

ORIGINAL ARTICLE

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

Zahra Rabiei¹,
Mostafa Gholami²,
Mahmoud Rafeian kopaei³

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).

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

زهرا ربیعی^۱
مصطفی غلامی^۲
محمود رفیعیان^۳

چکیده

سابقه و هدف: اسطوخدوس گیاهی است که خواص آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد. سکنه 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 سکنه مغزی موش صحرائی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۴۲ سر موش صحرائی بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات به شش گروه هفت‌تایی تقسیم شدند که عبارت بودند از: ۱. گروه ایسکمی؛ ۲ و ۳. گروه‌های ایسکمی که دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره را دریافت کردند؛ ۴. گروه کنترل سالم؛ ۵ و ۶. گروه‌های سالم که فقط دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره را دریافت کردند؛ و ۷. گروه شم. ایسکمی مغزی کانونی توسط انسداد گذرای شریان مغزی میانی به مدت ۱ ساعت در موش صحرائی 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 صحرائی 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 صحرائی در معرض ایسکمی کاهش می‌دهد و مکانیسم آن ممکن است در ارتباط با مهار استرس اکسیداتیو در مغز موش‌های صحرائی باشد.

واژه‌های کلیدی: ایسکمی مغزی، خون‌رسانی مجدد، نفوذپذیری سد خونی- مغزی، اسطوخدوس

مقدمه

هر ساله میلیون‌ها نفر از مردم جهان در سنین مختلف دچار سکنه مغزی می‌شوند. سکنه مغزی سومین علت مرگ و میر در دنیا است (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 سکنه مغزی رادیکال‌های آزاد زیادی تولید شده و پروستاگلاندین‌های ساخته

E-mail: rafieian@yahoo.com

مؤلف مسئول: محمود رفیعیان - شهرکرد: دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دانشکده علوم پزشکی

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

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 (۴-۶). آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو به سلول‌های اندوتلیالی باعث تخریب سد خونی - مغزی و در نتیجه ایجاد دم مغزی می‌شود (۳). یکپارچگی سد خونی - مغزی (BBB: blood brain barrier) از نوروها محافظت می‌کند و هنگامی که این یکپارچگی از بین می‌رود سلول‌های التهابی و مایع به مغز نفوذ می‌کنند و باعث دم 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 معمولاً 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)، گلوکوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز حفاظت می‌شود (۷). در استرس‌های شدید که آنتی‌اکسیدان‌های درون زاد کافی نباشند آنتی‌اکسیدان‌های برون زاد مثل آسکوربات و آلفا تگوفرول و یا آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی معمولاً برای جلوگیری از آسیب مفید واقع می‌شوند (۱۰-۱۲). 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 اورسالییک و فلاونوئیدهای لوتولین اشاره کرد (۱۳). در مطالعه ربیعی و همکاران عصاره اتانولی گیاه اسطوخدوس دارای اثرات مثبتی بر روی حافظه فضایی، یادگیری احترازی و تعادل 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 آنتی‌اکسیدانی گیاه اسطوخدوس، تاثیر این گیاه بر میزان نفوذپذیری سد خونی - مغزی در مدل سکنه‌ی مغزی موش صحرایی را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره

اندام هوایی گیاه اسطوخدوس تهیه گردید و نمونه‌های مورد نظر توسط گیاه شناس مورد تایید 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 سانتی‌گراد 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

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

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

۶- (Intact200): گروهی که تحت هیچ گونه جراحی قرار نگرفته و فقط عصاره با دوز ۲۰۰ میلی گرم دریافت کرد و 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 اندازه گیری 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 گروه‌های دست نخورده برای انجام تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

جراحی

موش‌های صحرائی 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

درجه) ۰/۵ میلی لیتر از محلول فولین سیوکالتیو (مرک، آلمان) اضافه گردید و پس از ۳ تا ۵ دقیقه مقدار ۰/۴ میلی لیتر 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 میلی گرم 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 صحرائی 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 سانتی گراد نگهداری و با غذای استاندارد موش‌های صحرائی 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 میلی گرم 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 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۱۲) دریافت کرد.

