مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۴, شمـاره‌ی ۱۰۵, مهر و آبان ۱۳۹۵, صفحات ۴۳ تا ۵۲

تاثیر عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس بر روی تکثیر و مهار آپوپتوز در سلول‌های بنیادی عصبی موش صحرایی در شرایط آسیب اکسیداتیو ناشی از اتانول

دکتر علیرضا عبدانی پور[۱]، دکتر رضا نجات بخش[۱]، دکتر ایرج جعفری انارکولی[۲]، مهرداد قربانلو[۳]، علی نیک‌فر[۴]، امیر نوریان[۵]

نویسنده‌ی مسوول: گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان reza_nejat@yahoo.com

دریافت: ۹۴/۷/۲۳ پذیرش: ۹۴/۱۰/۷

چکیده

زمینه و هدف: *امروزه تحقیقات بسیاری درباره تاثیر عصاره‌ی گیاهان مختلف روی بیماری‌های سیستم عصبی انجام می‌شود. در این مطالعه تاثیر عصاره‌ی هیدروالکلی گل گیاه اسطوخودوس بر روی رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی موش صحرایی و همچنین خاصیت آنتی آپوپتوزی عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس مورد بررسی قرارگرفت.*

روش بررسی: *سلول‌های بنیادی عصبی از هیپوکمپ مغز نوزاد موش صحرایی استخراج شد. به منظور تعیین بهترین غلظت عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس، سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم به ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت تیمار شدند و میزان تکثیر سلولی با روش MTT بررسی گردید. همچنین اثر ضدآپوپتوزی این گیاه با القای آپوپتوز توسط اتانول و استفاده از کیت تانل بررسی گردید.*

یافته‌ها: *نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد و میزان آپوپتوز القا شده با اتانول نیز در حضور عصاره در موش صحرایی کاهش می‌یابد.*

نتیجه گیری: *عصاره گیاه اسطوخودوس می‌تواند بر روی افزایش تکثیر و کاهش آپوپتوز در سلول‌های بنیادی عصبی موش صحرایی موثر باشد.*

واژگان کلیدی: تکثیر سلولی، اسطوخودوس، سلول‌های بنیادی عصبی، آپوپتوز، موش صحرایی

مقدمه

منطقه‌ی ساب ونتریکولار مهم ترین منبع سلول‌های بنیادی عصبی می‌باشد (۱). سلول‌های بنیادی عصبی توانایی تبدیل به اکثر سلول‌های تخصص یافته‌ی مغزی را دارا می‌باشند و در بیماری‌های سیستم عصبی این سلول‌ها قادرند به نقاط آسیب دیده مهاجرت کرده و در ترمیم شرکت کنند (۲). این سلول‌ها بعد از تولد توانایی خودنوزایی دارند و می‌توانند در عملکردهایی مانند یادگیری، حافظه و پاسخ به آسیب، تاثیرگذار باشند (۳). استفاده از ظرفیت طبیعی بدن

۱- دکترای تخصصی علوم تشریحی، گروه علوم تشریحی، استادیار دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۲- دکترای تخصصی علوم تشریحی، گروه علوم تشریحی، دانشیار دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریحی، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، گروه ژنتیک و پزشکی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۵- دانشجوی کارشناسی ارشد پرستاری، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل

برای بازسازی و ترمیم یکی از اصول مهمی است که دانش سلول‌های بنیادی در درمان بیماری‌ها دنبال می‌نماید (۴). سلول‌های عصبی بعد از تولد مراحل نهایی تمایز خود را طی می‌کنند و توانایی خودنوزایی را ندارند. بنابراین حضور سلول‌هایی که نورون‌زایی می‌کنند، در درمان ضایعات سیستم عصبی دارای اهمیت ویژه‌ای خواهد بود (۵). یکی از مهم‌ترین مسایل در سلول درمانی استفاده از یک محرک مناسب برای افزایش سرعت تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی در شرایط In vitro می‌باشد. آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول نوعی مرگ فیزیولوژیک سلولی است که در شرایط طبیعی سبب حذف سلول‌های پیر، آسیب دیده و اضافی می‌شود و برای تکامل و هومئوستاز بافتی ضروری است. آپوپتوز در ترمیم بافت و حذف سلول‌های T خود واکنش‌گر نقش دارد (۶). هرگونه اختلال در روند آپوپتوز منجر به ایجاد بیماری می‌شود. اگر اختلالی در تنظیم آپوپتوز گلبول‌های سفید به ویژه لنفوسیت‌های T و B صورت بگیرد، نتیجه‌ی آن بروز بیماری‌های خود ایمنی همانند اسکلروز جانبی آمیوتروفیک Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) و بیماری‌های تحلیل برنده‌ی سیستم عصبی خواهد بود (۷). گیاه اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula officinalis (Stoechas)* متعلق به خانواده‌ی نعناعیان، گیاهی است با بوی بسیار مطبوع و طعم تلخ که به علت بوی مطبوع در عطرسازی استفاده می‌شود. پراکندگی جغرافیایی آن در سراسر آفریقا، مدیترانه، جنوب غرب آسیا، عربستان، غرب ایران و جنوب شرق هند است (۸). این گیاه دارای خواص متعددی می‌باشد که می‌توان به خاصیت ضد التهابی، اثر مهارکنندگی روی آنزیم استیل کولین استراز (۹)، ضد صرع (۱۰) ضد اضطراب و افسردگی، آنتی‌اکسیدان (۱۱) و تقویت کننده‌ی جریان گردش خون شریان‌های قلبی اشاره کرد (۱۳ و ۱۲). در این گیاه ترکیباتی همچون اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک و ژرامبول است که تنها لینالول موجود در اسانس گیاه دارای خواص ضد سرطانی است (۱۴). بر اساس تحقیقات انجام شده تاثیر عصاره‌ی آبی این گیاه بر سیستم عصبی مرکزی از قبیل ضد اضطراب، تثبیت کننده‌ی خلق و خوی، آرام بخش، ضد درد، ضد تشنج و خواص محافظت نورونی نشان داده است (۱۵). تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای درباره‌ی اثر گیاه اسطوخودوس بر روی سلول‌های بنیادی عصبی انجام نشده است. در این مطالعه برای نخستین بار تاثیر عصاره‌ی هیدروالکلی این گیاه بر روی تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی و خاصیت ضدآپوپتوزی آن مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش بررسی

تهیه عصاره هیدروالکلی گل گیاه اسطوخودوس: عصاره *Lavandula officinalis* به روش سوکسله تهیه و مطالعه تجربی اثر غلظت‌های مختلف آن بر روی رشد و تکثیر رده‌ی سلولی بنیادی عصبی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور گیاه مورد نظر از اطراف شهر اردبیل در خرداد ماه جمع‌آوری و در سایه و جریان هوا خشک و توسط آسیا پودر شدند. از پودر تهیه شده برای عصاره‌گیری به روش سوکسله استفاده شد. بدین صورت که ۱۰۰ گرم از پودر آماده در کارتوشهایی که از کاغذ صافی معمولی با اندازه مناسب تهیه شده بود ریخته شد. سپس کارتوش‌ها را درون دستگاه سوکسله قرار داده و تقریبا به میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر مخلوط متانول و آب مقطر به عنوان حلال به آن اضافه گردید. عصاره‌گیری به مدت ۱۲ ساعت ادامه یافت. عصاره‌ی به‌دست آمده به ظرف‌های شیشه‌ای منتقل شده و به مدت ۲٤ ساعت بدون درپوش در آون ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد تا حلال باقی مانده تا حد امکان تبخیر شود. سپس عصاره‌ی تهیه شده برای آزمایش‌های بعدی در یخچال نگهداری شد.

جداسازی سلول‌های بنیادی عصبی: برای جداسازی سلول‌های بنیادی عصبی از نوزاد موش صحرایی نژاد Sprague Dawley استفاده گردید. مراقبت و نگهداری از

موش‌ها مطابق با آیین نامه مصوب کار با حیوانات آزمایشگاهی تصویب شده در دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام گردید. بعد از بیهوشی کامل، بخش هیپوکامپ از دو نیمکره‌ی مغز جدا شده و پس از له کردن مکانیکی به میزان دو برابر بافت از آنزیم‌های Accutase و کلاژناز برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌منظور هضم آنزیمی استفاده گردید. در مرحله‌ی بعدی به‌منظور خنثی کردن آنزیم‌ها از سرم جنین گاو (Fetal Bovine Serum (FBS استفاده شد. سپس سوسپانسیون حاصله از فیلتر مش نایلونی ۷۰ میکرومتری عبور داده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. رسوب سلولی به‌دست آمده با محیط کشت DMEM/F12 حاوی فاکتورهای رشد basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)، Epidermal Growth Factor (EGF)، B27، پنی‌سیلین - استرپتومایسین یک درصد به همراه ۳ درصد سرم FBS در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 کشت داده شد. محیط کشت سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت تعویض شد و سلول‌های بنیادی عصبی که به کف فلاسک چسبیده بودند پس از رسیدن به تراکم ۷۰ تا ۸۰ درصد با استفاده از تریپسین از کف فلاسک جدا و با نسبت ۱ به ۲ پاساژ داده شدند. در این مطالعه از سلول‌های پاساژ سوم استفاده گردید. تمامی مواد مورد استفاده از شرکت سیگما و اینویتروژن خریداری گردید.

