

اثر تجویز خوراکی عصاره گیاه مریم گلی لاله زاری بر تعداد سلول های عصبی قشر مخ و هیپوکامپ به دنبال ایسکمی - ریپرفیوژن در موش صحرایی

راحیل حق جو*، مینا تجلی

بخش علوم تشریح، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۶

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۷/۵

چکیده:

زمینه و هدف: ایسکمی مغز قدامی، قطع کامل جریان خون به بافت مغز و آسیب نوروون ها را القا می کند. در این مطالعه اثر عصاره مریم گلی لاله زاری بر تعداد سلول های قشر مخ و نواحی مختلف هیپوکامپ به دنبال ایسکمی - ریپرفیوژن ارزیابی شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ به ۷ گروه مساوی ۵ تایی تقسیم شدند. گروه یک کنترل و گروه ۲ گروه شم و بدون ایسکمی بود، گروه ۲، ۴، ۵، ۶ و ۷ گروه های ایسکمی بودند. سرخرگ های کاروتید مشترک چپ و مهره ای چپ آنها، ۱۰ دقیقه با تورنیکت مسدود شدند. گروه دو دریافت نکرد و گروه شم، فقط سرم فیزیولوژی دریافت کرد. گروه ۴، مریم گلی (۳/۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه ۵، سیلیمارین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، ۲ ساعت بعد از ایسکمی، گروه ۶، همان دوز مریم گلی و گروه ۷، سیلیمارین، ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۰ ساعت قبل از ایسکمی دریافت کردند. پس از ۲۴ ساعت ریپرفیوژن، مغز موش ها برای مطالعات بافت شناسی آماده و مقاطع بافتی مخ و هیپوکامپ به روش هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی و شمارش سلولی شد. داده ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: تعداد سلول های عصبی قشر مخ و لایه هرمی نواحی شاخ عامون (CA1 و CA2) هیپوکامپ در گروه های ۲، ۴ و ۵ در مقایسه با کنترل کاهش معنی داری یافت ($P < 0.05$). کاهش آشکاری در تعداد سلول های عصبی قشر مخ و تمام نواحی هیپوکامپ در گروه های ۲، ۴، ۶، ۷، لایه هرمی ناحیه CA3 و لایه گرانولار ناحیه برجستگی دندان های هیپوکامپ در گروه های ۲، ۴ و ۵ در مقایسه با کنترل مشاهده نشد.

نتیجه گیری: عصاره مریم گلی با اثر آنتی اکسیدانی مشابه سیلیمارین، مغز قدامی را از آسیب های ایسکمی - ریپرفیوژن محافظت می کند.

واژه های کلیدی: مریم گلی لاله زاری، قشر مخ، هیپوکامپ، ایسکمی - ریپرفیوژن، موش صحرایی

*نویسنده مسئول: راحیل حق جو، شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی، بخش علوم تشریح

Email: rahil_haghjoo@yahoo.com

مقدمه

هم اثر گذاشته و حتی باعث از کار افتادن چندین ارگان که منجر به مرگ می‌گردد (۹). تاکنون آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی زیادی جهت درمان یا پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد معرفی شده‌اند. از طرفی ثابت شده که تعدادی از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی دارای عوارض جانبی می‌باشند و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی تعدادی از مشتقات گیاهی غیر از ویتامین‌ها، در بسیاری موارد بسیار بیشتر از ترکیب‌های شناخته شده مثل ویتامین E، C و بتاکاروتن شناسایی شده‌اند (۱۰).

در گذشته گیاهان دارویی نقش مهمی در سلامت انسان‌ها داشته و امروزه نیز در بسیاری کشورها، نقش فعالی در حفظ سلامت ایفا می‌کنند. برخی گیاهان دارای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند (۱۱). از آنجایی که در طول آسیب‌های ایسکمی - ریپرفیوژن گونه‌های اکسیژن واکنشگر نقش اصلی ایفا می‌کنند، استفاده از گیاهان با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی در بهبود آسیب‌ها مفید می‌باشد. گیاه سالویا با نام فارسی مریم گلی از خانواده نعنائیان است که دارای اثرات سودمندی در درمان افسردگی و کاهش حافظه مرتبط با سن می‌باشد (۱۲). گونه‌های مختلف گیاه مریم گلی به مدت طولانی در کشورهای آسیایی برای درمان بالینی بیماری‌های مرتبط با اختلالات عروقی مورد استفاده قرار گرفته است. این گیاه دارویی محتوی ترکیبات فعال فراوانی است که قادر به جذب پراکسید و مهار

