

The effect of hydroalcoholic extract of *Satureja hortensis* on outcomes of stroke in rat

Rahnema M*, Foroozandeh M, Ghasemloo E

Department of Physiology, Biology Research Center, Zanjan-Branch, Islamic Azad University, Zanjan, I. R. Iran.

Received August 4, 2015; Accepted October 19, 2015

Abstract:

Background: Antioxidants can prevent oxidative stress produced by free radicals. Since *Satureja hortensis* contains various antioxidant compounds, this study was conducted to examine the effect of *S. hortensis* extract on blood-brain barrier permeability, brain edema and neurological deficits.

Materials and Methods: In this experimental study, 70 male Wistar rats were randomly allocated into 5 groups ($n=14$). The control group received distilled water plus induction of ischemia, three experimental groups received the hydroalcoholic extract of *S. hortensis* with different doses of 50, 75 and 100mg/kg, respectively, plus induction of ischemia and the sham group received no treatment and induction of ischemia. Pretreatment with *S. hortensis* extract was performed for 30 days, orally through gavage. Each group was subdivided into two subgroups ($n=7$) in order to assess the blood-brain barrier permeability (concentration of Evans Blue) and brain edema (brain water content). Moreover, neurological deficit scores were evaluated in the two mentioned subgroups.

Results: Results of the current study showed that *S. hortensis* extract reduced the concentrations of Evans Blue (8.93 ± 0.75 , 7.69 ± 0.74 , 6.68 ± 0.56 , respectively) and brain water content (82.21 ± 0.71 , 81.88 ± 0.69 , 80.50 ± 0.89 , respectively) in three groups received the extract compared to the control group (84.46 ± 0.81), and reduced neurological deficit scores in the two groups received 75 and 100mg/kg doses of the extract (1.43 ± 0.27 and 1 ± 0.21 , respectively) compared to the control group (3.36 ± 0.32).

Conclusion: It seems that *S. hortensis* extract can exert the neuroprotective effect against stroke damage by increasing the strength of blood-brain barrier and preventing brain edema.

Keywords: *Satureja hortensis*, Stroke, Blood-brain barrier permeability, Brain edema, Neurological deficits

* Corresponding Author.

Email: meh_rahnema@yahoo.com

Tel: 0098 912 141 3969

Fax: 0098 243 345 5890

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, February, 2016; Vol. 19, No 6, Pages 511-519

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مرزه بر پیامدهای ناشی از سکته مغزی در موش صحرایی

مهدی رهنما^{۱*} ، میثم فروزنده^۲ ، الهام قاسملو^۲

خلاصه:

سابقه و هدف: آنتی اکسیدان‌ها می‌توانند از بار اکسیداتیو ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند. از آنجایی‌که مرزه دارای ترکیب‌های آنتی اکسیدانی است، در این مطالعه به بررسی اثر عصاره مرزه بر میزان ادم مغزی، نفوذپذیری سدخدونی-مغزی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک پرداختیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۷۰ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۵ گروه (n=۱۴) تقسیم شدند: گروه کنترل (تیمار با آب مقطر+القای ایسکمی)، سه گروه آزمایشی (تیمار با عصاره مرزه با دوزهای ۵، ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ و ۷۵ mg/kg+القای ایسکمی) و گروه شم (عدم تیمار و القای ایسکمی). تیمار به مدت ۳۰ روز به صورت خواراکی و از طریق گاواظ صورت گرفت. هر کدام از گروه‌ها به دو زیرگروه (n=۷) تقسیم شده و به ترتیب نفوذپذیری سدخدونی-مغزی (غلظت اونس بلو) و میزان ادم (درصد آب مغزی) در آنها بررسی شد. همچنین، در هر دو زیرگروه نقص‌های نورولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: داده‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که هر سه دوز مرزه سبب کاهش غلظت اونس بلو (به ترتیب: ۷۵/۶۹±۰/۷۴ ، ۸/۹۳±۰/۷۴ و ۰/۵۶ ۶/۶۸±۰/۱۱) و درصد آب مغزی (۸۲/۲۱±۰/۷۱ ، ۸۰/۵۰±۰/۸۹ و ۸۰/۵۰±۰/۸۹) نسبت به ۸۴/۴۶±۰/۸۱ شده و دو دوز ۱۰۰ mg/kg و ۷۵ سبب کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیک (به ترتیب ۰/۲۷ و ۱/۴۳±۰/۲۱ و ۱±۰/۲۱ نسبت به گروه کنترل ۰/۳۲ و ۳/۳۶±۰/۳۲) می‌گردد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد مرزه بتواند به واسطه افزایش استحکام سد خونی-مغزی و جلوگیری از ایجاد ادم، اثر حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از سکته مغزی اعمال کند.