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 اندازه گیری میزان خروج اوانس بلو (مرک، آلمان) ارزیابی شد. نخست، موش های 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، موش های صحرایی تحت بی هوشی از ناحیه قفسه سینه باز شده و با ۲۵۰ میلی لیتر سالین از طریق بطن چپ از وجود اوانس بلوی داخل رگی پاک شدند تا زمانی که مایع پرفیوز بی رنگ از دهلیز راست خارج شد. سپس مغز خارج گردید. برای اندازه گیری میزان خروج اوانس بلو، بافت مغز در ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات (مرک، آلمان) همورژن شد و برای رسوب پروتئین به آن ۲/۵ میلی لیتر اسید تری کلرواستیک ۶۰ درصد (مرک، آلمان) اضافه گردید. سپس ۳ دقیقه با ورتکس هم زده شد و ۳۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد خنک گردید. آن گاه به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، جذب نوری اوانس بلو در بخش رویی توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu) در طول موج ۶۱۰ نانومتر اندازه گیری شد و مطابق منحنی استاندارد غلظت آن محاسبه گردید (۱۶).

ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی (پلازما و مغز)

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

اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید در پلازما

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 (0.05%) BHT (مرک، آلمان) به آن اضافه شد. سپس ۴۰۰ میکرولیتر (0.44M) H₃PO₄ (مرک، آلمان) به آن اضافه کرده و در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر (42mM) TBA (تیوباربتوریک اسید) (مرک، آلمان) را اضافه و پس از ورتکس کردن به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. پس از آن محلول را ۵ دقیقه در دمای صفر درجه سانتی گراد سرد کرده و سپس 250 μl بوتانول نرمال (مرک، آلمان) به آن اضافه کرده و به خوبی ورتکس گردید. پس از سانتریفیوژ کردن (5min, 14000 rpm) از 20 μl محلول رویی به دستگاه HPLC تزریق شد (۱۷).

اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید در مغز

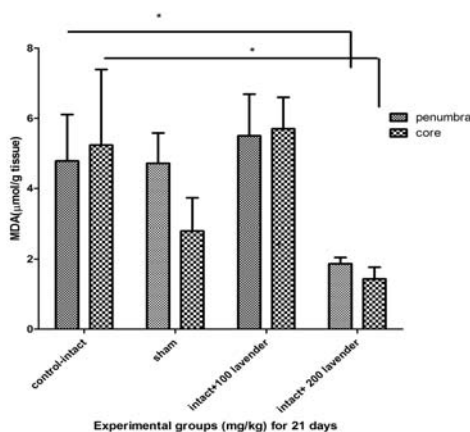
برای اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید در مغز ۱ میلی لیتر از بافت مغز همورژن شده (در ۲/۵ درصد KCl) (مرک، آلمان) سرد گشته و با نسبت ۱۰ درصد در یک لوله شیشه ای ۲۰ میلی لیتر وارد شد و در دمای ۱۰±۳۷ در یک شیکر متابولیک به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری گردید. بعد از یک ساعت انکوباسیون، ۱ میلی لیتر تتراکلرواستیک اسید ۵ درصد (مرک، آلمان) به همراه ۱ میلی لیتر 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 لوله های آزمایش خنک شده و جذب هر بخش در ۵۳۵ nm اندازه گیری شد (۱۸، ۱۹).

آنالیز آماری

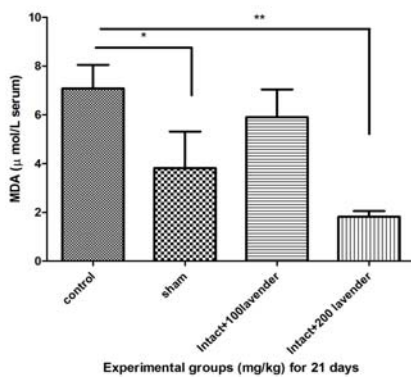
برای تحلیل آماری داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود معنی داری از

اثر عصاره اسطوخدوس روی پراکسیداسیون لیپید در مغز و سرم

میزان پراکسیداسیون لیپید (سطح مالون دی آلدئید) در ناحیه پنومبرا و کانون (بافت مغز) به طور معنی داری در گروه کنترل- سالم نسبت به گروه سالم با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بالاتر است (به ترتیب $p = 0/044$ و $p = 0/021$ (تصویر شماره ۲). به علاوه، عصاره اسطوخدوس در گروه سالم که دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره را دریافت کرده اند سطح مالون دی آلدئید سرم را به طور معنی داری نسبت به کنترل کاهش داده است ($p = 0/003$)، در حالی که دوز پایین تر (۱۰۰ میلی گرم 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 گروه های دست نخورده: کنترل-سالم، سالم-دوز ۱۰۰، سالم-دوز ۲۰۰ (MDA: مالون دی آلدئید)



