

## ORIGINAL RESEARCH

### Neuroprotective Effects of Stachys Lavandulifolia Hydroalcoholic Extract on Size of Cerebral Ischemia, Blood-Brain Barrier Permeability and Edema Volume in Rat Stroke Model

Firoozeh Alavian<sup>1\*</sup>, Saeedeh Ghiasvand<sup>2</sup>

1. Department of Basic Sciences, Farhangian University, Tehran, Iran.

2. Department of Basic Sciences, Malayer University, Malayer, Iran.

#### ARTICLE INFORMATION

##### Article history

**Received:** 12 May 2018

**Accepted:** 04 August 2018

**Published online:** 04 February 2019

##### Keywords

Neuroprotection

Rat

Stachys lavandulifolia

Stroke

##### \* Corresponding Author:

Firoozeh Alavian; P.O. Box 1998963341,  
Department of Basic Sciences,  
Farhangian University, Hashemi  
Rafsanjani Junc, Tarbiat-e-Moallem St,  
Shahid Mohammad Mehdi Farahzadi  
Blvd, Qods Town, Tehran, Iran.

Fax: +98 31 3461 6268

Email: [f.alavian@cfu.ac.ir](mailto:f.alavian@cfu.ac.ir)

#### ABSTRACT

**Background and Aim:** Recent studies point to the protective effects of Stachys lavandulifolia against inflammation and oxidative stress. The purpose of this study was to investigate the neuroprotective effects of Stachys lavandulifolia on brain injury, blood-brain barrier permeability and edema volume in rat stroke model.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 17 male Wistar rats groups (n=6) were used; including control groups, sham and groups receiving doses of 50, 75 and 100 mg/kg/day of extract; for 30 days and orally by gavage. Two hours after the last gavage, the stroke groups were subjected to the Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO) model. 24 hours later, the volume of stroke, the blood-brain barrier permeability (BBB) and the volume of edema were investigated in the experimental groups. Results were analyzed by one-way ANOVA, Bonferroni post test through Graph Pad Prism software and designed through Excel.

**Ethical Considerations:** This study with research ethics code IR.UI.REC.1397.162 has been approved by research ethics committee at Isfahan University.

**Findings:** Pre-treatment with Hydroalcoholic Extract with doses of 50, 75 and 100 mg/kg/day reduced stroke size. The dose of 75mg/kg/day reduced the permeability of BBB and the edema volume compared with the stroke group.

**Conclusion:** The most effective dose of Stachys lavandulifolia is 75 mg/kg, which has a strong potential in neuroprotection and stroke prevention. This study could be useful in further investigating of neuroprotective effect of Stachys lavandulifolia.

© Copyright (2019) Arak University of Medical Sciences

Use your device to scan  
and read this article  
online:



Alavian F., Ghiasvand S. Neuroprotective Effects of Stachys Lavandulifolia Hydroalcoholic Extract on Size of Cerebral Ischemia, Blood-Brain Barrier Permeability and Edema Volume in Rat Stroke Model. J Arak Uni Med Sci. 2019; 21(7): 92-101.



# JAMS

مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

دوره بیست و یک، شماره هفت، بهمن و اسفند ۱۳۹۷

journal homepage: <http://jams.arakmu.ac.ir>



مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

مقاله پژوهشی

## اثرات حفاظت نوروئی عصاره هیدروالکلی چای کوهی بر روی اندازه ایسکمی مغزی، نفوذپذیری

### سد خونی-مغزی و حجم ادم در مدل سکنه مغزی موش صحرایی

فیروزه علیوان<sup>۱\*</sup>، سعیده قیاسوند<sup>۲</sup>

۱. گروه علوم پایه، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران.

۲. گروه علوم پایه، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

#### چکیده

زمینه و هدف: مطالعات اخیر بیانگر اثرات حفاظتی چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) در برابر التهاب و استرس اکسیداتیو است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات حفاظت نوروئی چای کوهی بر روی آسیب مغزی، نفوذپذیری سد خونی-مغزی و حجم ادم در مدل سکنه مغزی موش صحرایی بود.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش تجربی از ۱۷ گروه ۶تایی رت نر نژاد ویستار استفاده شد که شامل گروه‌های کنترل، شم و گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز عصاره چای کوهی به مدت ۳۰ روز و به صورت خوراکی از طریق گاواژ بودند. دو ساعت پس از آخرین گاواژ، گروه‌های سکنه در معرض مدل (MCAO) قرار گرفتند. ۲۴ ساعت بعد حجم سکنه، نفوذپذیری سد خونی-مغزی (BBB, Blood-brain barrier) و حجم ادم در گروه‌های آزمایشی بررسی شد. نتایج از طریق آنوای یک‌طرفه، آزمون تعقیبی بن‌فرونی و توسط نرم‌افزار Graph Pad Prism تجزیه و تحلیل و از طریق نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

**ملاحظات اخلاقی:** این مطالعه با کد اخلاق IR.UI.REC.1397.162 به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه اصفهان رسیده است.

