مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۲، اردیبهشت ۱۳۹۴(شماره پی در پی۹۷)

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 وصول: ۱۳۹۳/۷/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۶

چکیده:

زمینه و هدف: ایسکمی‌مغز قدامی، قطع کامل جریان خون به بافت مغز و آسیب نورون ها را القا می‌کند. در این مطالعه اثر عصاره مریم گلی لاله‌زاری بر تعداد سلول‌های 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 ۳ گروه شم و بدون ایسکمی بود، گروه ۲، ۴، ۵، ۶ و ۷ گروه‌های ایسکمی بودند. سرخرگهای کاروتید مشترک چپ و مهره‌ای 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 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه ۵، سیلیمارین (۵۰ مبلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۲ ساعت بعد از ایسکمی، گروه ۶، همان دوز مریم گلی و گروه ۷، سیلیمارین، ۷۲، ۴۸، ۲۴ و ۰ ساعت قبل از ایسکمی‌دریافت کردند. پس از ۲۴ ساعت ریپرفیوژن، مغز موش‌ها برای مطالعات بافت شناسی آماده و مقاطع بافتی مخ و هیپوکامپ به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و شمارش سلولی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تعداد سلول‌های عصبی قشر مخ و لایه هرمی‌نواحی شاخ عامون (CA1 و CA2) هیپوکامپ در گروه‌های ۲، ۴ و ۵ در مقایسه با کنترل کاهش معنی‌داری یافت ($p < ۰/۰۵$). کاهش آشکاری در تعداد سلول‌های عصبی قشر مخ و تمام نواحی هیپوکامپ در گروه‌های ۳، ۶، ۷، لایه هرمی ناحیه CA3 و لایه گرانولار ناحیه برجستگی دندانه‌ای هیپوکامپ در گروه‌های ۲، ۴ و ۵ در مقایسه با کنترل مشاهده نشد .

نتیجه‌گیری: عصاره مریم گلی با اثر آنتی‌اکسیدانی مشابه سیلیمارین، مغز قدامی را از آسیب‌های ایسکمی- ریپرفیوژن محافظت می‌کند.

واژه‌های 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

ایسکمی‌مغز یک دلیل اصلی ناتوانی در افراد بالغ می‌باشد. ایسکمی‌مغز 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 نیتریت 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 نسبتا 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) 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

بروز مولکول‌های اتصالی در اندوتلیوم عروقی و لوکوسیت‌ها می‌باشند(۱۳). در مطالعه‌ای، اثر درمانی سالویا میلتیوریزا در آسیب‌های ناشی از قطع و برقراری مجدد جریان خون در مغز موش صحرایی، به خاصیت از بین برندگی رادیکال‌های آزاد نسبت داده شده است(۱۴). گیاه سالویا میلتیوریزا، 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 ۳۰۰-۲۵۰ 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 پلت های مخصوص جوندگان و آب کافی تغذیه شدند. این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی 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 مهره ای چپ بدون ایسکمی، تجویز سالین نرمال، نمونه گیری پس از ۲۴ ساعت، گروه ۴: ۱۰ دقیقه ایسکمی، تجویز عصاره مریم گلی ۲ ساعت بعد از ایسکمی، نمونه گیری 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 می باشد.

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.

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 ان 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.

مطالعه بافت شناسی برای اندازه‌گیری تعداد سلول های عصبی قشر مخ، لایه هرمی‌نواحی 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 هماتوکسیلین 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 ایسکمی‌بدون 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($p < ۰/۰۵$). در گروه ۶

کـه عصـاره مـریم گلـی و در گـروه ۷ کـه داروی سـیلیمارین ۷۲، ۴۸، ۲۴ و ۰ سـاعت قبـل از ایسـکمی دریافت کردند، تعداد سلول‌ها نسبت بـه گـروه کنتـرل کاهش معنی‌داری پیدا نکرد(p >۰/۰۵). تعداد سلول ها در گروه ۳ که فقط سرم فیزیولـوژی دریافـت کردنـد، تقریباً مشابه کروه کنترل بود (p>۰/۰۵)(نمودار۱).

