

اثر محافظت عصبی عصاره‌ی اتانولی اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*)

بر میزان ادم مغزی در مدل سکته‌ی مغزی موش صحرایی

زهرا ربیعی^۱، دکتر اسفندیار حیدریان^۲، دکتر محمود رفیعان کوپایی^۱

نویسنده‌ی مسؤل: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دانشکده‌ی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی Rafieian@yahoo.com

دریافت: ۹۳/۴/۱۲ پذیرش: ۹۳/۹/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: تغییرات قابل توجه در عملکرد سیستم عصبی مرکزی در دوره مختصری از قطع جریان خون مغز مشاهده می‌شود. بیماران مبتلا به سکته مغزی تغییرات شناختی، عاطفی و الکتروفیزیولوژیک در طی فاز بهبودی نشان می‌دهند. اسطوخودوس متعلق به خانواده *Labiatae* است و دارای مصرف زیاد در تولید لوازم آرایشی و بهداشتی است و همچنین به عنوان اهداف درمانی در طب گیاهی به کار می‌رود. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره اتانولی اسطوخودوس بر میزان ادم مغزی در مدل سکته‌ی مغزی رت است.

روش بررسی: عصاره اسطوخودوس (با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۲۰ روز متوالی به موش‌های صحرایی به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۲ ساعت بعد از آخرین دوز، جراحی بستن شریان مغزی انجام شد و ۲۴ ساعت بعد از القای ایسکمی میزان ادم مغزی اندازه‌گیری شد و ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و بافت مغز در گروه‌های دست نخورده اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: این تحقیق نشان می‌دهد که تیمار موش‌های صحرایی با عصاره اتانولی اسطوخودوس باعث یک کاهش معنی‌دار در میزان آب مغزی در مقایسه با گروه ایسکمی گردیده است. عصاره اسطوخودوس باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و بافت مغز در گروه‌های دست نخورده در مقایسه با گروه کنترل شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره اسطوخودوس فعالیت نوروپروتکتیو در برابر ایسکمی مغزی داشته که مکانیسم آن ممکن است در ارتباط با افزایش فعالیت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی خارجی و مهار استرس اکسیداتیو در مغز موش‌های صحرایی باشد.

واژگان کلیدی: ادم مغزی، سکته مغزی، موش صحرایی

مقدمه

می‌باشد. ایسکمی مغزی یا سکته مغزی به قطع جریان خون به مغز یا قسمتی از مغز گفته می‌شود (۱). ایسکمی در اثر عواملی چون ترومبوز، آمبولی و کاهش خون رسانی

واژه‌ی ایسکمی از دو واژه‌ی یونانی *Iskhein* به معنی مانع شدن و *Haema* به معنی خون گرفته شده که در کل به معنای محدودیت در رسیدن خون به ارگان‌ها و بافت‌ها

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

۲- دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی، دانشیار مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

۳- دکترای تخصصی فارماکولوژی، استاد مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

سیستمیک به وجود می‌آید (۲). ایسکمی کانونی (ناشی از آمبولی و ترومبوز) و گلوبال مغزی (ناشی از ایست قلبی) از بیماری‌های شایع جوامع بشری هستند. بافت مغزی به دلیل متابولیسم بالا و ذخایر اکسیژن کم حساسیت بسیار زیادی به آسیب ایسکمی دارد (۳). در ایسکمی مغزی کانونی و یا گلوبال، جریان خون مغزی (CBF: Cerebral Blood Flow) در مناطقی از مغز کاهش می‌یابد که قبلاً توسط اکسیژن موجود در رگ‌هایی که بسته نبود تغذیه می‌شد این امر به علت ایست قلبی و یا قطع کانونی جریان خون مغز که ناشی از انسداد عروق است به وجود می‌آید. (۴). ایسکمی مغزی و برقراری مجدد جریان خون با القا تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS: Reactive Oxygen Species) شناخته شده است که به نوبه‌ی خود، منجر به آسیب اکسیداتیو لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. کاهش آنتی اکسیدان‌های بافت، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و همچنین عمل محافظتی رفتگران برای پاک سازی رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدی در مدل‌های مختلف ایسکمی مغزی نشان داده شده است (۵). همچنین اکسیدان‌ها آغاز کننده‌های مسیرهای سیگنالینگ مرگ سلولی هستند که ممکن است به آپوپتوز منجر شود.

یکی از وقایعی که به دنبال استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد، افزایش تشکیل ROS در سلول به دلیل افزایش فعالیت‌های متابولیک در میتوکندری است (۶). افزایش ROS منجر به پروکسیده شدن لیپیدها، نیترا ته شدن پروتئین‌ها، تغییر پتانسیل غشای داخلی میتوکندری و تخریب DNA می‌شود (۷). ROS آنتی اکسیدان‌ها از قبیل گلو تاتیون را مصرف می‌کند و می‌تواند فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان‌ها را تغییر دهد و نیز در دسترس بودن گلو تاتیون پروکسیداز، گلو تاتیون ردوکتاز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را تحت تاثیر قرار دهد (۸). کاهش میزان ROS می‌تواند به دلیل کاهش تولید آن و یا افزایش حذف کننده‌های رادیکال آزاد باشد. طی ایسکمی و

خون‌رسانی مجدد پس از آن، مویرگ‌های مغزی دچار اختلال عملکرد می‌شوند که این اختلالات سبب بروز ادم مغزی در ۳ مرحله‌ی ادم یونی، ادم وازوژنیک و هموراژی می‌شود. ادم مغزی، به علت ایجاد تورم در بافت مغزی، مخرب است. تورم به معنای افزایش حجم بافت مغزی است. بافت متورم به بافت‌های مجاورش فشار وارد کرده و آن‌ها را جا به جا می‌کند و چون حجم مجموعه محدود است منجر به افزایش فشار در مغز می‌شود (۹).