واژگان کلیدی: مرزه، سکته مغزی، نفوذپذیری سدخدونی-مغزی، ادم مغزی، نقص‌های نورولوژیک

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۴، صفحات ۵۱۹-۵۱۱

مقدمه

اگر تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یابد، مکانیسم‌های دفاعی بدن ناتوان شده و ماکرومولکول‌ها (پروتئین‌ها، لیپیدها، اسید نوکلئیک) در معرض اکسیداسیون قرار گرفته و تخریب می‌شوند [۱]. آسیب به ماکرومولکول‌ها سبب اختلال در عملکرد سلول و حتی مرگ سلولی می‌شوند و بدین ترتیب در عملکرد حرکتی بدن نیز اختلال ایجاد می‌شود که براساس شدت و محل ضایعه متفاوت خواهد بود [۲]. برخی آنتی اکسیدان‌ها می‌توانند از اکسیداسیون ناشی از رادیکال‌های آزاد و بروز بیماری‌هایی مانند سرطان و روند پیری جلوگیری کنند. این مواد می‌توانند از طریق واکنش با رادیکال‌های آزاد، شلاخته کردن فلزات، همچنین با جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن از روند اکسیداسیون جلوگیری کنند [۳]. مطالعات قبلی نشان داده است که تولید رادیکال‌های آزاد متعدد نقش مهمی در وارد شدن آسیب به سدخدونی-مغزی و ایجاد ادم مغزی به دنبال ایسکمی مغزی ایفاء می‌کند [۴]. مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* گیاهی است علفی از خانواده نعناعیان که در نواحی مختلف ایران، مانند آذربایجان، کرمانشاه، نواحی شمال شرقی و گیلان به صورت وحشی می‌روید. در جنس مرزه کرک‌ها تمام سطح ساقه و شاخه را به طور یکنواخت می‌پوشانند. کرک‌ها ساده و به طور گسترده و یا خوابیده هستند و یا ممکن است زگیل مانند

سکته مغزی عمده‌ترین علت مرگ‌ومیر و ناتوانی‌های طولانی مدت در بزرگسالان است [۱] و بعد از سرطان و سکته قلبی یکی از دلایل عمدۀ مرگ‌ومیر در جهان و اولین عامل از کار افتادگی افراد بالای ۶۵ سال است [۲]. به دنبال کاهش اکسیژن رسانی به بافت مغزی، تغییراتی در مکانیسم‌های تولید انرژی رخ می‌دهد که سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد [۳]. گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن به طور طبیعی و مداوم در بدن تولید شده و توسط آنزیم‌های داخلی (سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز)، حذف و کنترل می‌شوند.

^۱ دانشیار، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

^۲ کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

* لشانی نویسنده مسئول؛ گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

تلفن: ۰۲۶۳۳۴۵۵۸۹۰ - ۰۹۱۲ ۱۴۱۳۹۶۹ دوپلیس: ۹۱۴۵۵۸۹۰

پست الکترونیک: meh_rahnema@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۱۳ تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۱۰/۱۹

انسداد سبب ایجاد ایسکمی در نیمکره راست مغز موش‌های صحرائی گردید. در گروه شم فقط استرس جراحی (برش در جلوی گردن و جداسازی عصب واگ از شریان کاروتید) اعمال گردید. سپس، هر کدام از گروه‌ها به دو زیرگروه تقسیم شدند تا نفوذپذیری سدخونی-مغزی و میزان ادم در آنها مورد بررسی قرار گیرد. در هر دو زیر گروه امتیاز نقص‌های نورولوژیک نیز ارزیابی گردید. در گروه شم تیمار و القای ایسکمی صورت نگرفت. در تمام مراحل انجام کار، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات رعایت گردید.