**یافته‌ها:** پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی چای کوهی با دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز سبب کاهش سایز سکنه شد. دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز توانست نفوذپذیری BBB و حجم ادم را در مقایسه با گروه سکنه کاهش دهد.

**نتیجه‌گیری:** مؤثرترین دوز چای کوهی ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز است که دارای پتانسیل قوی در حفاظت نوروئی و پیشگیری از سکنه مغزی است. این مطالعه می‌تواند در تحقیقات بعدی در تشخیص اثرات حفاظت نوروئی چای کوهی مفید باشد.

#### اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۱۳

تاریخ انتشار: ۹۷/۱۱/۱۵

#### واژگان کلیدی

چای کوهی

حفاظت نوروئی

رت

سکنه مغزی

#### \* نویسنده مسئول:

فیروزه علیوان

آدرس پستی: ایران، تهران، شهرک قدس، بلوار

شهید محمد مهدی فرحزادی، تقاطع هاشمی

رفسنجانی، خیابان تربیت معلم، دانشگاه

فرهنگیان، گروه علوم پایه. کدپستی:

۱۹۹۸۹۶۳۳۴۱

تمایز: +98 31 3461 6268

Email: [f.alavian@cfu.ac.ir](mailto:f.alavian@cfu.ac.ir)

## ۱. مقدمه

ناشی از استرس اکسیداتیو به دلیل تقاضای بالای اکسیژن مغز و محتوای بالای چربی آن، به خصوص اسیدهای چرب اشباع نشده و فعالیت پایین سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در زمان سکته مغزی و نیاز به سیستم خنثی‌کننده (۸، ۱۵)، هم‌چنین، فراوانی سکته مغزی و عدم درمان قطعی برای آن، مطالعه در زمینه کاهش و پیشگیری از صدمات ایسکمی مغزی ضروری است. در این مطالعه به بررسی اثرات حفاظت نورونی عصاره هیدروالکلی چای کوهی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سکته مغزی در مدل MCAO پرداخته و بدین منظور شاخص‌های حجم سکته، میزان نفوذپذیری BBB و حجم ادم در تیمار با این گیاه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## ۲. مواد و روش‌ها

## حیوانات و شرایط آزمایشگاهی

در این مطالعه تجربی از رت‌های نر بالغ ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی، دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دسترسی کامل به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. تمامی آزمایش‌ها مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی Institutional Animal Ethics Committee (IAEC) انجام پذیرفت. حیوانات به‌طور تصادفی به ۱۷ گروه تقسیم شدند ( $n=6$ ) شامل: ۲ گروه کنترل (کنترل BBB و کنترل حجم ادم)، ۳ گروه شم (شم حجم آسیب، شم BBB و شم حجم ادم)، ۳ گروه سکته (برای حجم آسیب، BBB و حجم ادم) و ۳ گروه از هریک از دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز (۹ گروه) که عصاره چای کوهی را به‌صورت پیش‌تیمار دریافت می‌کردند. حیوانات به مدت یک ماه بین ساعت ۹ تا ۱۰ صبح، آب مقطر یا عصاره را به‌صورت گاوژ دریافت کردند.

## تهیه عصاره چای کوهی

پس از تأیید گونه موردنظر توسط گیاه‌شناس، بخش‌های هوایی گیاه از کوهستان‌های اطراف شهرستان دهاقان استان اصفهان جمع‌آوری و در سایه خشک شدند. سپس، بر روی ۱۰۰ گرم از پودر گیاه، ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد اضافه شد و به‌منظور