سکته‌ی مغزی بیشترین هزینه را در مقایسه با سایر بیماری‌ها به جوامع تحمیل می‌کند. درک مکانیسم‌های این آسیب‌ها و نیز ایجاد نوروپروتکشن در مقابل این بیماری‌ها و به‌ویژه شناسایی مکان‌های هدف جدید، جهت درمان ایسکمی از اهمیت بسیار حیاتی برخوردار است.

با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو و التهاب از علل اصلی آسیب نورو ن‌ها طی ایسکمی هستند و همچنین ناکارآمد بودن داروهای موجود در درمان ایسکمی، تلاش برای ارتقای داروها روز به روز بیشتر می‌شود.

گیاه *Lavandula officinalis* در ایران عموماً به اسم اسطوخودوس شناخته می‌شود و از قدیم مورد توجه بوده است. این گیاه به صورت یک گیاه معطر توزیع گسترده‌ای داشته و گل‌های این گیاه و اسانس آن اساساً در صنعت تولید لوازم آرایشی و عطر به کار می‌رود (۱۰). ترکیبات فراوانی در عصاره‌ی این گیاه شناسایی شده است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به ژرانیول، لینالول، لینالیل استات، سینئول، بورنئول، آلفا پینن، کامفور، اسید بوتیریک، اسید والریانیک، اسید اورسالیک و فلاونوئیدهای لوتئولین اشاره کرد، که این مواد احتمالاً تاثیر گیاه را بر مناطق CNS (central nervous system) تقویت کرده و باعث بروز اثرات آرامبخشی و تسکینی از طریق گیرنده‌های گابا می‌شود (۱۱). گیاه اسطوخودوس دارای اثرات مثبتی بر روی حافظه‌ی فضایی، یادگیری احترازی و تعادل حرکتی است و اثرات ضد دردی می‌باشد (۱۲). گیاه

۲- **(Sham) گروه شم:** گروهی که تحت جراحی بدون انسداد شریان مغزی قرار گرفتند.

۳- **(Ischemia+100) گروهی** که عصاره‌ی اتانولی اسطوخودوس را به صورت تزریق داخل صفاقی با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند و سپس تحت جراحی ایسکمی مغزی قرار گرفتند.

۴- **(Ischemia+200) گروهی** که عصاره‌ی اتانولی اسطوخودوس را به صورت تزریق داخل صفاقی با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند و سپس تحت جراحی ایسکمی مغزی قرار گرفتند.

۵- **(Control-Intact) گروهی** که تحت هیچ گونه جراحی قرار نگرفته و فقط آب مقطر دریافت کردند و از سرم و بافت مغزشان برای تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

۶- **(Intact100) گروهی** که تحت هیچ گونه جراحی قرار نگرفته و فقط عصاره با دوز ۱۰۰ میلی گرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و از سرم و بافت مغزشان برای تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

۷- **(Intact200) گروهی** که تحت هیچ گونه جراحی قرار نگرفته و فقط عصاره با دوز ۲۰۰ میلی گرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و از سرم و بافت مغزشان برای تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

دو ساعت بعد از آخرین تیمار، گروه‌های مداخله ($n=7$) (ایسکمی، ایسکمی $100+$ ، ایسکمی $200+$ ، شم) تحت جراحی انسداد شریان مغزی قرار گرفتند و میزان ادم مغزی به روش زیر اندازه‌گیری شد و گروه‌های دست نخورده ($n=7$) (کنترل - سالم، سالم $100+$ ، سالم $200+$ ، شم) تحت بیهوشی عمیق از قلبشان خون‌گیری شده و بافت مغز آن‌ها خارج شده و تست‌های بیوشیمیایی انجام شد. کشتن حیوانات طبق پروتکل‌های اخلاقی مربوطه می‌باشد.

جراحی: موش‌های صحرایی به وسیله‌ی تزریق داخل صفاقی کتامین (آلفاسان، هلند) ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زیلازین

اسطوخودوس به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا و ترکیبات فراوان پلی فنولی (۱۲) برای این مطالعه انتخاب شده است. در این مطالعه ما سعی کردیم با سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه اسطوخودوس به روش DPPH(2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)، تاثیر این گیاه بر میزان ادم مغزی در مدل سکته‌ی مغزی موش صحرایی را مورد بررسی قرار دهیم. لازم به ذکر است که در این مورد تاکنون مطالعه‌ای انجام نشده است.