ایسکمی مغز یک دلیل اصلی ناتوانی در افراد بالغ می‌باشد. ایسکمی مغز قدامی در ایست قلبی - تنفسی در بیماران یا به صورت تجربی در حیوانات، مرگ سلولی نورون‌ها را القا می‌کند (۱). ایسکمی مغز قدامی همچنین باعث قطع کامل جریان خون، عدم اکسیژن رسانی کافی به بافت مغز و در نتیجه منجر به کاهش مصرف گلوکز و آدنوزین تری فسفات می‌گردد. استرس اکسیداتیو به عنوان یکی از فاکتورهای اولیه، آسیب نورون‌ها را در ایسکمی مغز تشدید می‌کند (۲). سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل، پراکسید-هیدروژن و رادیکال پراکسی نیتريت که بعد از آسیب ایسکمی- ریپرفیوژن تولید می‌شوند، نقش مهمی در فقدان نورونی بعد از ایسکمی مغز ایفا می‌کنند (۳). رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید با القای پراکسیداسیون لیپیدها غشای سلولی را تخریب می‌کنند (۴). مغز به علت سرعت بالای فعالیت اکسیداتیو، تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر و میزان بالای اسیدهای چرب غیر اشباع، توانایی آنتی‌اکسیدانی نسبتاً پایین، فعالیت ترمیمی پایین و عدم توانایی تقسیم نورون‌ها، نسبت به استرس اکسیداتیو، آسیب پذیر می‌باشد (۵). در طول آسیب ایسکمی، بافت‌ها در معرض سیتوکین‌ها و گونه‌های اکسیژن واکنشگر که به وسیله سلول‌های التهابی آزاد می‌شوند، قرار گرفته که منجر به آسیب التهابی و آپوپتوز سلولی می‌گردد. آسیب ایسکمی در یک ارگان بر ارگان‌های دیگر مثل کبد، قلب (۶)، کلیه (۷) و ریه (۸)

بروز مولکول‌های اتصالی در اندوتلیوم عروقی و لوکوسیت‌ها می‌باشند (۱۳). در مطالعه‌ای، اثر درمانی سالویا میلیتوریزا در آسیب‌های ناشی از قطع و برقراری مجدد جریان خون در مغز موش صحرایی، به خاصیت از بین بردن رادیکال‌های آزاد نسبت داده شده است (۱۴). گیاه سالویا میلیتوریزا، با مسدود کردن کانال‌های کلسیمی در کبد در جریان آسیب‌های ناشی از قطع و برقراری جریان خون، از افزایش بیش از حد یون کلسیم و آسیب کبدی جلوگیری می‌کند (۱۵)، همچنین رادیکال‌های آزاد ایجاد شده طی روند قطع و برقراری جریان خون در غشای میتوکندری‌های میوکارد را از بین می‌برد (۱۶).

هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره گیاه مریم گلی لاله‌زاری در پیشگیری از آسیب‌های ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن در قشر مخ و هیپوکامپ موش صحرایی بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی بر روی ۳۵ سر موش صحرایی سالم نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم انجام شد. تمام حیوانات در اتاقی با تهویه هوایی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، با دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد) نگهداری و با پلت‌های مخصوص جوندگان و آب کافی تغذیه شدند. این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و

هم‌چنین کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم شیراز انجام گردید.

گروه‌های مورد آزمایش شامل؛ گروه ۱: کنترل، گروه ۲: عدم تجویز دارو، ۱۰ دقیقه ایسکمی، ۲۴ ساعت ریپرفیوژن، گروه ۳: دستکاری سرخرگ کاروتید مشترک چپ و سرخرگ مهره‌ای چپ بدون ایسکمی، تجویز سالین نرمال، نمونه‌گیری پس از ۲۴ ساعت، گروه ۴: ۱۰ دقیقه ایسکمی، تجویز عصاره مریم گلی ۲ ساعت بعد از ایسکمی، نمونه‌گیری بعد از ۲۴ ساعت، گروه ۵: ۱۰ دقیقه ایسکمی، تجویز داروی سیلیمارین ۲ ساعت بعد از ایسکمی، نمونه‌گیری بعد از ۲۴ ساعت، گروه ۶: تجویز عصاره مریم گلی، ۷۲، ۴۸، ۲۴، و ۰ ساعت قبل از ایسکمی، ۱۰ دقیقه ایسکمی، ۲۴ ساعت ریپرفیوژن و گروه ۷: تجویز داروی سیلیمارین، ۷۲، ۴۸، ۲۴ و ۰ ساعت قبل از ایسکمی، ۱۰ دقیقه ایسکمی، ۲۴ ساعت ریپرفیوژن می‌باشد.

عمل جراحی تحت بیهوشی عمومی انجام شد که این عمل با داروی کتامین ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی زایلازین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی انجام شد. به دنبال آماده‌سازی جراحی، سرخرگ کاروتید مشترک و سرخرگ مهره‌ای سمت چپ با ایجاد برش در خط وسط ناحیه گردن در معرض دید قرار گرفت و به مدت ۱۰ دقیقه مسدود گردید. پس از ۱۰ دقیقه، انسداد عروق باز شد و برش پوست بخیه گردید. سپس حیوانات به قفس‌هایشان بازگردانده شدند.