تیمار سلول‌های بنیادی عصبی با عصاره *Lavandula officinalis* به‌منظور دستیابی به دوز مناسب: سلول‌های بنیادی عصبی ایزوله شده از هیپوکمپ نوزاد موش صحرایی در یک گروه کنترل و پنج گروه تیمار شده با عصاره‌ی مورد نظر در پلیت‌های ۹۶ خانه با غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به مدت ۴۸ ساعت تیمار و مورد مطالعه قرار گرفتند. همچنین برای بررسی اثر ضدآپوپتوزی عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس سلول‌های بنیادی عصبی در چهار گروه: ۱) کنترل ۲) دوز اپتیمال عصاره هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس ۳) اتانول ۱۰ درصد (جهت القای آپوپتوز) و ۴) دوز اپتیمال عصاره هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس به‌همراه ده درصد اتانول تیمار گردیدند و با روش (Methylthiazol Tetrazolium assay) MTT میزان تکثیر سلول‌ها بررسی گردید. به‌منظور بررسی‌های آماری دقیق پنج تکرار در نظر گرفته شد.

آزمون MTT: برای ارزیابی میزان تکثیر از روش MTT استفاده گردید. پس از ۴۸ ساعت تیمار با عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس محیط کشت سلول‌ها با ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (سیگما) با غلظت ۵ میلی‌گرم به ازای هر میلی‌لیتر که به صورت تازه تهیه شده بود تعویض شد. بعد از ۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد محلول روی سلول‌ها به آهستگی حذف شد و کریستال‌های فورمازون ایجاد شده در اثر واکنش با MTT در ۱۰۰ میکرولیتر DMSO حل شد. پس از چند دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و حل شدن کامل کریستال‌ها، جذب در ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا (BioTek) محاسبه شد.

کیت Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) تکنیک تشخیصی آپوپتوز بر اساس دستورالعمل کیت تانل انجام پذیرفت. به طور خلاصه، محیط کشت سلول‌های بنیادی عصبی پس از تیمار ۴۸ ساعته در چهار گروه کنترل، ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی اسطوخودوس، ۱۰ درصد اتانول (جهت القای آپوپتوز) و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر عصاره‌ی اسطوخودوس به‌همراه ۱۰ درصد اتانول خالی گردید و پس از ۳ بار شستشو با PBS (Phosphate-Buffered saline) به وسیله محلول پارافرمالدئید ۴ درصد به‌مدت ۳۰ دقیقه فیکس گردید. سپس محلول Blocking (H_2O_2 ۳ درصد در متانول) به مدت ۱۰ دقیقه به سلول‌ها اضافه گردید و پس از شستشو با PBS در محلول Permeabilization