روش بررسی

تهیه‌ی عصاره: گیاه اسطوخودوس (ساقه و برگ) خریداری شد 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 خیساندن عصاره‌گیری شد. ابتدا محتوی گیاه بر روی چرخاننده‌ی مغناطیسی (Stirrer) با مگنت و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و بعد محتویات آن صاف گردید. محلول صاف شده در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد تا آب و الکل آن بخار و عصاره خشک شود (۱۲ و ۱۱).

حیوانات آزمایشگاهی: این مطالعه از نوع تجربی بوده و حیوانات با روش تصادفی ساده در گروه‌های مختلف آزمایشی قرار گرفتند. در این مطالعه از ۴۹ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم که از انستیتو پاستور ایران خریداری شده بود استفاده گردید. حیوانات حین و قبل از مطالعه در شرایط دوازده ساعت تاریکی - روشنایی در دمای ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند و با غذای استاندارد موش‌های صحرایی تهیه شده از انستیتو پاستور ایران تغذیه شدند. حیوان‌ها به ۷ گروه ۷ تایی تقسیم شدند:

۱- **(Ischemia) گروه ایسکمی:** گروهی که آب مقطر را به صورت داخل صفاقی (۱۲) دریافت کرده و سپس تحت ایسکمی مغزی کانونی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز: قدرت آنتی‌اکسیدانی مغز به وسیله‌ی اندازه‌گیری توانایی آن در احیا Fe^{3+} به Fe^{2+} با استفاده از روش FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) تعیین شد. محلول کار FRAP شامل ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول TPTZ (2,4,6 Tripyridyl-s-Triazine) و ۲/۵ میلی‌لیتر $FeCl_3$ است.

مغز گروه‌های سالم خارج و هموژنیزه شد و با نیروی ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد سپس از محلول شناور برای ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی استفاده شد. ۵۰ میکرولیتر از این محلول به ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول کار تازه آماده شده در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد اضافه شد. بعد از ۱۰ دقیقه کمپلکسی بین Fe^{2+} و TPTZ تشکیل شد که ایجاد یک رنگ آبی کرد. جذب آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر محاسبه گردید و $FeSO_4$ به‌عنوان محلول استاندارد در این روش استفاده شد (۱۶ و ۱۵).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به روش DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به وسیله‌ی رادیکال‌های ثابت DPPH (۱ و ۱ دی‌فنیل، ۲ پیکریل هیدروزیل) اندازه‌گیری می‌شود. به‌طور خلاصه محلول ۰/۱ میلی‌مولار از DPPH در اتانول آماده شد و ۱ میلی‌لیتر از این محلول به ۳ میلی‌لیتر از نمونه‌ی عصاره در غلظت‌های متفاوت اضافه شد. BHT (Butylated HydroxyToluene) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده می‌شود. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر محاسبه شد. درصد اثر حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

Inhibition of free radical by DPPH (%)

$$\frac{(A_0 - A_2)}{A_0} \times 100 =$$

A_0 جذب نوری کنترل و A_1 جذب نوری در حضور نمونه‌ی استاندارد و یا عصاره است.

آنالیز آماری: داده‌ها با استفاده از آزمون (ANOVA) مورد

(آلفاسان، هلند) ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون ۳-۰ که با استفاده از حرارت سر آن گرد شده از طریق تنه‌ی شریان کاروتیدی خارجی وارد شریان کاروتید داخلی شد و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی از میان شریان کاروتید داخلی با پتریگوپالاتین بسته ادامه 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 (۱۳).

سنجش محتوی آب مغزی (ادم مغزی): بعد از جداسازی سر حیوان، مغز آن خارج شد و مخچه، پل مغزی، و پیازهای بویایی جدا شدند و وزن خالص نیمکره‌های مغز (WW: Wet Weight) اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک (DW: Dry Weight) بعد از قرار گرفتن ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد اندازه‌گیری شدند. در نهایت، محتوی آب مغز بر اساس فرمول $[(WW-DW)/WW] \times 100$ اندازه‌گیری شد (۱۳).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما: برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما از ۳ محلول استفاده شد:

محلول ۱: شامل ۱/۵ میلی‌لیتر استات سدیم و ۸ میلی‌لیتر اسید استیک غلیظ که با آب مقطر به حجم ۵۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

محلول ۲: شامل ۲۷۰ میلی‌گرم کلرید آهن (III) که با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