سکته مغزی سومین علت شایع مرگ‌ومیر در بیشتر کشورهای صنعتی پس از بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان است. اثرات سمیت نورونی استرس اکسیداتیو و ناهنجاری ناشی از آن در مناطق مغزی خاص به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده سکته مغزی مطرح شده‌اند (۳-۱). اگرچه درمان‌های پیشگیرانه مانند استفاده از هایپراکسی نورموباریک (۴)، ورزش (۵)، رژیم غذایی متنوع (۶) و مصرف اسید فولیک (۷) برای کاهش عوامل خطر (مثلاً فشارخون بالا، هیپرکلسترولمی و دیابت) موردتوجه قرار گرفته است، تاکنون تنها روش درمانی کارآمد، استفاده از پلاسمینوژن نوترکیب بافتی ترومبولیتیک است که به دلیل محدودیت زمانی استفاده، کاربرد گسترده‌ای ندارد (۸، ۹). گیاهان دارویی مدت‌هاست که به‌طور گسترده برای درمان سکته مغزی موردتوجه محققان قرار گرفته‌اند؛ به‌طوری‌که در سال‌های اخیر افزایش تقاضای گیاهان دارویی به‌عنوان روش‌های درمانی طبیعی، مؤثر و ایمن منجر به شناسایی انواع محصولات طبیعی با پتانسیل درمانی بالقوه در برابر اختلالات مختلف از جمله سکته مغزی شده است (۱۰، ۱۱). از این بین، گونه *Stachys lavandulifolia* که به‌عنوان چای کوهی شناخته می‌شود از زمان‌های قدیم مصرف دارویی و خوراکی داشته است. این گیاه از خانواده نعنائیان است. بسیاری از گونه‌های چای کوهی و ترکیبات آن‌ها (بیشتر فنول)، خواص بیولوژیکی متنوعی دارند که از آن جمله می‌توان به اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضددردی، مهار همانندسازی HIV و رقیق‌کنندگی خون اشاره کرد (۱۲، ۱۳). اثرات حفاظت نورونی این گیاه دارویی در مطالعات قبلی ثابت شده است؛ به‌عنوان مثال، عصاره آبی برگ چای کوهی دارای اثرات نوروپروتکتیو با افزایش نورون‌های آلفای شاخ قدامی نخاع پس از ایجاد ضایعه است. هم‌چنین، اثرات ضددردی و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی چای کوهی به دلیل فعالیت متابولیت‌های ثانویه آن از جمله: فلاونوئیدها، پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، تریپنوئیدها، کارتنوئیدها، کورکومین‌ها و کومارین‌ها تأیید شده است (۱۴). باتوجه به مستعد بودن شدید مغز نسبت به آسیب

بی‌هوش باز شده و از طریق بطن چپ، اوانس‌بلو با پرفیوز ۲۵۰ میلی‌لیتر سالین از بدن خارج می‌شد. این کار تا زمانی ادامه داشت که مایع بی‌رنگ از دهلیز راست خارج شود. در مرحله بعد، مغز حیوان خارج می‌شد و بافت مغز در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات هموژنیزه شده و به آن ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک ۶۰ درصد اضافه می‌شد تا پروتئین‌های آن رسوب کند. به دنبال آن، ۵ دقیقه ورتکس می‌شد و بعد به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سرد می‌گردید. آن‌گاه، ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ می‌شد و محلول رویی جدا شده، جذب نوری اوانس‌بلو توسط اسپکتروفوتومتر (Genova, Jenway) در ۶۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت آن طبق منحنی استاندارد تعیین می‌شد (۱۸).

#### اندازه‌گیری حجم ادم

بعد از جداسازی سر حیوان، مغز خارج می‌شد. مخچه، پل مغزی و پیازهای بویایی جدا می‌شدند و وزن خالص نیمکره‌های مغزی WW (وزن مرطوب) اندازه‌گیری می‌گردید. سپس وزن خشک DW (وزن خشک) بعد از قرار گرفتن ۲۴ ساعت در آن با دمای ۱۲۰ درجه اندازه‌گیری می‌شد. در نهایت، محتوی آب مغز بر اساس فرمول  $[(WW-DW)/WW] \times 100$  اندازه‌گیری می‌شد (۱۷).

#### اندازه‌گیری جریان خون و تعداد حرکات تنفسی

جریان خون حیوانات پس از بی‌هوشی با استفاده از دستگاه پاورلب (AD instrument Co, Australia) تعیین شد؛ ابتدا، با استفاده از دستگاه استریوتاکس و یک مته ظریف دندانپزشکی، منفذی به قطر ۲ میلی‌متر بر در سمت راست جمجمه، در یک میلی‌متری پشتی و پنج میلی‌متری کناری بریگما ایجاد می‌شد. سپس، یک پروب لیزری سوزنی روی سخت‌شامه قرار می‌گرفت. ثبت جریان، ۴۵ دقیقه قبل از انجام MCAO شروع می‌شد و تا وقتی که سیگنال لیزر داپلر به میزان زیادی افت می‌کرد (برای القای ایسکمی موفقیت‌آمیز، حدود ۸۰ درصد کاهش جریان خون مغزی ضروری است)، ادامه می‌یافت.

خروج بهتر عصاره، هر دو ساعت یک‌بار این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر قرار می‌گرفت تا عصاره بهتر خارج شود. پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول دو بار صاف‌شده و به کمک دستگاه روتاری (IKA, RV05 BASIC)، تغلیظ شده و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس، غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره با حل کردن پودر خشک در نرمال سالین تهیه شد (۱۶).