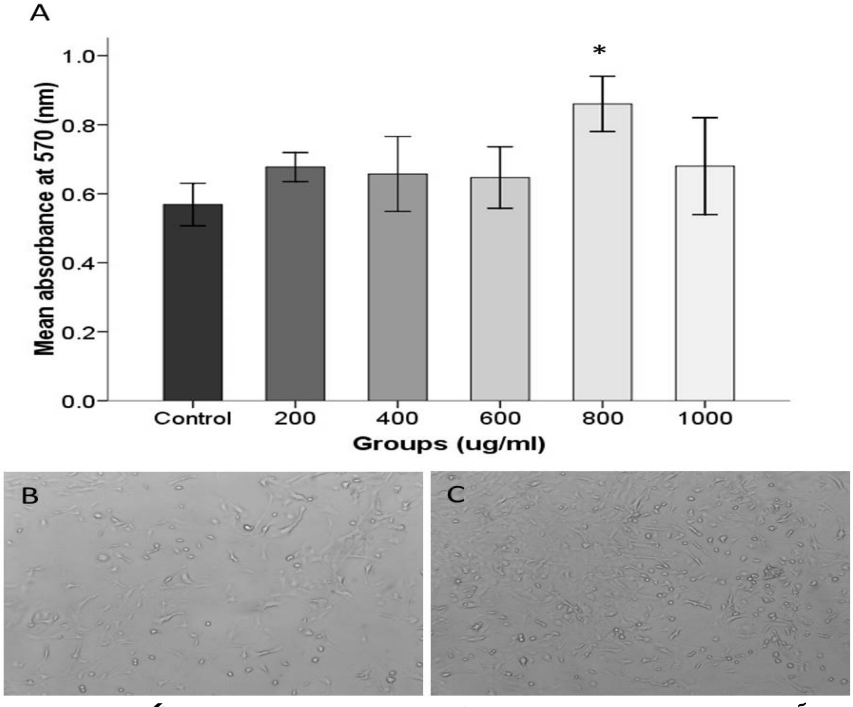
(تریتون ۰/۱ درصد در سرم ۱۰ درصد) قرار داده شد. پس از خشک کردن اطراف نمونه ۵۰ میکرو لیتر محلول Reaction Mixture به سلول‌ها اضافه شده و به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و جعبه مرطوب قرار داده شد. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول Converter-POD اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. جهت بررسی در میکروسکوپ نوری ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر محلول DAB-substrate اضافه شده و ۲۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس با PBS شسته شده و ۲۰ میکرو لیتر DAB-Chromogen اضافه گردید. پس از شستشوی دوباره با PBS و مونته کردن به وسیله‌ی PBS و گلیسرول، نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری مشاهده گردید.

آنالیز آماری: آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۵ انجام گردید و تمامی داده‌ها به‌صورت SEM ± ارایه شد. مقایسه‌ی آماری بین گروه‌ها با واریانس یک طرفه (ANOVA) و با آزمون تکمیلی Tukey post-hoc test انجام شد P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

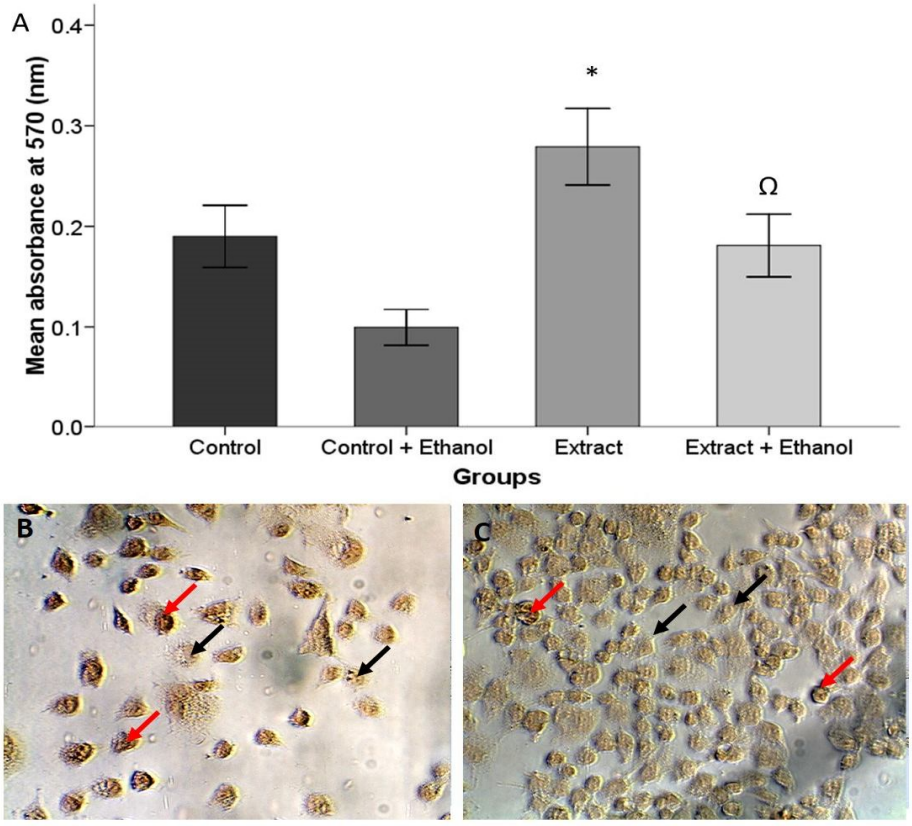
نتایج حاصل از کشت سلول‌های بنیادی عصبی

نتایج MTT: مورفولوژی سلول‌های بنیادی عصبی پس از تیمار با عصاره‌ی گیاهی تغییری نشان نداد. نتایج تست MTT نشان دهنده‌ی افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی در گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل بود (شکل ۱). سلول‌های تیمار شده با غلظت ۸۰۰ میکروگرم (۰/۸۶±۰/۴) بالاترین میانگین رشد را نسبت به گروه کنترل (۰/۵۶±۰/۳) نشان می‌دادند که دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).