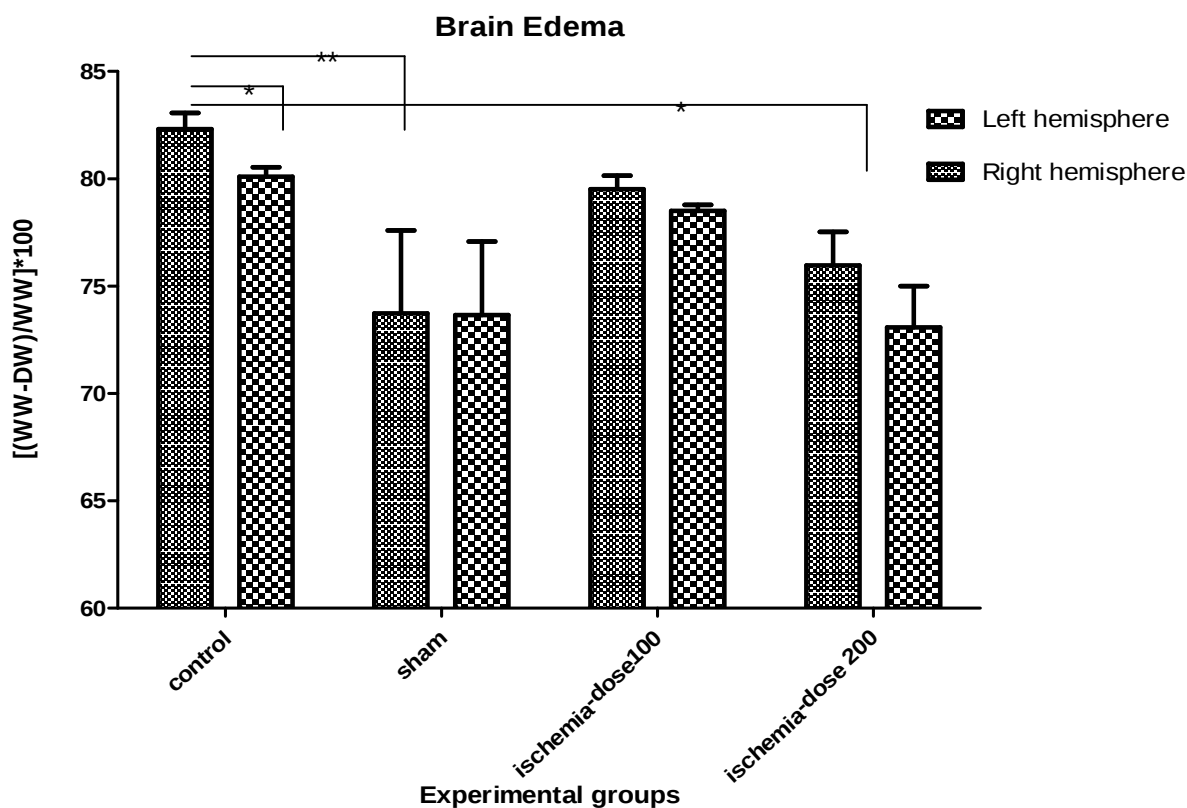
محلول ۳: شامل ۴۷ میلی‌گرم تری‌آزین که در ۴۰ میلی‌لیتر HCL حل شده بود. محلول کار که شامل ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱، ۱ میلی‌لیتر محلول ۲ و ۱ میلی‌لیتر محلول ۳ بود تهیه شد. در نهایت ۲۵ میکرولیتر از نمونه‌ی سرم به اضافه‌ی ۱/۵ میلی‌لیتر ۱ محلول کار را در لوله‌ی آزمایش ریخته و ده دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد سپس، جذب نور در طول موج ۵۹۳ ثبت شد (۱۴).

معنی‌داری در محتوای آب مغزی در مقایسه با گروه ایسکمی گردیده است ($P=0/038$). ارتباط معنی‌داری نیز بین گروه شم و گروه ایسکمی مشاهده گردید ($P=0/009$). از طرف دیگر اختلاف معنی‌داری بین محتوای آب مغزی در نیمکره‌ی راست (تحت ایسکمی) و نیمکره‌ی چپ (سالم) در گروه ایسکمی مشاهده شد ($P=0/029$) (نمودار ۱). محتوای آب مغزی در نیمکره‌ی راست (تحت ایسکمی) و نیمکره‌ی چپ (سالم) به دلیل اثبات ایجاد مدل ایسکمی، در دیگر گروه‌های آزمایشی مقایسه نشد و فقط در گروه ایسکمی مقایسه شد.

آنالیز قرار گرفتند. تمام آنالیزها با کمک نرم‌افزار SPSS 11 انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده می‌شود. $P < 0/05$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شده‌اند.

