهت همکاری‌های بی دریغشان تشکر و قدر دانی می‌شود.

منابع

1.Ahmed, B., Al-HOwiniry, T.(2004).Verbenacine and salvinine:two new diterpenes from Salvia verbenace. Plant Med,59;9-14.

2.Behnam-Rasoli, M., Nikravesh, M., Mahdavi-Shahri, N., Tehranipour, M. (2004). Post-operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alfa motoneurons, using a stereological counting method. , Iranian Biomadical,4(1) ; 45-49.

3.Baricevic, D., Sosa, S., Della, L., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A. (2001). Topical anti-inflammatory activity of

www.SID.ir

Archive of SID

Salvia officinalis L. leaves: the relevance of ursolic acid. Ethnopharmacol, 75;125-132.

4.Byung-Soo, K., Tae-Sig, K., Cheorl-Ho, K.(2000). Salviae miltiorrhiza Radix inhibits superoxide generation by activated rat microglias and imics the action of amphetamine on in vitro rat striatal dopamine release. Neurochem Res ,29;1837–1845.

5.Capasso, R., Borrelli , F., Siebert, D.J. (2006).The hallucogenic herb Salvia divinorum and its active ingredient salvinorin a enteric cholinergic transmission in the guine –pig ileum.Neurogastroenterol Motil,18;69-75.

6.Cicchetti, E. , Chaintreau, A.(2009). Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural vanilla flavors.J. Sep Sci,32(11);1957-64.

7.Farhoosh, R., Khodaparast, M.H.H., Poorazarang, H., Rahimzade, M., Saydi, M.(2003). Invistigation of heat stability of major antioxidant fraction of Salvia leriifolia leaves. Agricul Sci Techole,17; 53-59.

8.Farhoosh, R., Poorazarang, H., Khodaparast, M.H.H., Rahimzade, M., Saydi, S.M.(2004).Extraction and separation of antioxidative compounds from Salvia leriifolia leaves. Agricul Sci Techole,6; 57-62.

9.Hyashi, T., Sakurai, M., Abe, K., Sadahiro, M., Tabayashi, K., Itoyama, Y.(1998). Apoptosis of motor neurons with induction of caspases in the spinal cord after ischemia. Strok ,9 ;1007-1013.

10.IU, G., Zhigang, H. (2006). Glial inhibition of CNS axon regeneration. Nature Reviews Neuroscience,7; 67-627.

11. Liu, D., Bao, F., Ling, x.(2003).Reactive species and apoptotic cell death in spinal cord injury. Neurochemistry, 87 ; 144.

12. Lam , B.Y.(2003) Neuroprotective effects of tanshinones in transient focal cerebral ischemia in mice, Phytomedicine, 10(4); 286-291.

13. Lamaison, J.L., Petitjean-Freytet, C., Duband, F., Carnat, A.P. (1991)..Rosmarinic acid content and antioxidant activity in French Lamiaceae. Fitoterapia,62; 166-171.

14. Li, Sh, X., Cui, N., Zhang, C. L., Zhao, X. L., Yu, S. F., Xie, K. Q.(2006). Effect of subchronic exposure to acrylamide induced on the expression of bcl-2 , bax , caspase-3 in the rat nervous system. Science Direct Toxicology.217;46-53.

15. Nesic, O., Xu, G-Y., Mc, A., Westlund High, K., Hulsebosch, C., Perez-Polo, R.(2001).IL-1 receptor antagonist prevents apoptosis and caspase-3 activation after spinal cord injury. Neurotrauma,18(9); 947-956.

16. Nieuwe Nhuys, R., Voogd, J., Van Huijzen, C.(2008) The human central nervous system. Springer. Fourth Edition.

17. Nikcavara B, Izadpanth H, Kamalinejad H.In vitro free radical scavenging activity of five Salvia species.Pak. j.PharmacolSci,20(4);291-4.

18. Oudega, M., Hagg, T.(1999). Neurotrophins promote regeneration of sensory axons in the adult rat spinal cord. Brain Research, 818; 431- 438.

19. Ryu, S.(1997). In vitro cytotoxicity of tanshinones from Salvia miltiorrhiza. Planta Med,63; 339–342.

20. Ryu, S.(1997).In vitro cytotoxicity of tanshinones from Salvia miltiorrhiza. Planta Med,63; 339–342.

21. Sadeghnia, H.R., Nassiri, Asl. M., Had-

www.SID.ir

Archive of SID

dad Khodaparast, M.H., Hosseinzadeh, H. (2003).The effect of Salvia leriifolia Benth. root extracts on lipid peroxidation level during global ischemic-reperfusion in rats. J Med Plants. 2003; 7: 19–28.

22. Seonil, J., Kangju, K.(2003). Tanshinone IIA from Salvia miltiorrhiza inhibits inducible nitric oxide synthase expression and production of TNF-alpha, IL-1beta and IL-6 in activated RAW 264.7 cells. Planta Med,69; 1057–1059.

23. She, S.F., Hung , X.Z. ,Tong, G.D. (2004).Clinical study on treatment of liver fibrosis by different dosage s of Salvia injection.Zhongguo Zhong Xi Yi J. Za Zhi24 ; ie He,1;17-20.

24. Sterio ,D.C.(1984). The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the dissector. J. Microscopy,134; 127-136.

www.SID.ir