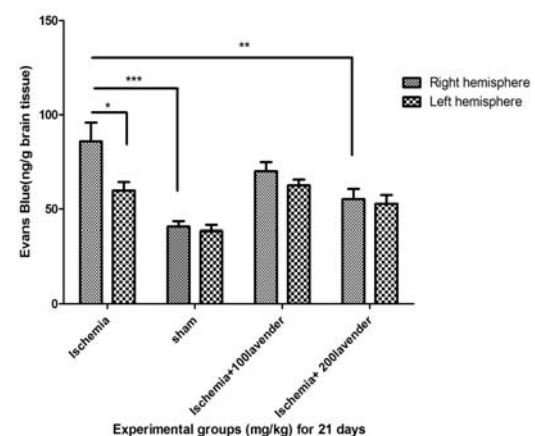
تصویر شماره ۳: اثر عصاره اسطوخدوس بر سطح مالون دی آلدئید سرم ($*P < 0.05$; $**P < 0.01$; $n=7$) در گروه های دست نخورده: کنترل-سالم، سالم-دوز ۱۰۰، سالم-دوز ۲۰۰ (MDA: مالون دی آلدئید)

آزمون توکی جهت تعیین سطح تفاوت معنی داری بین گروه ها استفاده گردید و $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. نرم افزار آماری استفاده شده SPSS 11 بود.

یافته ها

میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره اسطوخدوس استفاده شده در این مطالعه مورد اندازه گیری قرار گرفته و کل پلی فنول های آن ۸۰/۸ میلی گرم بر گرم بود.

اثر عصاره اسطوخدوس بر نفوذپذیری سد خونی- مغزی این تحقیق نشان می دهد که تیمار موش های صحرائی با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره باعث کاهش معنی داری در نفوذپذیری سد خونی- مغزی در مقایسه با گروه کنترل- ایسکمی شده است ($p = 0/004$). همچنین اختلاف معنی داری در نفوذپذیری سد خونی- مغزی بین گروه شم و گروه کنترل- ایسکمی مشاهده می گردد ($p = 0/000$). از طرف دیگر، اختلاف معنی داری بین نفوذپذیری سد خونی- مغزی در نیمکره راست (تحت ایسکمی) و نیمکره چپ (سالم) در گروه کنترل- ایسکمی مشاهده می شود ($p = 0/034$) (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) ($*P < 0.05$; $**P < 0.01$; $***P < 0.001$; $n=7$)

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 سخته مغزی می‌شود. هم‌چنین این عصاره کاهش سطح مالون دی‌آلدئید 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، دو تای 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 پرانرژی 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 مهلك 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 ریوز 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 به صورت غیرمستقیم از طریق میانجی‌گری در آبشارهای سلولی سبب آسیب مغزی شود (۲۵). بنابراین، مطالعات برای توسعه عوامل حفاظت مغزی به منظور درمان سخته مغزی بر آنتی‌اکسیدان‌ها متمرکز شده‌اند. آنتی‌اکسیدان‌ها در بسیاری از آزمایش‌ها در محیط‌های *in vivo* و *in vitro* 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 می‌تواند 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 $^{1}VEGF$ 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

روی کلیه داشته است (۳۰) که موقع مصرف بایستی مد نظر قرار گیرد. گیاهان دارویی معمولاً 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 (۳۲، ۳۳). 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 می‌دانیم از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بخاطر تامين بودجه (کد این طرح 91-01-70-1130) لازم و کلیه عزیزانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند قدردانی نماییم.

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 ضد درد با تست فرمالین مورد بررسی قرار گرفت که عصاره هیدروالکلی اسطوخدوس اثر ضد دردی معنی‌داری در فاز اولیه نشان نداد، در حالی 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 اسطوخدوس به طور قابل توجهی فاکتور نکروز تومور (TNF- α) را در سلول‌های 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، در حالی 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 دوزهای بالا اثرات سمی

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

-
- 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

- 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. Margail 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, Boudidael 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.

-
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.