یافته‌ها

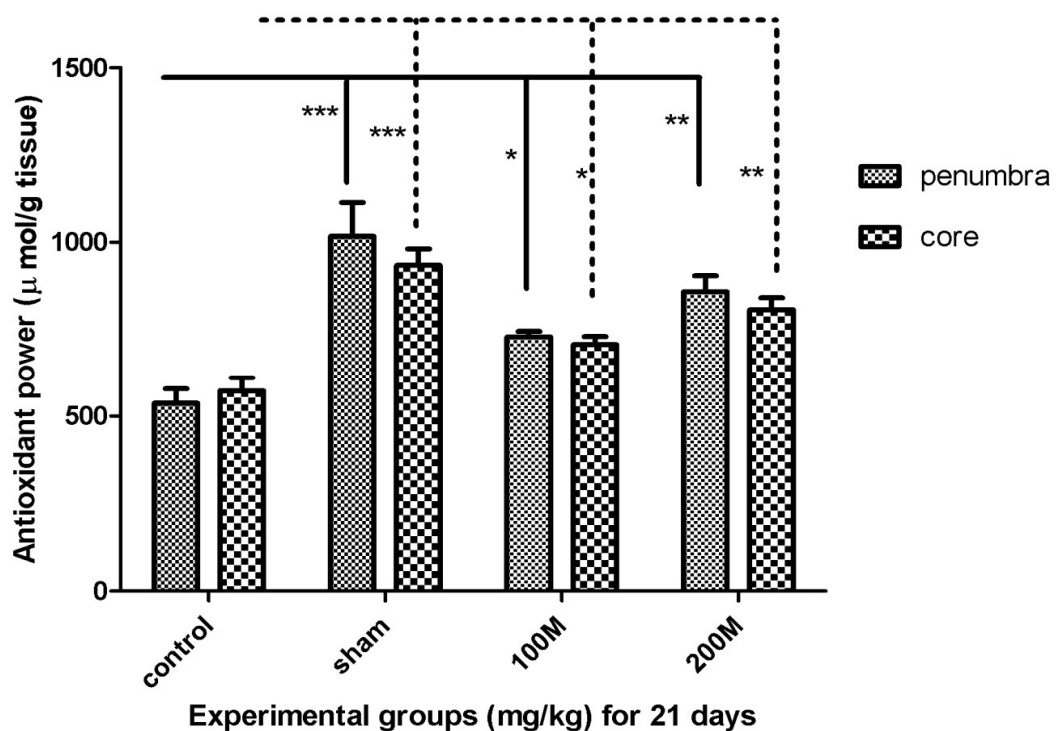
اثر عصاره‌ی اسطوخودوس بر میزان ادم مغزی در مدل سکته‌ی مغزی: این مطالعه نشان می‌دهد که تیمار موش‌های صحرایی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش



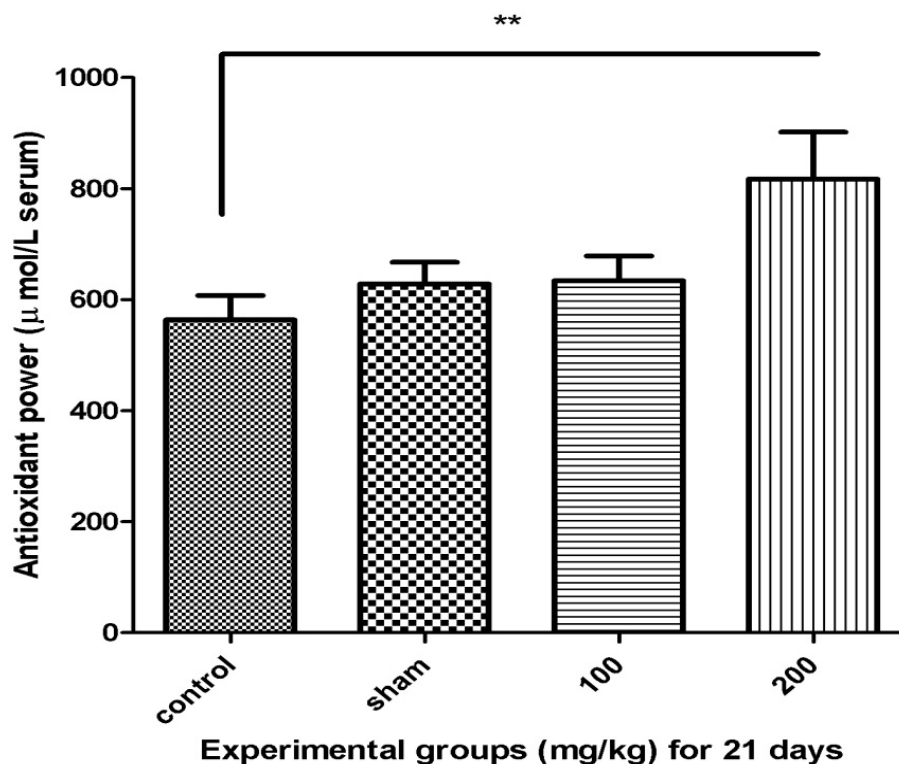
نمودار ۱: محتوای آب مغزی گروه‌های آزمایشی مختلف (شم، کنترل ایسکمی، گروه‌های ایسکمی که دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس را دریافت کرده‌اند) در نیمکره‌ی راست (تحت ایسکمی) و نیمکره‌ی چپ (سالم) (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $n=7$).

باشد گرچه انسداد شریان میانی صورت نگرفته است. ظرفیت آنتی اکسیدانی اسطوخودوس به روش DPPH: نتایج مربوط به تست آنتی اکسیدانی عصاره به روش DPPH در جدول ۱ گزارش شده که نتایج حاصل نشان می‌دهد که IC₅₀ درصد عصاره با دوز ۳۷ میکرو گرم بر میلی‌لیتر است. شکل ۴ نمایانگر اثر نوروپروتکتیو عصاره اسطوخودوس بر ایسکمی کانونی مغزی است. در این آزمایش برای نشان دادن میزان آسیب در مغز، آن را با ضخامت ۲ میلی‌متری برش زده و همه برش‌ها با رنگ TTC، ۲۴ ساعت پس از ۶۰ دقیقه القای ایسکمی رنگ شده‌اند.