مطالعه بافت شناسی برای اندازه‌گیری تعداد سلول های عصبی قشر مخ، لایه هرمی-نواحی CA1، CA2، CA3 و سلول‌های لایه گرانولر ناحیه برجستگی دندان‌های هیپوکامپ انجام شد. نمونه‌های فیکس شده با فرمالین، آب‌گیری، شفاف‌سازی و در پارافین آغشته سازی شدند. به منظور ارزیابی بافت‌شناسی، مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرون برش داده شدند. چسباندن و رنگ‌آمیزی به روش همتوکسیلین و ائوزین نیز انجام شد. جهت شمارش سلول‌های عصبی قشر مخ و هیپوکامپ از یک گراتیکول شطرنجی استفاده شد به طوری که در هر مقطع بافتی ۱۰ ناحیه به صورت تصادفی مشخص و شمارش و میانگین سلول‌ها در هر میلی‌متر مربع (واحد سطح) محاسبه شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده، تعداد سلول‌های عصبی قشر مخ در گروه ۲ که ایسکمی بدون تجویز عصاره مریم گلی و سیلیمارین صورت گرفت، گروه ۴ که ۳/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره، ۲ ساعت بعد از ایسکمی تجویز شد و در گروه ۵ که تجویز داروی سیلیمارین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۲ ساعت پس از ایسکمی صورت گرفت، در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). در گروه ۶

برای تهیه عصاره الکلی گیاه مریم گلی لاله زاری از روش‌های استاندارد عصاره‌گیری استفاده شد. در ابتدا ۱۰۰۰ گرم از قسمت‌های هوایی گیاه (برگ و سر شاخه‌های گلدار) تهیه شده و به وسیله آسیاب برقی پودر گردید. پودر حاصله در ظرف شیشه‌ای درب داری ریخته و به آن الکل طبی ۹۶ درصد اضافه گردید و حدود ۷۲ ساعت اجازه داده شد تا خوب خیس بر دارد و در این مدت هر از چند گاهی ظرف تکان داده شد تا عصاره در الکل به طور کامل حل شود، سپس مخلوط حاصل دوباره از صافی عبور داده شده و صاف گردید. برای اطمینان بیشتر از این که ذراتی از گیاه مریم گلی در مخلوط حاصل نباشد، مخلوط حاصله به وسیله دستگاه سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ عصاره حاصله در فر قرار گرفت تا الکل آن تبخیر شده و پس از تبخیر الکل عصاره به صورت پودر به دست آمد.

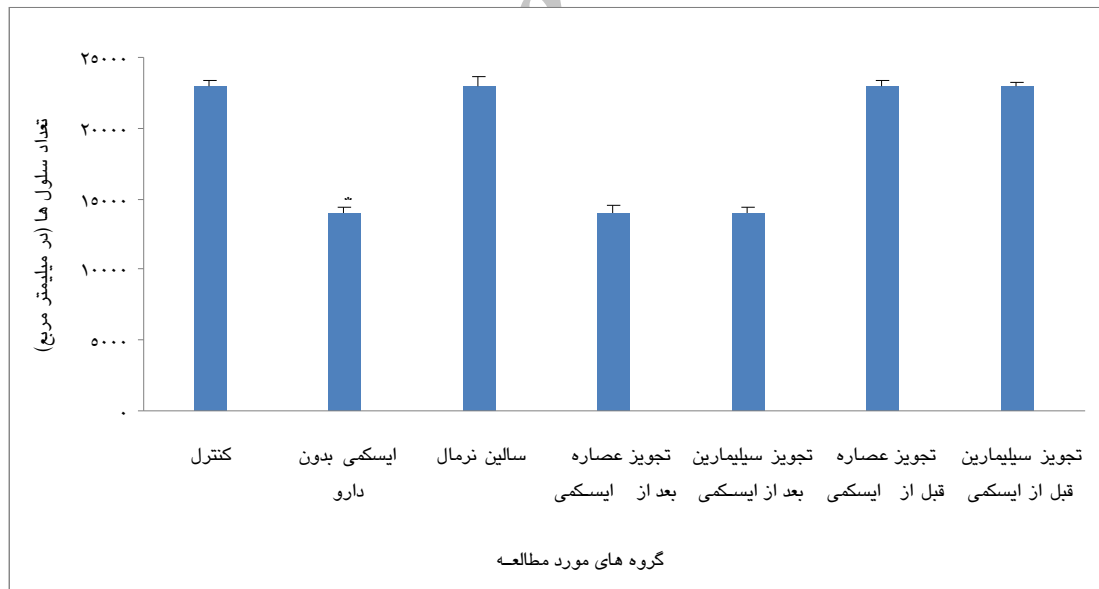
در گروه ۴، عصاره مریم گلی (۳/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و در گروه ۵، داروی سیلیمارین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت خوراکی ۲ ساعت بعد از جراحی تجویز شد. در گروه ۶، همان دوز عصاره مریم گلی و در گروه ۷، همان دوز سیلیمارین، ۷۲، ۴۸، ۲۴ و ۰ ساعت قبل از جراحی تجویز شد.