شکل ۱) نمودار مقایسه‌ی آماری سلول‌های بنیادی عصبی در غلظت‌های مختلف با روش MTT. A) نمودار نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه کنترل و سلول‌های بنیادی عصبی تیمار شده با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. C و B) میکروگراف‌های سلول‌های بنیادی عصبی قبل و بعد از تیمار با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس خطای معیار (SEM)، نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (P <۰/۰۵). بزرگنمایی تصاویر ۲۰۰ برابر می‌باشد.

نتایج تست آپوپتوز با کیت تانل: با توجه به نتایج MTT غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان مناسب‌ترین غلظت در نظر گرفته شد، بنابراین جهت بررسی آپوپتوز از این غلظت استفاده گردید. نتایج تست MTT پس از القای آپوپتوز نشان می‌دهد که گروه تیمارشده با عصاره اسطوخودوس (۰/۰۱±۰/۲۷) اختلاف معنی‌داری با تمامی گروه‌ها دارد. در بررسی‌های انجام شده با تست تانل سلول‌های آپوپتوتیک به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره قابل رویت بودند (شکل ۳: B و C). گروه تیمار شده با عصاره‌ی اسطوخودوس + اتانول (۰/۰۱±۰/۱۸) اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل + اتانول (۰/۰۰±۰/۰۹) نشان می‌دهد که نشان دهنده‌ی کاهش آپوپتوز در گروه عصاره ی اسطوخودوس + اتانول می‌باشد (شکل ۲: B, C).



شکل ۲: نمودار مقایسه آماری سلول‌های بنیادی عصبی در چهار گروه کنترل، کنترل+ اتانول، عصاره، عصاره + اتانول به روش MTT. نمودار نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار گروه تیمارشده با عصاره در مقایسه با سایر گروه‌ها می‌باشد. C و B: میکروگراف‌های سلول‌های بنیادی عصبی (B) گروه کنترل + اتانول و (C) عصاره اسطوخودوس + اتانول پیکان قرمز: سلول های تانل مثبت؛ پیکان سیاه: سلول‌های تانل منفی

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده‌ی تاثیر افزایش دهنده‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس در روند تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی می‌باشد. همچنین این گیاه خاصیت ضدآپوپتوزی و محافظتی را در حضور اتانول نشان داد. هم اکنون سلول‌های بنیادی (سوماتیک) به‌عنوان منبع قابل دسترس و مناسب برای سلول درمانی محسوب می‌شوند. این سلول‌ها در بیشتر بافت‌های بالغین حضور دارند (۱۶).

سلول‌های بنیادی عصبی برای اولین بار توسط ساموئل ویس در سال ۱۹۹۲ کشف گردید (۱۷). هرمن و همکارانش در سال ۲۰۰۴ به منظور تایید هویت سلول‌های بنیادی عصبی ایجاد شده نشان دادند که سلول‌های بنیادی عصبی می‌توانند نسبت به نشانگر عصبی نستین واکنش مثبت نشان دهند (۲). نتایج به دست آمده از تست نستین در این مطالعه که بر روی سلول‌های بنیادی عصبی مشتق از هیپوکمپ مغز نوزاد موش صحرایی انجام شد تاییدی بر کار هرمن و همکارانش بود. در سال‌های اخیر استفاده از داروهای گیاهی برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های عصبی و خودایمنی گسترش بسیاری یافته است. گیاه اسطوخودوس به‌عنوان داروی ضدالتهاب (۹)، ضدصرع (۱۰) و آنتی اکسیدان (۱۱) استفاده می‌گردد.