اثر عصاره‌ی اسطوخودوس بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز و سرم: تزریق عصاره‌ی اسطوخودوس در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز در رت‌های سالم و دست نخورده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در ناحیه پنومبرا (کورتکس)، (به ترتیب، $P=0/03$ و $P=0/001$) و کانون (زیر قشر) مغز (به ترتیب، $P=0/033$ و $P=0/002$)، نسبت به کنترل - دست نخورده به‌طور معنی‌داری افزایش داد (نمودار ۲). در سرم خون نیز این اثر در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار بود ($P=0/004$) (نمودار ۳). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون گروه شم نسبت به گروه کنترل بالاتر است که شاید به دلیل استرس جراحی یا تاثیر ماده‌ی بی‌هوشی



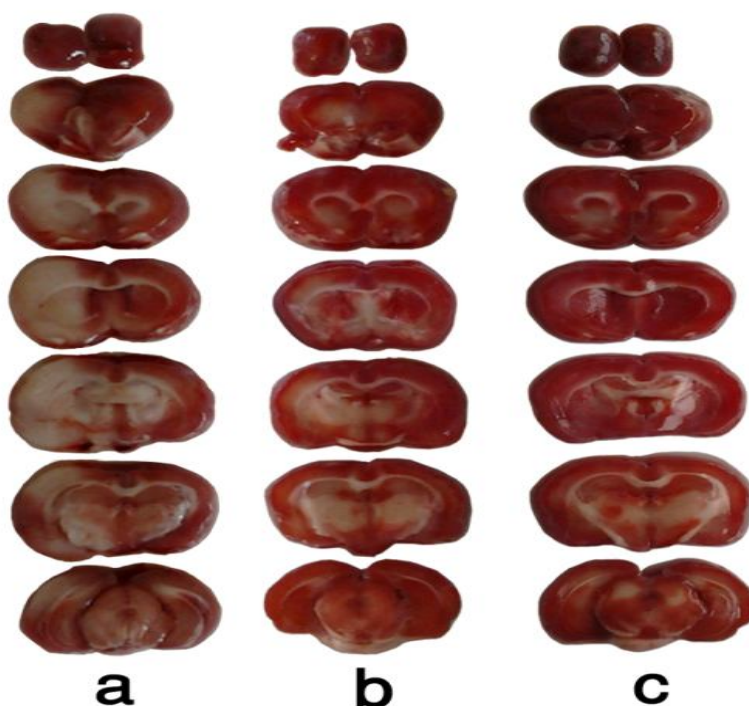
نمودار ۲: تاثیر عصاره‌ی اسطوخودوس بر ظرفیت آنتی اکسیدانی ناحیه‌ی پنومبرا (کورتکس) و کانون (ساب کورتکس) مغز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغز در گروه‌های آزمایشی دست نخورده ۱ - کنترل - دست نخورده ۲ - شم ۳ - گروه دست نخورده که دوز ۱۰۰ اسطوخودوس را دریافت کردند ۴ - گروه دست نخورده که دوز ۲۰۰ اسطوخودوس را دریافت کردند (* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; $n=7$)



نمودار ۳: اثر عصاره‌ی اسطوخودوس بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم در گروه‌های آزمایشی دست نخورده ۱- کنترل- دست نخورده ۲- شام ۳- گروه دست نخورده که دوز ۱۰۰ اسطوخودوس را دریافت کردند ۴- گروه دست نخورده که دوز ۲۰۰ اسطوخودوس را دریافت کردند (**= $P<0.01$; $n=7$).

جدول ۱: قدرت حذف رادیکال‌های آزاد DPPH برای غلظت‌های مختلف اسطوخودوس و BHT

نمونه	غلظت (µg/ml)	فعالیت پاک کنندگی رادیکالی DPPH
		درصد مهار
عصاره اسطوخدوس	5	7.2
	10	15
	20	29
	30	40
	40	53
	80	87
BHT	1	4.02
	5	14.3
	10	25.2
	15	32.1
	20	41.5
	25	53.4
	40	62.6
	80	89.6



شکل ۴: شکل‌ها نمایانگر اثر نورپروتکتیو عصاره اسطوخدوس بر ایسکمی کانونی مغزی هستند. همه برش‌ها با رنگ TTC، ۲۴ ساعت پس از ۶۰ دقیقه القای ایسکمی رنگ شده‌اند. هر ستون نمایانگر برش‌های کرونال مغزی یک رت هستند. (a) برش‌های مغزی رتی از گروه شاهد b و c به ترتیب، برش‌های مغزی رتهایی از گروه‌هایی که با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن با عصاره اسطوخدوس تیمار شده‌اند.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تیمار با عصاره‌ی اتانولی اسطوخودوس باعث کاهش معنی‌دار ادم مغزی در رت‌های مدل سکته‌ی مغزی می‌شود. همچنین این عصاره باعث افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی سرم و بافت مغز در گروه‌های آزمایشی سالم که فقط عصاره دریافت کرده‌اند می‌گردد. آسیب ایسکمی با دو واقعه‌ی جداگانه شناخته می‌شود: مرگی غیر قابل اجتناب در طی چند دقیقه‌ی اول سکته و در ناحیه‌ای که هیچ‌گونه جریان خون و در نتیجه هیچ ATP وجود ندارد، این ناحیه به نام کانون ایسکمی شناخته می‌شود، اما در اطراف این ناحیه‌ی دچار نکروز شده، منطقه‌ای وجود دارد که در آن جا جریان خون هنوز به مقدار