پس از پایان کار موش‌ها به صورت عمیق با دی اتیل اتر بیهوش شدند و مغز آن‌ها تشریح، مخ‌ها خارج و نیم‌کره‌های چپ مخ برش داده شد و در بافر فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت غوطه ور شد.

CA1 و CA2 در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$)، اما تعداد سلول‌های هرمی ناحیه CA3 و سلول‌های گرانولر ناحیه برجستگی دندان‌های، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). بر اساس نتایج به دست آمده، تعداد سلول‌های لایه هرمی‌نواحی CA1، CA2، CA3 و سلول‌های لایه گرانولر ناحیه برجستگی دندان‌های هیپوکامپ در گروه‌های ۶ و ۷ در مقایسه با گروه کنترل کاهش آشکاری پیدا نکرد ($p > 0.05$). تعداد سلول‌های نامبرده، در گروه ۳ تقریباً مشابه گروه کنترل بود و کاهش معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$) (نمودارهای ۲ و ۳).

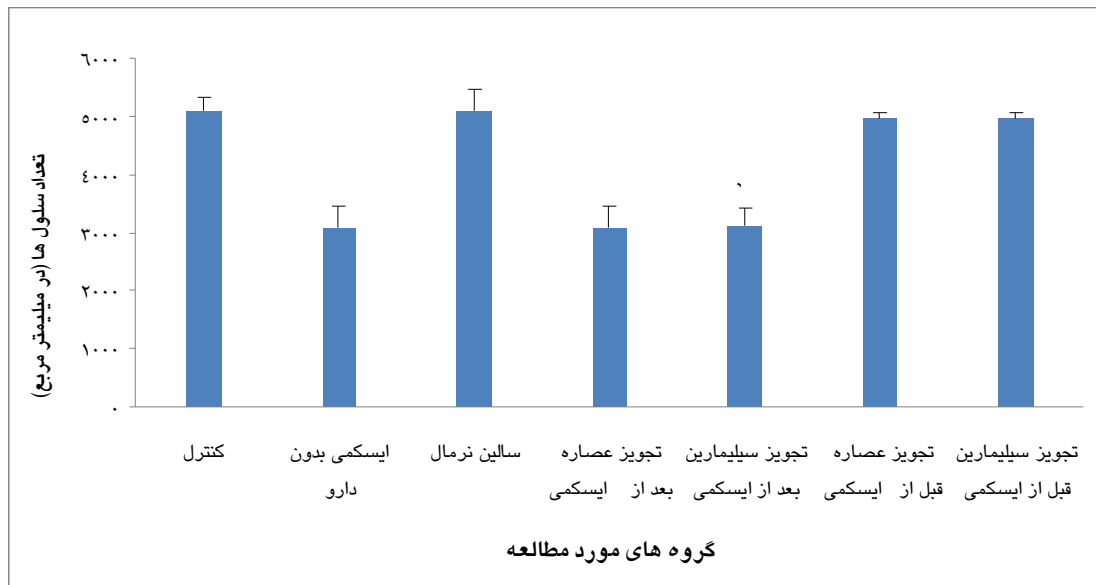
که عصاره مریم گلی و در گروه ۷ که داروی سیلیمارین ۷۲، ۴۸، ۲۴ و ۰ ساعت قبل از ایسکمی دریافت کردند، تعداد سلول‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری پیدا نکرد ($p > 0.05$). تعداد سلول‌ها در گروه ۳ که فقط سرم فیزیولوژی دریافت کردند، تقریباً مشابه گروه کنترل بود ($p > 0.05$) (نمودار ۱).