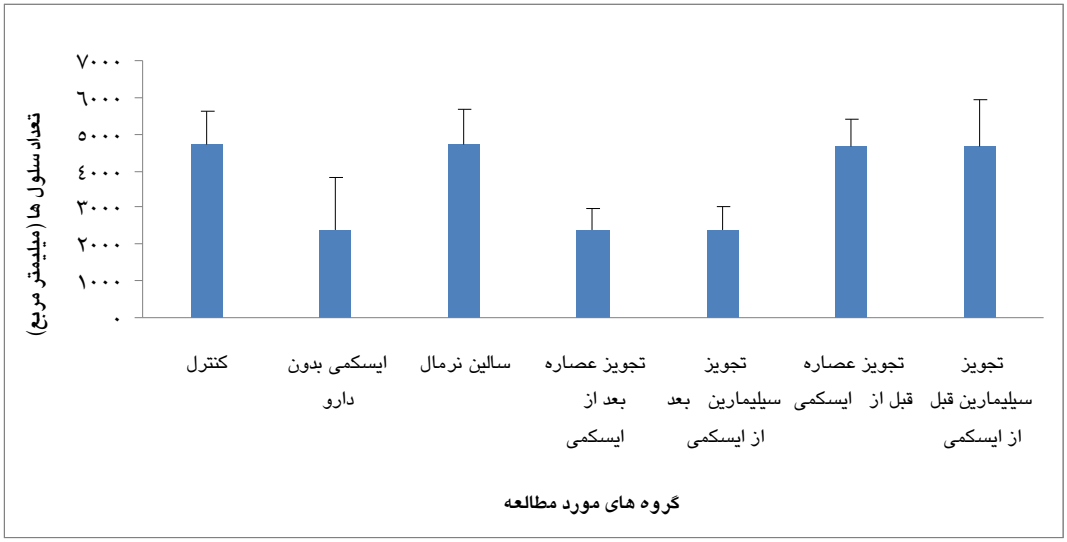
اثـر عصـاره مـریم گلـی لالـه زاری بـر تعـداد سلول‌های نواحی مختلف هیپوکامپ (CA1، CA2، CA3 و برجستگی دندانه‌ای): شمارش سلول‌های لایه هرمی نواحی CA1، CA2، CA3 و سلول‌های لایه گرانولر ناحیه برجسـتگی دندانـه‌ای هیپوکامـپ نشـان داد کـه در گروه‌های ۲، ۴ و ۵ تعداد سلول‌های لایه هرمی نواحی CA1 و CA2 در مقایسـه بـا گـروه کنتـرل بـه طـور معنی‌داری کاهش یافت(p<۰/۰۵)، اما تعداد سلول‌های هرمی‌ناحیه CA3 و سلول‌های گرانولر ناحیه برجستگی دندانه ای، نسبت به گـروه کنتـرل کـاهش معنـی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). بر اساس نتایج به دست آمـده، تعداد سلول‌های لایـه هرمـی‌نـواحی CA1، CA2، CA3 و سلول‌هـای لایـه گرانـولر ناحیـه برجسـتگی دندانـه‌ای هیپوکامپ در گـروه‌هـای ۶ و ۷ در مقایسـه بـا گـروه کنتـرل کـاهش آشـکاری پیـدا نکـرد(p>۰/۰۵). تعـداد سلول‌های نـامبرده، در گـروه ۳ تقریبـاً مشـابه گـروه کنتـرل بـود و کـاهش معنـی‌داری مشـاهده نشـد (p>۰/۰۵)(نمودارهای ۲ و ۳).

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

ستون های ستاره دار نشان دهنده کاهش معنی دار تعداد سلولهای عصبی قشر مخ در گروه ایسکمی‌بدون دریافت دارو، گروه تجویز عصاره بعد از ایسکمی‌و گروه تجویز سیلیمارین بعد از ایجاد ایسکمی‌نسبت به کنترل

نمودار۲: مقایسه تعداد سلول های لایه هرمی‌ناحیه CA1 (انحراف معیار± میانگین) هیپوکامپ در هفت گروه مورد مطالعه

ستون های ستاره دار نشان دهنده کاهش معنی دار تعداد سلول های لایه هرمی‌ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه ایسکمی‌بدون دارو، گروه تجویز عصاره بعد از ایسکمی‌و گروه تجویز سیلیمارین بعد از ایجاد ایسکمی‌نسبت به کنترل



نمودار۳: مقایسه تعداد سلول های لایه هرمی‌ناحیه CA2 (انحراف‌معیار± میانگین) هیپوکامپ در هفت گروه مورد مطالعه

ستون های ستاره دار نشان دهنده کاهش معنی دار تعداد سلول های لایه هرمی‌ناحیه CA 2 هیپوکامپ در گروه ایسکمی‌بدون دارو، گروه تجویز عصاره بعد از ایسکمی‌و گروه تجویز سیلیمارین بعد از ایجاد ایسکمی‌نسبت به کنترل

بحث

ایسکمی‌مغز ممکن است در نتیجه ایست قلبی یا به دنبال سکته یا خون‌ریزی مغز ایجاد شود(۱۹ـ۱۷). 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 جذب کننده گونه‌های اکسیژن واکنشگر 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(۲۷و۲۶). 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 الکلی 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 و۲۸). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که ۱۰ دقیقه ایسکمی‌و 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 (۳/۲ 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 هرمی‌در ناحیه CA1 هیپوکامپ اساساً