کمی وجود دارد ولی از لحاظ الکتریکی خاموش است و به سختی میزانی خون به منظور زنده ماندن می‌گیرد، که به آن پنومبرای ایسکمی می‌گویند. در مدل ایسکمی (MCAO: Middle Cerebral Artery Occlusion) کانون، معادل ناحیه‌ی زیر قشری و پنومبرا معادل ناحیه‌ی قشری مغز می‌باشد (۱۷). ادم مغزی در ابتدا در نواحی پنومبرا که هنوز مقداری خون‌رسانی می‌شوند اتفاق می‌افتد. در مدل ایجاد ادم مغزی در جوندگان، ۸ ساعت پس از بستن دایمی شریان میانی مغزی، ادم مغزی بیشتر در ناحیه‌ی مجاور کانون سکته دیده می‌شود (۹). تصاویر MRI نیز تایید می‌کنند که ادم مغزی ابتدا در نواحی پنومبرا انجام می‌شود (۱۸). ادم مغزی توسط نیروهای جلوبرنده (مثل جریان یون‌های سدیم و

پتاسیم و جریان آب) به سمت ناحیه‌ای که اصلاً خون‌رسانی ندارد جریان می‌یابد به‌طوری که قبل از برقراری تعادل، نواحی کانونی آب و الکترولیت‌های کمتری نسبت به پنومبرا دارند. بنابراین می‌توان از سرعت و نرخ جمع شدن سدیم در ناحیه کانون سخته به‌عنوان معیاری برای تخمین سن منطقه‌ی دچار سخته استفاده کرد (۱۹). البته باید توجه داشت احتمال ایجاد فاز سوم ادم مغزی، یعنی هموراژی، در موقع خون‌رسانی مجدد در ناحیه‌ی کانون سخته بیشتر است چون قبلاً در شرایط ایسکمی کامل به سر می‌برده است (۹). با قطع کامل جریان خون، فعالیت الکتریکی نورون‌ها متوقف و در عرض چند دقیقه سطح انرژی و هموستازی یونی رو به زوال می‌رود. هر چند در این زمان متابولیسم‌های بی‌هوازی صورت می‌گیرد، اما برای تولید ATP در حدی که سبب حفظ جامعیت غشای نورونی شود کافی نیست. در نتیجه، خالی شدن سلول‌ها از فسفات‌های پر انرژی، به‌سرعت سبب تخریب عملکرد پمپ‌های غشایی و ورود یون‌های سدیم و کلر به درون سلول‌ها و در نهایت ادم درون سلولی می‌شود (۲۰). اسطوخودوس 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 و غیر مغزی به شمار می‌رود (۲۱). حاج هاشمی و همکارانش با انجام آزمون‌های مختلف، اثر عصاره‌های هیدروالکلی و پلی‌فنولی و نیز اسانس این گیاه را به‌عنوان یک ماده‌ی ضدالتهاب بررسی و اثبات کردند (۱۱). استرس اکسیداتیو به شرایطی گفته می‌شود که تعادل فیزیولوژیکی بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها به هم خورده و در جهت اکسیدان‌ها پیش می‌رود و آسیب‌های جدی به بافت‌ها وارد می‌شود. استرس اکسیداتیو سبب تشکیل ROS و گونه‌های واکنشی نیتروژن (RNS: Reactive Nitrogen Species) شده و مکانیسم‌های متعدد مخربی چون مهار عملکرد میتوکندری، افزایش سطح کلسیم، آسیب

خون‌رسانی مجدد و التهاب را به وجود می‌آورد (۲۲). عصاره‌ی اتانولی اسطوخودوس با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اثرات آرام بخشی بر سیستم اعصاب مرکزی در موش سوری ایجاد می‌کند و عصاره‌ی آبی این گیاه نیز در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اثرات آرام بخش قابل توجهی ایجاد می‌کند (۲۳). در مطالعه‌ی دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره‌ی اسطوخودوس باعث مهار چشمگیر حملات صرعی ناشی از PTZ در موش‌های صحرایی شده است (۲۴). همچنین عصاره اسطوخودوس با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی که دارد در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم باعث کاهش چشمگیر سطح مالون دی‌آلدهید بافت مغز شده است. همچنین عصاره‌ی اسطوخودوس در ۳ دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم باعث کاهش سطح NO موجود در بافت مغز می‌شود (۲۴). رادیکال‌های آزاد به‌عنوان هدف دارویی مهمی برای بهبود عوارض ایسکمی شناخته شده‌اند. مشخص شده است که ترکیبات متعددی با خواص آنتی‌اکسیدانی از جمله پلی‌فنول‌ها که در برخی منابع غذایی یافت می‌شوند سبب کاهش آسیب مغزی حاصل از ایسکمی در مدل‌های جانوری می‌شوند (۲۵).

نتیجه گیری

عصاره اسطوخودوس به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات پلی‌فنولی (۱۲) می‌تواند به‌عنوان یک گیاه دارویی مناسب در پیشگیری از عوارض ناشی از ایسکمی و خون‌رسانی مجدد مفید باشد.