اسطوخودوس گیاهی است که از دیرباز در طب سنتی از آن استفاده می‌شده است و برای درمان صرع و میگرن توسط ابن سینا و زکریای رازی نیز تجویز می‌شد (۱۸). تحقیقات ارزی و همکارانش در سال ۲۰۱۱ روی موش‌های نر مبتلا به صرع نشان داد که استفاده از عصاره‌ی هیدروالکلی اسطوخودوس علیرغم کاهش در تعداد حملات، مدت زمان حمله و شدت آن را نیز کاهش می‌دهد (۱۹). مطالعه‌ی پراشار و همکارانش در سال ۲۰۰۴ نشان داد که لینالول و لینالول‌استات موجود در روغن اسطوخودوس دارای اثر سیتوتوکسیک روی سلول های پوستی می‌باشد و این در حالی است که از زمان‌های گذشته به عنوان ترمیم کننده زخم استفاده می‌گردد. بر اساس فرضیه این دانشمندان احتمالا ماده ناشناخته‌ای در عصاره این گیاه وجود دارد که اثر سیتوتوکسیک این دو ماده را از بین می‌برد (۲۰و۱۷). تحقیقات نشان داده که در انسان استشمام رایحه اسطوخودوس می‌تواند باعث افزایش تعاملات اجتماعی و کاهش رفتار پرخاشگرانه گردد (۲۱). تحقیقات باچبور وهمکارانش در همین راستا نشان داد که استشمام بوی این گیاه منجر به افزایش سطح لینالول در پلاسمای خون می‌گردد (۲۲). آزمایشات In vivo و In vitro هر دو نشان دهنده‌ی اثرات بی حس‌کنندگی این گیاه هستند که این اثرات نیز در ارتباط با لینالول و لینالول استات موجود در این گیاه است (۲۳). بررسی‌های انجام شده روی موش نشان داد که تجویز عصاره‌ی اسطوخودوس به میزان ۲۰۰تا۶۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن می‌تواند به عنوان یک داروی تسکین دهنده عمل نماید (۲۴). بر اساس مطالعات باروسلی و همکارانش نوروترانسمیترهای کولینرژیکی در خاصیت تسکین دهندگی اسطوخودوس دخالت دارند و مسدود کردن گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی می‌تواند مانع از فعالیت این مسکن شود (۲۵). تجویز این گیاه به مدل‌های آلزایمر توانسته نقایص یادگیری فضایی این موش‌ها را بهبود بخشد (۲۶). استفاده از عصاره‌ی آبی اسطوخودوس در موش‌هایی که متحمل ایسکمی مغزی شده بودند نشان داد که این گیاه دارای اثرات نوروپروتکتیو نیز می‌باشد، به‌طوری که منجر به کاهش میزان نقایص عصبی، کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نهایت کاهش آسیب عصبی می‌گردد (۲۷). بررسی‌های انجام شده توسط ربیعی و همکارانش در سال ۲۰۱۲ روی موش صحرایی حاکی از این بود که مصرف عصاره‌ی الکلی این گیاه پس از سکته مغزی باعث کاهش نفوذپذیری سد خونی-مغزی و بالا رفتن ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز برای مقابله با آسیب اکسیداتیو می گردد که این امر اثبات کننده نوروپروتکتیو بودن این گیاه می‌باشد (۲۸). اسطوخودوس به عنوان داروی ضد التهاب (۲۹)، آنتی باکتریال (۳۰)، ضد قارچ (۳۱)، ضد انعقاد (۳۲) و آنتی‌موتاژن (۳۳) نیز مصرف می‌گردد.

در رابطه با اثر گیاه اسطوخودوس روی سلول‌های بنیادی تا کنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. با توجه به تاثیر عصاره‌ی اسطوخودوس در افزایش تکثیر و رشد سلول‌های بنیادی عصبی و با در نظر گرفتن خاصیت ضد التهابی این گیاه می‌توان به تاثیرات مثبت استفاده از این گیاه

در درمان بیماری‌های مخرب سیستم عصبی از قبیل ضایعات نخاعی به ویژه در فاز اولیه امیدوار بود (۹). از طرفی کاهش میزان سلول‌های آپوپتوتیک در حضور عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس می‌تواند نوید بخش استفاده این گیاه در درمان بیماری خودایمنی باشد. در هر حال به منظور بررسی چگونگی مکانیسم عمل این عصاره بر روند تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی و مکانیسم مهار آپوپتوز نیاز به بررسی ترکیبات موجود در عصاره و مطالعات تکمیلی بیشتری می‌باشد. در رابطه با گیاه *Lavender*، این نکته قابل توجه است که گونه‌های رایج آن که در پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد و مورد خرید و فروش است عبارتند از *L. Angustifolia*، *L. latifolia* و هیبرید این گیاه *(Lavendins)*. گونه‌های دیگر این گیاه *L. Stoechas* و *L. dentate* هستند که در طب سنتی به دلیل خواص آنتی‌اسپاسمولیتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از گونه‌های مختلف و ارزیابی اثر آن بر تکثیر و مهار آپوپتوز در سلول‌ها بنیادی می‌تواند مورد بررسی‌های آینده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده، عصاره‌ی گیاه *Lavandula officinalis (Steochas)* می‌تواند ماده‌ی موثری برای افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی در شرایط In vitro در موش صحرایی باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه سلول‌های بنیادی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل انجام شده است. لذا لازم می دانیم از حمایت‌های بی‌دریغ جناب آقای دکتر سید سعید هاشمین (معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل) نهایت تقدیر و سپاس را داشته باشیم.