#### القای مدل MCAO

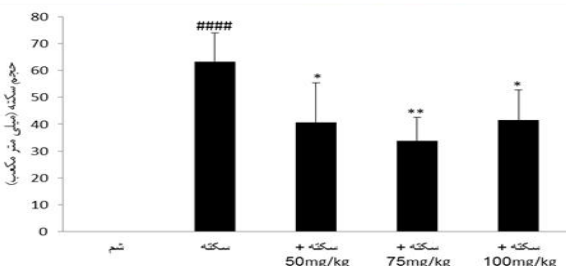
ابتدا حیوانات را از طریق تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات (۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) (Merck, Germany) بی‌هوش کرده و سپس با ایجاد برش در خط وسط گردن، انشعاب راست کاروتید و شاخه خارجی آن را مشخص می‌نماییم. عصب واگ و بافت‌های مجاور را با دقت از کاروتید جدا کرده، انتهای کاروتید راست و انشعاب خارجی آن را با نخ بخیه محکم گره‌زده، شاخه داخلی کاروتید راست و سرخرگ پتریگوپالاتین را با گیره ظریف موقتاً می‌بندیم. سپس، منفذ کوچکی در بدنه کاروتید راست ایجاد کرده و نخ نایلونی به ضخامت صفر تا ۳ میلی‌متر و طول ۲۰ تا ۲۲ میلی‌متر را از آن عبور داده تا جایی که ابتدای سرخرگ سری جلویی توسط نوک نخ نایلونی حس شود. طی جراحی، درجه حرارت ناحیه رکتال اندازه‌گیری گردید (Citizen-513w). جریان خون مغزی نیز به‌طور مداوم توسط لیزر داپلر (LDF; Moor Instrument, UK) ثبت شد. پس از گذشت یک ساعت، با خارج کردن نخ نایلونی، مجدداً جریان خون برقرار می‌شد (۱۷). در نهایت، ناحیه باز شده گردن، بخیه شده و حیوانات درون قفس‌های مجزا مستقر می‌شدند. گروه‌های شم در شرایط گروه‌های سکنه و عدم عبور نخ نایلونی تیمار شدند.

#### اندازه‌گیری نفوذپذیری BBB

نفوذپذیری BBB از طریق میزان خروج اوانس‌بلو (Merck, آلمان) برآورد شد. پس از ۳۰ دقیقه از القای مدل سکنه، اوانس‌بلو ۲ درصد با غلظت ۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق ورید دمی تزریق می‌شد. نیم ساعت بعد، نخ نایلونی خارج می‌شد و پس از ۲۴ ساعت، قفسه سینه حیوانات

### اثرات عصاره چای کوهی بر روی سایز سکتة

نمودار ۲، تأثیر دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز عصاره چای کوهی بر روی سایز سکتة را نشان می دهد. گروه سکتة در مقایسه با گروه شم، افزایش معنی داری در اندازه ناحیه آسیب دیده داشت ( $p < 0/0001$ ). هم چنین، دوز ۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز عصاره چای کوهی با سطح معنی داری  $p < 0/01$  و دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز با سطح معنی داری  $p < 0/05$  در مقایسه با گروه سکتة، سبب کاهش سایز سکتة شدند.



**نمودار ۲.** اثرات حفاظتی چای کوهی بر روی اندازه سکتة. تمامی برش های مغزی، ۲۴ ساعت پس از ۶۰ دقیقه اعمال سکتة با TTC رنگ آمیزی شدند. بخش های سفید برش ها، معرف نقاط با قطع جریان خون و سکتة هستند (سکتة تنها در نیمکره راست القاء شد).  $p < 0/05$  \* و  $p < 0/01$  \*\* در مقایسه با گروه سکتة و  $p < 0/0001$  \*\*\*\* در مقایسه با گروه شم می باشد. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار به کمک آزمون واریانس یک طرفه و پس آزمون بن فرونی نمایش داده شده اند.

### اثرات عصاره چای کوهی بر روی نفوذپذیری BBB

همان طور که نمودار ۳ الف نشان می دهد، گروه سکتة در مقایسه با گروه های کنترل و شم، افزایش معنی داری در خروج اوانس بلو داشت ( $p < 0/0001$ ). عصاره چای کوهی تنها در دوز ۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز قادر به کاهش نفوذپذیری BBB در مقایسه با گروه سکتة شد ( $p < 0/01$ ). نمودار ۳ ب، ورود اوانس بلو به نیمکره ی با سکتة مغزی (راست)

میزان حرکات تنفسی حیوانات نیز از طریق شمارش تعداد حرکات شکم آن ها اندازه گیری می شد (۱۵).