تشکر و قدردانی

در پایان برخود لازم می‌دانیم از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و کلیه عزیزانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تشکر کنیم.

References

- 1- Bhuiyan MIH, Kim YJ. Mechanisms and prospects of ischemic tolerance induced by cerebral preconditioning. *International Neurourology Journal*. 2010; 14: 203.
- 2- Lakhan SE, Kirchgessner A, Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. *J Transl Med*. 2009; 7: 97.
- 3- Warner DS, Sheng H, Batinić-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol*. 2004; 207: 3221.
- 4- Crack PJ, Taylor JM. Reactive oxygen species and the modulation of stroke. *Free Radic Biol Med*. 2005; 38: 1433-44.
- 5- Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001; 21: 2-14.
- 6- Abramov AY, Scorziello A, Duchen MR. Three distinct mechanisms generate oxygen free radicals in neurons and contribute to cell death during anoxia and reoxygenation. *J Neurosci* 2007; 27: 1129-38.
- 7- Moopanar TR, Allen DG. Reactive oxygen species reduce myofibrillar Ca^{2+} sensitivity in fatiguing mouse skeletal muscle at 37 C. *J Physiol*. 2005; 564: 189-99.
- 8- Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev*. 2004; 25: 612-28.
- 9- Simard JM, Kent TA, Chen M, Tarasov KV, Gerzanich V. Brain oedema in focal ischaemia: molecular pathophysiology and theoretical implications. *Lancet*. 2007; 6: 258-68.
- 10- Omidbaigi R. Production and processing of medicinal plants. *Astane Ghods Publications, Mashhad*. 2000; 3: 106-22.
- 11- 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.
- 12- 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. *Biomedicine & Aging Pathology*. 2013; 4: 71-76.
- 13- Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, et al. Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF- α level. *Exp Neurol*. 2008; 212: 298-306.
- 14- 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*. 2013; 17: 469-77.
- 15- Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996; 239: 70-6.
- 16- Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, Shadnia S. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and

- plasma of rats following subchronic exposure to malathion. Comparative biochemistry and physiology part C: *Toxicol Pharmacol*. 2004; 137: 29-34.
- 17- Astrup J. Energy-requiring cell functions in the ischemic brain: their critical supply and possible inhibition in protective therapy. *J Neurosurg*. 1982; 56: 482-97.
- 18- Quast MJ, Huang NC, Hillman GR, Kent TA. The evolution of acute stroke recorded by multimodal magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Imaging*. 1993; 11: 465-71.
- 19- Wang Y, Hu W, Perez-Trepichio AD, et al. Brain tissue sodium is a ticking clock telling time after arterial occlusion in rat focal cerebral ischemia. *Stroke*. 2000; 31: 1386-92.
- 20- Rami A, Langhagen A, Steiger S. Focal cerebral ischemia induces upregulation of beclin 1 and autophagy-like cell death. *Neurobiol Aging*. 2008; 29: 132-41.
- 21- Taghikhani M, Nasri H, Asgari A, et al. The renal toxicity of hydroalcoholic extract of *stachys lavandulifolia* vahl in wistar rats. *Life Sci J*. 2012; 9: 3025-31.
- 22- Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*. 1993; 262: 689-95.
- 23- 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.
- 24- 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; 148: 152-7.
- 25- Mohagheghi F, Bigdeli MR, Rasoulia B, Zeinanloo AA, Khoshbaten A. Dietary virgin olive oil reduces blood brain barrier permeability, brain edema, and brain injury in rats subjected to ischemia-reperfusion. *Sci W J*. 2010; 10: 1180-91.

The Neuroprotective Effect of Pretreatment with *Lavandula officinalis* Ethanolic Extract on Brain Edema in Rat Stroke Model

Rabiei Z¹, Heidarian E², Rafieian-kopaei M¹

¹Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

²Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Rafieian-kopaei M, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

E-mail: rafieian@Yahoo.Com

Received: 3 Jul 2014 **Accepted:** 11 Dec 2014

Background and Objective: Clinically significant changes in central nervous system (CNS) function are observed following brief periods of CNS blood flow interruption. Stroke patients exhibit cognitive, emotional, and electrophysiological changes during the recovery phase. Lavender belongs to the Labiatae family and is used for a variety of cosmetic and therapeutic purposes in herbal medicine. This study investigates the effect of ethanolic extract of lavender on cerebral edema in a rat stroke model.

Materials and Methods: Lavender extract was injected intraperitoneally (100 mg/kg and 200 mg/kg) for 20 consecutive days. 2 hours after the last dose cerebral artery ligation surgery was performed. 24 hours after the induction of ischemia, cerebral edema was assessed. Also, antioxidant capacities of plasma and brain tissue were assessed in the intact groups.

Results: This study shows that treatment of rats with ethanolic extract of lavender caused a significant decrease in brain water content compared with ischemia group. Lavender extracts increased antioxidant capacity in serum and brain tissue in the intact groups compared with the control group.

Conclusion: The results indicated that lavender extract has neuroprotective activity against cerebral ischemia and the mechanism may be related to augmentation in endogenous antioxidant defense and inhibiting oxidative stress in the rat brain.

Keywords: Brain edema, Brain stroke, Rat