اثر عصاره مریم گلی لاله زاری بر تعداد سلول‌های نواحی مختلف هیپوکامپ (CA1، CA2، CA3 و برجستگی دندان‌های): شمارش سلول‌های لایه هرمی نواحی CA1، CA2، CA3 و سلول‌های لایه گرانولر ناحیه برجستگی دندان‌های هیپوکامپ نشان داد که در گروه‌های ۲، ۴ و ۵ تعداد سلول‌های لایه هرمی نواحی



نمودار ۱: مقایسه تعداد سلول‌های عصبی قشر مخ (انحراف معیار ± میانگین) در هفت گروه مورد مطالعه

ستون‌های ستاره دار نشان دهنده کاهش معنی دار تعداد سلول‌های عصبی قشر مخ در گروه ایسکمی بدون دریافت دارو، گروه تجویز عصاره بعد از ایسکمی و گروه تجویز سیلیمارین بعد از ایجاد ایسکمی نسبت به کنترل



نمودار ۲: مقایسه تعداد سلول های لایه هرمی ناحیه CA1 (انحراف معیار \pm میانگین) هیپوکامپ در هفت گروه مورد مطالعه

ستون های ستاره دار نشان دهنده کاهش معنی دار تعداد سلول های لایه هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه ایسکمی بدون دارو، گروه تجویز عصاره بعد از ایسکمی و گروه تجویز سیلیمارین بعد از ایجاد ایسکمی نسبت به کنترل



نمودار ۳: مقایسه تعداد سلول های لایه هرمی ناحیه CA2 (انحراف معیار \pm میانگین) هیپوکامپ در هفت گروه مورد مطالعه

ستون های ستاره دار نشان دهنده کاهش معنی دار تعداد سلول های لایه هرمی ناحیه CA2 هیپوکامپ در گروه ایسکمی بدون دارو، گروه تجویز عصاره بعد از ایسکمی و گروه تجویز سیلیمارین بعد از ایجاد ایسکمی نسبت به کنترل

بحث

ایسکمی مغز ممکن است در نتیجه ایست قلبی یا به دنبال سکته یا خون‌ریزی مغز ایجاد شود (۱۷-۱۹). آسیب ایسکمی به نورون‌ها به علت قطع جریان خون، فقدان اکسیژن رسانی، افت آدنوزین تری فسفات و اکسیژن رسانی مجدد صورت می‌گیرد (۲۰). استرس اکسیداتیو، منجر به اکسیداسیون مولکول‌های حیاتی و آسیب سلولی می‌گردد. افزایش پراکسیداسیون لیپیدها پیامد اصلی استرس اکسیداتیو می‌باشد (۲۱).

تا کنون طیف وسیعی از فعالیت‌ها برای جنس سالویا گزارش شده که در اختلالات سیستم عصبی مرکزی مؤثر می‌باشد. یکی از این‌ها شامل؛ فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۲۲). اسانس این گیاه برای تقویت حافظه مورد استفاده قرار گرفته است (۲۳). اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره سالویا به ترکیب‌های فنولیک و مونوترپنیک نسبت داده شده است (۲۴). اسید رزمارینیک، ترکیب فنولیک غالب موجود در گیاه سالویا می‌باشد و اثرات آن به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی این ترکیب که به عنوان جذب‌کننده گونه‌های اکسیژن و اکنشگر عمل می‌کند نسبت داده شده است (۲۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولیک سالویا آفیسینالیس قابل مقایسه با اسید آسکوربیک می‌باشد. بر اساس مطالعه‌های پیشین فعالیت آنتی‌اکسیدانی سالویا آفیسینالیس به

وجود ترکیبات پلی فنولیک نسبت داده شده است (۲۶ و ۲۷). مطالعه‌های مورد اثر ضد ایسکمی عصاره آبی برگ و دانه سالویا لریفولیا در هیپوکامپ موش صحرایی نشان می‌دهد که آسیب نورون‌ها در تمام نواحی هیپوکامپ به دنبال پیش درمانی با عصاره آبی دانه کاهش می‌یابد (۲۸). بر اساس نتایج مطالعه دیگری، پیش درمانی با عصاره‌های آبی و الکی ریشه سالویا لریفولیا با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی به طور آشکاری غلظت بالا رفته پراکسیدهای لیپید در هیپوکامپ و عضله موش صحرایی به دنبال آسیب‌های ایسکمی-ریپرفیوژن را کاهش می‌دهد (۲۹ و ۲۸). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که ۱۰ دقیقه ایسکمی و به دنبال آن ۲۴ ساعت ریپرفیوژن در مغز قدامی، به طور آشکاری تعداد سلول‌های عصبی قشر مخ و لایه هرمی نواحی CA1 و CA2 هیپوکامپ در گروه‌های ۲، ۴ و ۵ را در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌دهد، در حالی که در گروه ۶ که عصاره مریم گلی (۲/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه ۷ که داروی سیلیمارین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را ۷۲، ۴۸، ۲۴ و ۰ ساعت قبل از ایسکمی دریافت کردند کاهش معنی‌داری در تعداد سلول‌های عصبی قشر مخ و لایه هرمی نواحی CA1، CA2، CA3 و لایه گرانولر ناحیه برجستگی دندان‌های هیپوکامپ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد. نورون‌های هرمی در ناحیه CA1 هیپوکامپ اساساً

بروز ناقل گلوتامات گلیال-۱ در ناحیه CA3 هیپوکامپ بعد از ایسکمی ۱۰ دقیقه‌ای در مغز مشاهده کردند (۳۷). در ایسکمی- رپرفیوژن حیوانات، سالیوا از آسیب سکتة قلبی پیشگیری کرده، پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را بهبود می‌بخشد (۳۸-۴۰ و ۱۳) و رادیکال‌های آزاد را جذب می‌کند (۳۹-۴۲ و ۱۳، ۱۱).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه، پیش درمانی با عصاره الکی گیاه مریم گلی لاله‌زاری با ویژگی آنتی‌اکسیدانی قوی مشابه داروی سیلیمارین، مغز قدامی را از آسیب‌های ناشی از ایسکمی- رپرفیوژن محافظت می‌کند.