نسبت بـه ایسـکمی‌آسـیب‌پـذیر مـی‌باشـند(۳۰). نتـایج مطالعه‌ای نشان داد که آسیب ایسکمی‌آپوپتوز نورونی را در ناحیه CA1 هیپوکامپ افزایش و سطح گوانـوزین مونوفسـفات حلقـوی را کـاهش مـی‌دهـد. گوانـوزین مونوفسفات حلقوی نقش اساسی در عملکردهای مغـز شامل تولید نورون‌ها ایفا می‌کند(۳۱). مطالعـه دیگـری نشان داد که افـزایش پتاسـیم بعـد از ایسـکمی شـدید منجر به کاهش تحریک‌پذیری نورون‌هـای ناحیـه CA1 می‌گـردد و در مـرگ سـلول‌هـای عصـبی هیپوکامـپ دخالت دارد(۳۲). مطالعه حاضر هم‌چنین نشان داد که ایسکمی- ریپرفیوژن اثر آشکاری بر تعداد سلول‌هـای لایه هرمی ناحیه CA3 و لایه گرانولر ناحیه برجسـتگی دندانـــه‌ای در مقایســـه بـــا گـــروه کنتـــرل نداشـــت. مطالعه‌های گذشته هم‌چنین نشان داده که نورون‌هـای ناحیه CA3 و برجستگی دندانه‌ای هیپوکامپ نسبت بـه مدت کوتاه ایسکمی که برای نورون‌های هرمی ناحیـه CA1 کشنده است، مقاوم می‌باشند(۳۳).

گلوتامات یک ناقل تحریکی اصـلی در سیسـتم عصبی مرکزی مـی‌باشـد. مطالعـه‌هـای زیـادی ثابـت کرده‌اند که گلوتامات خارج سلولی بعد از هیپوکسـی - ایسکمی، در مغـز تجمـع مـی‌یابـد کـه بـه عنـوان یـک اگزوتوکسین در القای مرگ تأخیری نورون‌ها، بعـد از ایسکمی مغز عمـل مـی‌کنـد(۳۵ـ۳۴). ناقـل گلوتامـات گلیال- ۱ نوعی پروتئین می‌باشد کـه گلوتامـات را از فضای خـارج سـلولی پـاک کـرده و گلوتامـات خـارج سلولی را در زیر سـطح مسـمومیت نـورونی در مغـز نگه می‌دارد(۳۶). بروهن و همکاران افزایش پیشرونده بروز ناقل گلوتامات گلیال-۱ در ناحیه CA3 هیپوکامپ بعد از ایسکمی ۱۰ دقیقه‌ای در مغز مشاهده کردند(۳۷).

در ایسکمی- ریپرفیوژن حیوانـات، سـالویا از آسیب سـکته قلبـی پیشـگیری کـرده، پراکسیداسـیون لیپیدها را کاهش، فعالیت آنزیم‌های آنتـی‌اکسـیدانت را بهبود می‌بخشد(۴۰ـ۳۸ و ۱۳) و رادیکـال‌هـای آزاد را جذب می‌کند(۴۲ـ۳۹ و ۱۳، ۱۱).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعـه، پـیش درمـانی بـا عصاره الکلـی گیـاه مـریم گلـی لالـه‌زاری بـا ویژگـی آنتی‌اکسـیدانی قـوی مشـابه داروی سـیلیمارین، مغـز قدامی را از آسیب‌های ناشی از ایسـکمی- ریپرفیـوژن محافظت می‌کند.

پیشنهاد مـی‌شـود در مطالعـه‌هـای مشـابه در آینده، تجزیه و شناسایی ترکیـب‌هـای تشـکیل دهنـده عصاره مریم گلی لاله‌زاری، تعیین میزان اثر هر یک از اجزاء تشکیل دهنـده ایـن عصـاره در پدیـده ایسـکمی ریبرفیوژن و بررسی فراساختاری سلول‌های عصـبی قشر مخ و هیپوکامپ به دنبـال آسـیب‌هـای ایسـکمی- ریپرفیوژن انجام پذیرد.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر بخشی از پایان نامـه دکتـرای تخصصـی بافـت‌شناسـی بـوده کـه بـا حمایـت مـالی دانشگاه شیراز انجام شد.

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 JJL, 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, Kadkhodaee 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. Neuroscie 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, Khodagholi 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 Bentham) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. Bioresource Technol 2008; 99: 1584-8.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

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

[1]Departments 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 : Saliva extract with aintoxidan 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.