### تحلیل آماری

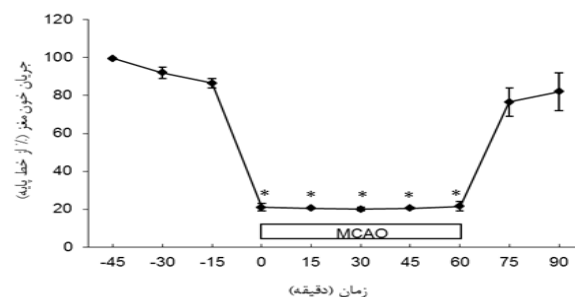
تحلیل داده ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (آنووا) و پس آزمون بن فرونی به کمک نرم افزار Graph Pad Prism صورت گرفت. رسم نمودارها توسط نرم افزار اکسل انجام شد. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش گردید.  $p < 0/05$  به عنوان حداقل سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

### ۳. ملاحظات اخلاقی

تمامی آزمایش ها مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی Institutional Animal Ethics Committee (IAEC) و با کد اخلاقی IR.UI.REC.1397.162 مصوب دانشگاه اصفهان انجام پذیرفت.

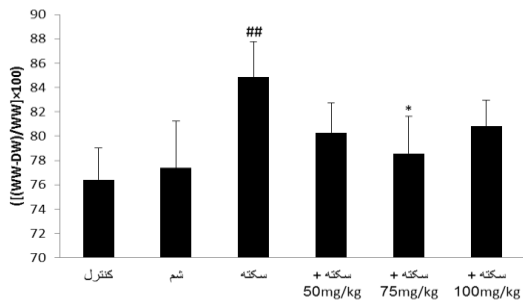
### ۴. یافته ها

بررسی تغییرات جریان خون شریان مغز میانی برای اطمینان از ایجاد مدل MCAO، کاهش جریان خون مغز تا حدود ۸۰ درصد از خط پایه ضروری است. از شروع جراحی تا انسداد رگ، مدتی طول می کشد؛ نقطه صفر، زمان شروع سکتة است. پس از برقراری جریان خون مجدد نیز مدتی زمان می برد تا جریان خون مجدداً افزایش یابد؛ البته به دلیل انسداد برخی مسیرها، جریان خون به ۱۰۰ درصد اولیه نمی رسد (۱۵)(نمودار ۱).



**نمودار ۱.** تغییرات جریان خون مغزی قبل، ضمن و پس از سکتة مغزی. MCAO (Middle Cerebral Artery Occlusion); rCBF (regional cerebral blood flow).  $p < 0/05$  \* . جریان خون نسبت به خط پایه سنجیده شده است. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار به کمک آزمون واریانس یک طرفه و پس آزمون بن فرونی نمایش داده شده اند.





**نمودار ۴.** اثرات حفاظتی چای کوهی در برابر ادم مغزی. محتوای آب مغزی گروه سکنته در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل افزایش معنی‌داری داشت ( $p < 0.001$ ). چای کوهی در دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) قادر به کاهش حجم ادم در مقایسه با گروه سکنته شد. داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار به کمک آزمون واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون بن‌فرونی نمایش داده شده‌اند. WW حرف اختصار Wet Weight (وزن مرطوب) و WD اختصار Weight Dry (وزن خشک) است.

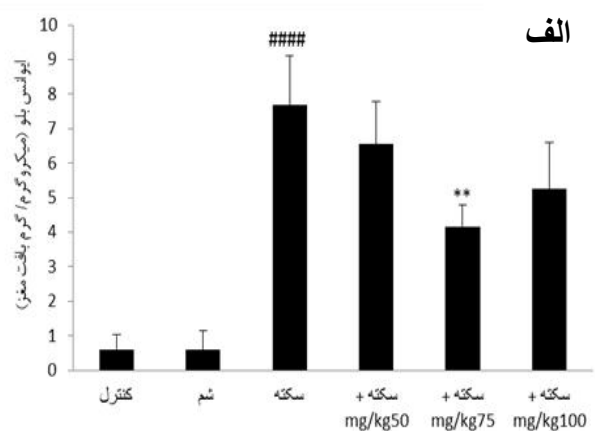
#### ۵. بحث

براساس نتایج مشاهده‌شده در این مطالعه، سایز سکنته، میزان نفوذپذیری BBB و حجم ادم در گروه‌های سکنته نسبت به گروه‌های کنترل یا شم افزایش معنی‌داری داشت. این یافته‌ها با نتایج کارهای قبلی مطابقت دارد (۱۷، ۱۹).

اثر عصاره چای کوهی بر روی سکنته مغزی برای اولین بار است که گزارش می‌شود. با انجام این پژوهش مشخص شد که ۳۰ روز مصرف خوراکی چای کوهی بر روی فاکتورهای مورد مطالعه ما اثرگذار است؛ به طوری که کاهش هر ۳ فاکتور یعنی حجم سکنته، BBB و حجم ادم به نسبت‌های متغیر در گروه‌های مختلف تیمار شده با گیاه مشاهده شد و دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز در هر ۳ آزمایش بهترین پاسخ‌ها را داشت.