پیشنهاد می‌شود در مطالعه‌های مشابه در آینده، تجزیه و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده عصاره مریم گلی لاله‌زاری، تعیین میزان اثر هر یک از اجزاء تشکیل دهنده این عصاره در پدیده ایسکمی رپرفیوژن و بررسی فراساختاری سلول‌های عصبی قشر مخ و هیپوکامپ به دنبال آسیب‌های ایسکمی- رپرفیوژن انجام پذیرد.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر بخشی از پایان نامه دکترای تخصصی بافت‌شناسی بوده که با حمایت مالی دانشگاه شیراز انجام شد.

نسبت به ایسکمی آسیب‌پذیر می‌باشند (۳۰). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که آسیب ایسکمی آپوپتوز نورونی را در ناحیه CA1 هیپوکامپ افزایش و سطح گوانوزین مونوفسفات حلقوی را کاهش می‌دهد. گوانوزین مونوفسفات حلقوی نقش اساسی در عملکردهای مغز شامل تولید نورون‌ها ایفا می‌کند (۳۱). مطالعه دیگری نشان داد که افزایش پتاسیم بعد از ایسکمی شدید منجر به کاهش تحریک‌پذیری نورون‌های ناحیه CA1 می‌گردد و در مرگ سلول‌های عصبی هیپوکامپ دخالت دارد (۳۲). مطالعه حاضر همچنین نشان داد که ایسکمی- رپرفیوژن اثر آشکاری بر تعداد سلول‌های لایه هرمی ناحیه CA3 و لایه گرانولر ناحیه برجستگی دندان‌های در مقایسه با گروه کنترل نداشت. مطالعه‌های گذشته همچنین نشان داده که نورون‌های ناحیه CA3 و برجستگی دندان‌های هیپوکامپ نسبت به مدت کوتاه ایسکمی که برای نورون‌های هرمی ناحیه CA1 کشنده است، مقاوم می‌باشند (۳۳).

گلوتامات یک ناقل تحریکی اصلی در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. مطالعه‌های زیادی ثابت کرده‌اند که گلوتامات خارج سلولی بعد از هیپوکسی - ایسکمی، در مغز تجمع می‌یابد که به عنوان یک اگزوتوکسین در القای مرگ تأخیری نورون‌ها، بعد از ایسکمی مغز عمل می‌کند (۳۴-۳۵). ناقل گلوتامات گلیال-۱ نوعی پروتئین می‌باشد که گلوتامات را از فضای خارج سلولی پاک کرده و گلوتامات خارج سلولی را در زیر سطح مسمومیت نورونی در مغز نگه می‌دارد (۳۶). بروهن و همکاران افزایش پیشرونده

Archive of SID

REFERENCES:

1. Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F. Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. *Neurology* 1987; 37 (8): 1281-6.
2. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *Cereb Blood Metab* 2001; 21(1): 2-14.
3. Oliver CN, Starke-Reed PE, Stadtman ER, Liu GJ, Carney JM, Floyd RA. Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity and production of free radicals during ischemia/reperfusion-induced injury to gerbil brain. *Nat Acad Sci USA* 1990; 87: 5144-7.
4. Bromont C, Marie C, Bralet J. Increased lipid peroxidation in vulnerable brain regions after transient forebrain ischemia in rats. *Stroke* 1989; 20: 918-24.
5. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1993; 49: 577-87.
6. Horton JW, White DJ. Free radical scavengers prevent intestinal ischemia-reperfusion-mediated cardiac dysfunction. *J Surg Res* 1993; 55(3): 282-9.
7. Lanoue JLL, Turnage RH, Kadesky KM, Guice KS, Oldham KT, Myers SI. The effect of intestinal reperfusion on renal function and perfusion. *J Surg Res* 1996; 64: 19-25.
8. Savas MC, Ozguner M, Ozguner IF, Delibas N. Splenectomy attenuates intestinal ischemia-reperfusion-induced acute lung injury. *J Pediatr Surg* 2003; 38 (10): 1465-70.
9. Zhang F, Tong L, Qiao H. Taurine attenuates multiple organ injury induced by intestinal ischemia reperfusion in rats. *J Surg Res* 2008; 149 (1): 101-9.
10. Zahmatkesh M, Kadkhodae M, Arab HA, Ahadi A. Amelioration of rat renal ischemia/reperfusion injury by L-Nil. *Physiology and Pharmacology* 2006; 10: 63-9.
11. Zhao GR, Xiang ZJ, Ye TX, Xuan YJ, Guo ZX. Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. *Food Chem* 2006; 99: 767-74.
12. Howes MJR, Perry NSL, Houghton PJ. Plants with traditional uses and activities relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytother Res* 2003; 17: 1-18.
13. Han JY, Fan JY, Horie Y. Ameliorating effects of compounds derived from *Salvia miltiorrhiza* root extract on microcirculatory disturbance and target organ injury by ischemia and reperfusion. *Pharmacol Therapeut* 2008; 117: 280-95.
14. Lo CJ, Lin GJ, Kuo JS, Liao ET, Hsieh CL. Effects of *Salvia miltiorrhiza* berg on cerebral infarct in ischemia-reperfusion injured rats. *The American J of Chinese Medicine* 2003; 31(2) : 191-200.
15. Lu Q, Shi C, Wu Z. An experimental and clinical study on radix *Salvia Miltiorrhiza* in the treatment of hepatocellular ca²⁺ overload during hepatic ischemia-reperfusion injury. *Chinese J of Surgery* 1996; 34(2): 98-101.
16. Zhao BL, Jiang W, Zhao Y, Hou JW, Xing WJ. Scavenging effects of *Salvia Miltiorrhiza* on free radicals and its protection for myocardial membranes from ischemia-reperfusion injury. *Biochem and Mol Biol Internat* 1996; 38 : 1171-82.
17. Sims NR, Anderson MF. Mitochondrial contributions to tissue damage in stroke. *Neurochem Int* 2002; 40: 511-26.
18. Schurr A. Energy metabolism, stress hormones and neural recovery from cerebral ischemia-hypoxia. *Neurochem Int* 2002; 41(1): 1-8.
19. Phillis JW, O'Regan MH. Characterization of modes of release of amino acids in the ischemic-reperfused rat cerebral cortex. *Neurochem Int* 2003; 43(4): 461-7.
20. Iijima T, Mishima T, Tohyama M, Akagawa K, Iwao Y. Mitochondrial membrane potential and intracellular ATP content after transient experimental ischemia in the cultured hippocampal neuron. *Neurochem Int* 2003; 43: 263-9.
21. Gray SL, Hanlon JT, Landerman LR, Artz M, Schmader KE, Fillenbaum GG. Is antioxidant use protective of cognitive function in the community-dwelling elderly. *Am J Geriatr Pharmacoth* 2003; 1(1): 3-8.
22. Carla M, Alice S, Ramos A, Marisa FA, Cristovao F, Manuel FF, et al. Sage tea drinking improves lipid profile and antioxidant defences in humans. *Int J Mol Sci* 2009; 10(9): 3937-50.
23. Akhondzadeh S, Noroozian N, 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 placebocontrolled trial. *J Clin Pharmacy Therap* 2003; 28(1): 53-9.
24. Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: promising anticancer agents. *Med Res Rev* 2003; 23 (4): 519-34.
25. Lima CF, Andrade PB, Seabra RM, Fernandes-Ferreira M, Wilson CP. The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *J Ethnopharmacol*. 2005; 97(2): 383-9.