References

1- Hegarty SV, Spitere K, Sullivan AM, O'Keeffe GW. Ventral midbrain neural stem cells have delayed neurogenic potential in vitro. *Neurosci Lett*. 2013; 13: S0304-3940.

2- Hermann A, Gastl R, Liebau S, et al. Efficient generation of neural stem cell-like cells from adult human bone marrow stromal cells. *J Cell Sci*. 2004; 117: 4411-22.

3- Tamm C, Duckworth J, Hermanson O, Ceccatelli S. High susceptibility of neural stem cells to methylmercury toxicity: effects on cell survival and neuronal differentiation. *J Neurochem*. 2006; 97: 69-78.

4- Serakinci N, Keith WN. Therapeutic potential of adult stem cells. *Eur J Cancer*. 2006; 42: 1243-6.

5- Gregg CT, Shingo T, Weiss S. Neural stem cells of the mammalian forebrain. *Symp Soc Exp Biol*. 2001; 1-19.

6- Israels LG, Israels ED. Apoptosis. *Oncologist*. 1999; 4: 332-9.

7- Comi C, Fleetwood T, Dianzani U. The role of T cell apoptosis in nervous system autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2012; 12: 150-6.

8- Kashani MS, Tavirani MR, Talaei SA, Salami M. Aqueous extract of lavender *(Lavandula angustifolia)* improves the spatial performance of a rat model of alzheimer's disease. *Neurosci Bull*. 2011; 27: 99-106.

9- Ferreira A, Proença C, Serralheiro M, Araújo M. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J Ethnopharmacol*. 2006; 108: 31-7.

10- Rahmati B, Khalili M, Roghani M, Ahghari P. Anti-epileptogenic and antioxidant effect of Lavandula officinalis aerial part extract against pentylenetetrazol-induced kindling in male mice. *J Ethnopharmacol.* 2013; 21; 148: 152-7.

11- Spiridon I, Colceru S, Anghel N, Teaca CA, Bodirlau R, Armatu A. Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano *(Origanum vulgare)*, lavender *(Lavandula angustifolia)* and lemon balm *(Melissa officinalis)* from Romania. *Nat Prod Res.* 2011; 25: 1657-61.

12- Berrington D, Lall N. Anticancer activity of certain herbs and spices on the cervical epithelial carcinoma (HeLa) cell line. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 2012: 564-927.

13- Messaoud C, Chograni H, Boussaid M. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula L.* species. *Nat Prod Res*. 2012; 26: 1976-84.

14- Woronuk G, Demissie Z, Rheault M, Mahmoud S. Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta Medica.* 2011; 77: 7.

15- Gorji A. Lavender and the Nervous System. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013; 2013: 681304.

16- Dazzi F, Ramasamy R, Glennie S, Jones SP, Roberts I. The role of mesenchymal stem cells in hematopoiesis. *Blood Rev*. 2006; 20: 161-71.

17- Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science.* 1992; 255: 1707-10.

18- Gorji A, Ghadiri MK. History of epilepsy in medieval Iranian medicine. *Neuro Sci Bio Behav Rev*. 2001; 25: 455-61.

19- Arzi A, Ahamehe M, Sarahroodi S. Effect of hydroalcoholic extract of *Lavandula Officinalis* on nicotine-induced convulsion in mice. *P J Biol Sci*. 2011; 14: 634-40.

20- Prashar A, Locke IC, Evans CS. Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. *Cell Prolif*. 2004; 37: 221-9.

21- Linck V, Da Silva A, Figueiró M, Caramão E, Moreno P, Elisabetsky E. Effects of inhaled linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. *Phytomedicine.* 2010; 17: 679-83.