بافت مغزی به دلیل متابولیسم بالا و ذخایر اکسیژن کم، حساسیت بسیار زیادی به آسیب ایسکمی دارد. معمولاً آسیب بافتی توسط واسطه‌های التهاب نوروئی اتفاق می‌افتد. طی ایسکمی میکروگلیاهای فعال شده می‌توانند سیتوکین‌های التهابی مثل  $TNF\alpha$ ،  $IL-1\beta$  و مولکول‌های سیتوتوکسیک دیگری مثل NO و ROS (reactive oxygen species) را تولید کنند (۲۰). آستروسیت‌ها نیز مانند میکروگلیاها قادر به تولید فاکتورهای التهابی مثل سیتوکین‌ها، کموکین‌ها و NO هستند (۲۱). سیتوکین‌ها بیان مولکول‌های اتصال سلول‌ها را

را نشان می‌دهد که حضور رنگ آبی در این نیمکره، بیان‌گر شکسته شدن BBB است.



الف

ب



**نمودار ۳.** الف) اثرات حفاظتی چای کوهی بر روی نفوذپذیری BBB. گروه سکنته در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل افزایش معنی‌داری در نفوذپذیری BBB داشت ( $p < 0.0001$ ). دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز از چای کوهی به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) نفوذپذیری این سد را در مقایسه با گروه سکنته کاهش داد. داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار به کمک آزمون واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون بن‌فرونی نمایش داده شده‌اند. ب) شکسته شدن BBB در نیمکره راست منجر به ورود اوانس‌بلو به نیمکره راست شده است.

#### اثرات عصاره چای کوهی بر روی حجم ادم

سکنته مغزی به‌طور معنی‌داری محتوای آب مغزی در نیمکره آسیب‌دیده را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد ( $p < 0.01$ ). دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز از عصاره چای کوهی سبب کاهش معنی‌دار محتوای آب مغزی در مقایسه با گروه سکنته شد ( $p < 0.05$ ) (نمودار ۴).

اثرات نوروپروتکتیو چای کوهی احتمالاً مربوط به ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند کوئینیک اسیدها، دی‌تریپنوییدها، ایریدوئیدها و فلاونوئیدها است. به‌عنوان مثال، وجود ترکیبات فلاونوئید عصاره هیدروالکلی گیاه در فرآیندهای ضدالتهابی و بازسازی نورونی از طریق افزایش تکثیر سلولی و کاهش فعالیت اکسیژن آزاد مؤثر است (۲۷). همچنین، اثرات حفاظتی تریپنوییدهای چای کوهی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش تولید ROS، افزایش گلوکاتایون و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و فعال شدن مسیر سیگنالینگ متعدد از جمله Nrf2 در آستروسیت‌ها را می‌توان به‌عنوان مکانیسم‌های احتمالی اثرات عصاره گیاه در بهبود آسیب مغزی ناشی از سکته در نظر گرفت که مطالعات مولکولی و اسپکتروفوتومتری نیز این اثرات را تأیید نموده‌اند (۲۶، ۲۸).

با وجود این‌که عصاره چای کوهی در درمان‌های سنتی به‌طور وسیعی استفاده می‌شوند، نظرات ضدونقیضی در مورد اثرات سمی آن مطرح است؛ به‌طوری‌که اثرات تراوتونیک دوزهای بالای این عصاره در تحقیقات مختلف ثابت شده است و مصرف طولانی آن می‌تواند اثرات سمی روی کبد، کلیه و طحال داشته باشد (۲۹). این امر یکی از عوامل محدودکننده دوزهای بالای چای کوهی است که اثبات آن در مغز نیاز به تحقیق بیشتر دارد. همچنین، مطالعه در مورد مکانیسم‌های احتمالی درگیر در کاهش اثرات نوروپروتکتیو چای کوهی دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز و بررسی تغییرات فشار خون در ۳ دوز کار شده و دوزهای بالاتر توصیه می‌شود.

#### ۶. نتیجه‌گیری

توافق علمی در مورد استفاده از غذاهای غنی از آنتی‌اکسیدان ممکن است به کاهش بروز بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو یا حتی خواص ضدپیری کمک کند. براساس نتایج این پژوهش و تایید تقریبی داده‌های ارائه شده احتمال دارد عصاره چای کوهی کاندیدی مناسب برای اهداف درمانی سکته‌مغزی باشد.