26. Bors W, Michel C, Stettmair K. Antioxidant mechanisms of polyphenolic caffeic acid oligomers, constituents of *Salvia officinalis*. Biol Res 2004; 37: 301-11.
27. Lu Y, Foo Y. Salvianolic acid, a potent phenolic antioxidant from *Salvia officinalis*. Tetrahedron Lett 2001; 42: 8223-5.
28. Khooei AR, Hosseinzade H, Imanshahidi M. Pathologic evaluation of anti-ischemic effect of *Salvia leriifolia* Benth. Seed and leaf extracts in rats after global cerebral ischemia. Iran J Basic Med Sci 2003; 5: 200-5.
29. Hosseinzade H, Hosseini A, Nassiri-Asl M, Sadeghnia HR. Effect of *salvia leriifolia* benth. Root extracts on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. BMC Complement Altern Med 2007; 7 (1): 23.
30. Sugawara T, Noshita N, Lewen A, Gasche Y, Ferrand-Drake M, Fujimura M. Over expression of copper/zinc superoxide dismutase in transgenic rats protects vulnerable neurons against ischemic damage by blocking the mitochondrial pathway of caspase activation. J Neurosci 2002; 22: 209-17.
31. Ko IG, Shin MS, Kim BK, Kim SE, Sung YH, Kim TS, et al. Tadalafil improves short-term memory by suppressing ischemia-induced apoptosis of hippocampal neuronal cells in gerbils. Pharmacol Biochem and Behaviour 2009; 91: 629-35.
32. Xian XC, Zao C. Potassium currents in CA1 neurons of rat hippocampus increase shortly after transient cerebral ischemia. Neurosci Lett 2000; 281: 5-8.
33. Zhang M, Li WB, Liu YX, Liang CJ, Liu LZ, Cui X, et al. High expression of GLT-1 in hippocampal CA3 and dentate gyrus subfields contributes to their inherent resistance to ischemia in rats. Neurochem Internat 2011; 59: 1019-28.
34. Nicotera P, Bano D. The enemy at the gates: Ca²⁺ entry through TRPM7. channels and anoxic neuronal death. Cell 2003; 115(7): 768-70.
35. Yeh TH, Hwang HM, Chee JJ, Wu T, Li AH, Wang HL. Glutamate transporter function of rat hippocampal astrocytes is impaired following the global ischemia. Neurobiol Dis 2005; 18: 476-83.
36. Rao VL, Dogan A, Bowen KK, Todd KG, Dempsey RJ. Antisense knock down of the glial glutamate transporter GLT-1 exacerbates hippocampal neuronal damage following traumatic injury to rat brain. Eur J Neurosci 2001; 13: 119-28.
37. Bruhn T, Levy LM, Nielsen M, Christensen T, Johansen FF, Diemer NH. Ischemia induced changes in expression of the astrocyte glutamate transporter GLT1 in hippocampus of the rat. Neurochem Int 2000; 37: 277-85.
38. Asadi S, Ahmadiani A, Esmaeili MA, Sonboli A, Ansari N, Khodaghali F. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran. A comparative study. Food Chem Toxicol 2010; 48: 1341-9.
39. Esmaeili MA, Sonboli A. Antioxidant, free radical scavenging activities of *Salvia brachyantha* and its protective effect against oxidative cardiac cell injury. Food Chem Toxicol 2010; 48: 846-53.
40. Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokman M, Polissiou M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chem 2005; 90 (3): 333-40.
41. Zhao GR, Zhang HM, Ye TX. Characterization of the radical scavenging and antioxidant activities of danshensu and salvianolic acid B. Food Chem Toxicol 2008; 46(1): 73-81.
42. Tepe B. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbert and Aucher ex Benth) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. Bioresource Technol 2008; 99: 1584-8.

The Effect of the Oral Administration of *Salvia Rhytidia* Extract on Neural Cell Numbers of Cerebral Cortex and Hippocampus Following Ischemia-Reperfusion in Rat

Haghjoo R*, Tadjalli M

¹Departments of Anatomical Science, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 27 Sep 2014

Accepted: 16 Jan 2015

Abstract

Backgrounds & aim: Forebrain ischemia induces complete interruption of brain blood flow and neuronal injury. In the present study the effect of *Salvia rhytidia* extract on cell numbers of the cerebral cortex and different hippocampal regions following ischemia-reperfusion (IR) was evaluated.

Methods :In the present experimental study, Thirty-five adult male rats were divided into 7 groups of 5 rats. Control group (1), sham group (3), and 2, 4, 5, 6, and 7 as ischemic groups. (2, 4, 5, 6, 7). Left common carotid and left vertebral arteries were occluded by tourniquet for 10 min. Group 2 received no drug. sham group (3) received normal saline without ischemia .Group 4 received *Salvia* (3.2mg/kg) and group 5 received silymarin (50 mg/kg), 2 h after ischemia. Group 6 received the same dose of *Salvia* and group 7 received the same dose of silymarin 0, 24, 48, and 72 hrs before ischemia. After 24 h reperfusion, the brains of rats were prepared for histological studies. The cells were counted and cerebral and hippocampal tissue sections stained by hematoxylin and eosin. The data were analyzed by One-way ANOVA and Duncan as posthoc test .

Results : Significant decrease was observed in the neural cell numbers of cerebral cortex and pyramidal layer of CA1 and CA2 regions of the hippocampus in groups 2, 4 and 5 compared to control group ($p=00000$) . No significant decrease was observed in neural cell numbers of cerebral cortex and all hippocampal regions in groups 3, 6, 7. Pyramidal layer of CA3 and granular layer of dentate gyrus regions of the hippocampus in groups 2, 4 and 5 compared to control .

Conclusion : *Salvia* extract with antioxidant effect similar to silymarin protects the forebrain from ischemia injuries and reperfusion.

Key words : *Salvia rhytidia*, cerebral cortex, hippocampus, Ischemia-reperfusion , rat

*Corresponding author: Haghjoo R, Department of Anatomical Science, Shiraz University of Veterinary Medicine, Shiraz, Iran

Email: rahil_haghjoo@yahoo.com

Please cite this article as follows:

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): 138-148.