22- Buchbauer G, Jirovetz L, Jäger W. Aromatherapy: Evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 1991; 46: 1067-72.

23- Ghelardini C, Galeotti N, Salvatore G, Mazzanti G. Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula Angustifolia. Planta Medica.* 1999; 65: 700-3.

24- Alnamer R, Alaoui K, Bouidida EH, Benjouad A, Cherrah Y. Sedative and hypnotic activities of the methanolic and aqueous extracts of *Lavandula*

Officinalis from Morocco. *Adv Pharmacol Sci.* 2011; 2012.

25- Barocelli E, Calcina F, Chiavarini M, et al. Antinociceptive and gastroprotective effects of inhaled and orally administered lavandula hybrida reverchon "Grosso" essential oil. *Life Sci.* 2004; 76: 213-23.

26- Kashani MS, Tavirani MR, Talaei SA, Salami M. Aqueous extract of lavender *(Lavandula Angustifolia)* improves the spatial performance of a rat model of alzheimer's disease. *Neuroscience Bulletin.* 2011; 27: 99-106.

27- Büyükokuroğlu ME, Gepdiremen A, Hacimüftüoğlu A, Oktay M. The effects of aqueous extract of *Lavandula Angustifolia* Flowers in glutamate-induced neurotoxicity of cerebellar granular cell culture of rat pups. *J Ethnopharmacol.* 2003; 84: 91-4.

28- Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M. Neuroprotective effect of pretreatment with *Lavandula Officinalis* ethanolic extract on blood-brain barrier permeability in a rat stroke model. *Asian Pacific J Trop Med.* 2014; 7: S421-S6.

29- Zhilyakova E, Novikov O, Naumenko E, et al. Study of *Monarda Fistulosa* essential oil as a prospective antiseborrheic agent. *Bulletin Exper Biol Med.* 2009; 148: 612-4.

30- MPham WS, Siripornpanich V. The effects of lavender oil inhalation on emotional states, autonomic nervous system, and brain electrical activity. *J Med Assoc Thai.* 2012; 95: 598-606.

31- Mazzanti G, Battinelli L, Salvatore G. Antimicrobial properties of the linalool-rich essential oil of *Hyssopus Officinalis L. Var Decumbens (Lamiaceae). Flavour and Fragrance J.* 1998; 13: 289-94.

32- Ballabeni V, Tognolini M, Chiavarini M, et al. Novel antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from *Lavandula Hybrida Reverchon* "Grosso". *Phytomedicine.* 2004; 11: 596-601.

33- Evandri M, Battinelli L, Daniele C, Mastrangelo S, Bolle P, Mazzanti G. The antimutagenic activity of *Lavandula Angustifolia* (Lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. *Food Chem Toxicol.* 2005; 43: 1381-7.

Prolifration and Anti-Apoptotic Effect of Hydroethanolic Extract of *Lavandula officinalis* on Rat Neural Stem Cells

Abdanipour A[1], Nejatbakhsh R[1], Jafari Anarkooli I[1], Ghorbanlo M[1], Nikfar A[2], Noriyan A[3]

[1]Dept. of Anatomy, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

[2]Dept. of Genetics and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

[3]Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University Ardabil Branch, Ardabil, Iran.

Corresponding Author: Nejatbakhsh R, Dept. of Anatomy, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

E-mail: reza_nejat@yahoo.com

Received: 15 Oct 2015 **Accepted:** 28 Dec 2015

Background and Objective: Nowadays, extensive research is carried out on the effect of plant extracts on variety of disorders. In this study, the effect of hydroethanolic extract of *Lavandula officinalis* on proliferation of neural stem cells as well as its anti-apoptotic properties was assessed.

Materials and Methods: Neural stem cells were isolated from hippocampus of neonatal rat brain. To determine the optimal concentration *of Lavandula officinalis* extract, isolated neural stem cells were treated with 200, 400, 600, 800 and 1000 µg/ml of concentrate for 48 h. Then cell proliferation rate was evaluated via MTT assay. Meanwhile, the anti-apoptotic property of *Lavandula officinalis* extract was evaluated using TUNEL assay method.

Results: The results of this study showed a significant difference in cell proliferative and anti-apoptotic property of *Lavandula officinalis* extract on neural stem cells comparing to the control group.

Conclusion: The hydroethanolic extract of *Lavandula officinalis* can be effective on proliferation elevation and apoptosis reduction in rat neural stem cells.

Keywords: Cell proliferation, Lavandula officinalis, Neural stem cells, Apoptosis, Rat