افزایش داده، به‌طوری‌که ۴ تا ۶ ساعت پس از شروع ایسکمی، لوکوسیت‌ها به دیواره رگ‌ها چسبیده و به بافت مغزی مهاجرت کرده و شروع به ترشح واسطه‌های پیش‌برنده التهاب و آسیب ثانویه مغزی می‌کنند (۲۲). تغییرات التهابی نورون‌ها در نهایت می‌تواند سبب تخریب BBB و تشکیل ادم و در نتیجه مرگ سلولی شوند (۲۳، ۲۴). مطالعات نشان داده که شکسته شدن BBB و ادم مغزی می‌تواند در نتیجه فعالیت متالوپروتئینازهای ماتریکس باشد. پیش‌ماده اختصاصی متالوپروتئینازها، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی مانند کلاژن، فیبرونکتین و لامینین هستند. گلیاها، سلول‌های آندوتلیال و نورون‌ها قادرند اشکال غیرفعال این آنزیم‌ها را بیان کنند که این اشکال غیرفعال توسط فرآیندهایی چون التهاب به فرم فعال تبدیل می‌شوند (۲۵)؛ بنابراین، مسیرهای التهاب نورونی می‌توانند اهدافی برای پیشبرد داروها در درمان ایسکمی باشند.

مطالعات متعدد ثابت کرده‌اند که چای کوهی خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی دارد؛ به‌طوری‌که مصرف ۶ هفته‌ای این چای در موش، سبب افزایش آزاد شدن عوامل آنتی‌اکسیدان مانند گلوکاتایون (GSH) و کاهش تولید عوامل اکسیدان مانند مالون‌دی‌آلدئید دی‌آلدئید (MDA) در نواحی مختلف مغز، خصوصاً مغز میانی، کرتکس و مخچه می‌شود (۳، ۲۶). در تحقیق حاضر، مناسب‌ترین دوز عصاره چای کوهی برای کاهش اثرات احتمالی ناشی از استرس اکسیداتیو سکته، ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز بود که موافق با کارهای انجام‌شده قبلی است (۱۶). احتمالاً در این دوز، مکانیسم‌های ضدالتهابی آنتی‌اکسیدانی و حفاظت نورونی در حداکثر مقدار فعالیت خود بوده‌اند؛ زیرا علی‌رغم انتظار، در دوز بالاتر ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، این اثر حفاظتی کاهش می‌یافت که ظاهراً مکانیسم‌های درگیر در این دوز به حالت اشباع رسیده‌اند. همچنین، شواهد محلی حاکی از افت شدید فشار و سرگیجه شدید در افرادی است که در این منطقه از جوشانده دوزهای بالای این گیاه استفاده می‌کنند که خود شاهدهی است در تفاوت اثرات دوزهای مختلف چای کوهی و نیاز به مطالعه بیشتر بر روی دوزهای بالاتر و مکانیسم‌های احتمالی.

#### ۷. تقدیر و تشکر

این مطالعه هیچ‌گونه حامی مالی نداشته است. نویسندگان از همکاری صمیمانه دکتر مشتاقیان و مشاوره علمی دکتر اعظم عسگری کمال تشکر را دارند.

#### ۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

#### ۹. تضاد منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

Archive of SID



## References

1. Faraji F, Ranjbar A, Eshrati B, Talaie A, Shafie N, Pirasteh S. Comparing the oxidative stress indexes of CVA patients with control group. *Arak Medical University Journal*. 2008; 11(3):109-16.
2. Darabi S, Mohammadi MT, Noroozadeh A. Neuroprotective Effects of Fullerenol against Reperfusion Injuries after Focal Transient Cerebral Ischemia in Rat. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. [Research (Original)]. 2017; 26(144):250-64.
3. Vasilopoulou CG, Kontogianni VG, Linardaki ZI, Iatrou G, Lamari FN, Nerantzaki AA, et al. Phytochemical composition of mountain tea • from *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* and evaluation of its behavioral and oxidant/antioxidant effects on adult mice. *European journal of nutrition*. 2013; 52(1):107-16.
4. Alavian F, Hajizadeh S, Javan M, Bigdeli MR. Evaluation of HIF1 $\alpha$  EXPRESSION in Ischemic Tolerance Induced by Intermittent Normobaric Hyperoxia in the Rat Model of Stroke. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2012; 287-95.
5. Chen B-L, Guo J-B, Liu M-S, Li X, Zou J, Chen X, et al. Effect of traditional Chinese exercise on gait and balance for stroke: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2015; 10(8): e0135932.
6. Lakkur S, Judd SE. Diet and stroke: recent evidence supporting a Mediterranean-style diet and food in the primary prevention of stroke. *stroke*. 2014; 46(7):2007-11.
7. Huo Y, Li J, Qin X, Huang Y, Wang X, Gottesman RF, et al. Efficacy of folic acid therapy in primary prevention of stroke among adults with hypertension in China: the CSPPT randomized clinical trial. *The Journal of the American Medical Association*. 2015; 313(13):1325-35.
8. Förstermann U, Xia N, Li H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation research*. 2017; 120 (4):713-35.
9. Xian Y, Federspiel JJ, Grau-Sepulveda M, Hernandez AF, Schwamm LH, Bhatt DL, et al. Risks and benefits associated with prestroke antiplatelet therapy among patients with acute ischemic stroke treated with intravenous tissue plasminogen activator. *The Journal of the American Medical Association neurology*. 2016; 73(1):50-9.
10. Rabiei Z, Gholami M, Rafieian kopaei M. Effect of Lavender on Blood Brain Barrier Permeability in Rats Subjected to Ischemia. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. [Research(Original)]. 2015; 25(129):46-56.
11. Simonyi A, Wang Q, Miller RL, Yusof M, Shelat PB, Sun AY, et al. Polyphenols in cerebral ischemia. *Molecular neurobiology*. 2005; 31(1-3):135-47.
12. Kitic D, Brankovic S, Radenkovic M, Savikin K, Zdunic G, Kocic B, et al. Hypotensive, vasorelaxant and cardiodepressant activities of the ethanol extract of *Sideritis raeseri* spp. *raeseri* Boiss & Heldr. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2012; 63:531-5.
13. Tadić VM, Jeremic I, Dobric S, Isakovic A, Markovic I, Trajkovic V, et al. Anti-inflammatory, gastroprotective, and cytotoxic effects of *Sideritis scardica* extracts. *Planta medica*. 2012; 78(05):415-27.
14. Hajhashemi V, Ghannadi A, Sedighifar S. Analgesic and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic, polyphenolic and boiled extracts of *Stachys lavandulifolia*. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2007; 1(2):92-8.
15. Alavian F, Hajizadeh S, Javan M, Mazloom R. Evaluation of ERK activity on Ischemic Tolerance-induced by Preconditioning with Intermittent Normobaric Hyperoxia in the Rat Model of Stroke. *Arak Medical University Journal (AMUJ)*. 2017; 20(123):41-53.
16. Neshat SB, Tehranipour M, Balanejad SZ. The effect of aqueous phase and hydroalcoholic extract of *stachys lavandulifolia* on VEGF gene expression changes and angiogenesis of chick embryo chorioallantoic membrane. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences*. 2017; 20(4):117-23.
17. Alavian F, Hajizadeh S, Bigdeli MR, Javan M. The role of protein kinase C in ischemic tolerance induced by hyperoxia in rats with stroke. *EXCLI journal*. 2012; 11:188.
18. Alavian F, Hajizadeh S, Javan M, Bigdeli MR. Effects of preconditioning with intermittent normobaric hyperoxia on TNFR1 and TNFR2 expression in the rat brain. *Physiology and Pharmacology*. 2017; 21(2):110-9.
19. Alavian F, Hajizadeh S, Bigdeli MR, Javan M. Effect of intermittent normobaric hyperoxia and protein kinase C activity on blood-brain barrier permeability. *Journal of Shahrekord*

- University of Medical Sciences. 2012; 14(3):40-50.
20. Xiong X-Y, Liu L, Yang Q-W. Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke. *Progress in neurobiology*. 2016; 142:23-44.
  21. Barata-Antunes S, Cristóvão AC, Pires J, Rocha SM, Bernardino L. Dual role of histamine on microglia-induced neurodegeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2017; 1863(3):764-9.
  22. Swanson R, Ying W, Kauppinen T. Astrocyte influences on ischemic neuronal death. *Current Molecular Medicine*. 2004;4:193-205.
  23. Gelderblom M, Sobey CG, Kleinschnitz C, Magnus T. Danger signals in stroke. *Ageing research reviews*. 2015; 24:77-82.
  24. Sanalmath SK, Gopal P, Parker JR, Downs RK, Parker JC, Dawn B. Global cerebral ischemia due to circulatory arrest: insights into cellular pathophysiology and diagnostic modalities. *Molecular and cellular biochemistry*. 2017; 426(1-2):111-27.
  25. Del Zoppo G, et al. Microglial activation and matrix protease generation during focal cerebral ischemia. *Stroke*. 2007; 38:646-51.
  26. González-Burgos E, Carretero ME, Gómez-Serranillos MP. Nrf2-dependent neuroprotective activity of diterpenoids isolated from *Sideritis* spp. *Journal of ethnopharmacology*. 2013; 147(3):645-52.
  27. Yin F, Liu J, Zheng X, Guo L, Xiao H. Geniposide induces the expression of heme oxygenase-1 via PI3K/Nrf2-signaling to enhance the antioxidant capacity in primary hippocampal neurons. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2010; 33(11):1841-6.
  28. González-Burgos E, Carretero ME, Gómez-Serranillos MP. Diterpenoids isolated from *Sideritis* species protect astrocytes against oxidative stress via Nrf2. *Journal of natural products*. 2012; 75(10):1750-8.
  29. Arbabi Bidgoli S, Jamali Zavarhei M. Assessment of target organ toxicity induced by *Stachys Lavandulifolia* Vahl: a pathological study in female mice. *Medical Sciences Journal. [Experimental]*. 2014; 24(2):81-7.