تهیه گیاه و عصاره گیری

گیاه مرزه در مزرعه‌ای در استان زنجان، شهرستان خدابنده (36.1°N , 48.5°E) کشت گردید. سرشاخه‌های جوان گیاه در خردادماه جمع‌آوری شده و از نظر تاکسونومیکی توسط هرباریوم (۲۹۹۱۲۵) دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان به تائید رسید. گیاه جمع‌آوری شده در سایه خشک شده و به پودر تبدیل شد. عصاره گیری به روش خیساندن انجام گرفت [۱۴]. بدین ترتیب که 100 گرم از پودر گیاه در بشر ریخته شد و الكل 70 درصد به آن اضافه گردید، به طوری که تا دو ساعتی‌تر بالای پودر را پوشاند. سپس، به مدت 24 ساعت در دستگاه شیکر قرار گرفت. پس از این مدت توسط کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) محلول صاف شد و جهت حذف حلال در دستگاه روتاری با دمای 50 درجه سانتیگراد قرار داده شد. عصاره پس از غلیظ شدن در آون با دمای 50 درجه سانتیگراد قرار داده شد تا به عصاره خشک [۲۲] درصد تبدیل شود. با استفاده از آب مقطر غلظت‌های 50 و 75 و 100 میلی-گرم بر کیلوگرم تهیه شد.

ایجاد مدل سکته مغزی

موش‌های صحرائی بعد از توزین شدن، با داروی کلرال هیدرات به میزان 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیوهش شدند. جراحی مدل سازی انسداد شریان میانی مغز یا MCAO مطابق دستورالعمل Longa و همکارانش انجام گرفت [۱۵]. به طور خلاصه، تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون $3-0$ از طریق تنه شریان کاروتیدی خارجی (ECA) وارد رگ شریانی راست شده و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی (ACA) از میان شریان کاروتیدی داخلی (ICA) با پتربگوپالاتین بسته ادامه داده شد. در اثر تماس نخ بخیه و ACA جریان خون از هر طرف به شریان مغزی میانی (MCA) بسته می‌شود. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت در پیشروی نخ و ورود حدود 20 میلی‌متر طول نخ از تنه

و غده‌دار باشد [۷]. در مطالعه‌ای که توسط فاضل و همکاران بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی مرزه انجام شد، مشخص گردید که این گیاه دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند: تیمول (۱۶/۲۲ درصد)، کارواکرول (۲۱/۵۹ درصد)، گاما-تیرپین (۲۱/۱۲ درصد)، آلفا-تیرپین (۲۹/۳۳ درصد)، آلفا-تیرپین (۱۰/۳۰ درصد)، گاما-تیرپین (۲۹/۶۳ درصد) و سایر آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد. فعالیت آنتی اکسیدانی تیمول، کارواکرول و گاما-تیرپین به اثبات رسیده است [۸]. مشخص شده است که کارواکرول دارای اثرات ضد میکروبی، ضد دردی، ضد التهابی و آنتی اکسیدانی می‌باشد [۹]. هم‌چنین، محققین نشان داده‌اند که کارواکرول دارای اثرات حذف کنندگی رادیکال‌های آزاد پراکسیل و هم‌چنین اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی خوبی می‌باشد [۱۰]. مرزه به عنوان یک آنتی اکسیدان موثر در کاهش اثرات پراکسیداسیون لیپیدی موثر بوده و استفاده از آن در بیماران مبتلا به پرکاری تیروئید سودمند می‌باشد [۱۱]. در یک بررسی مشخص گردید که انسان مرزه می‌تواند در هیپرگلیسمی اثر حفاظت عصبی اعمال کند. پیشنهاد شده که مکانیسم این اثر احتمالاً به دلیل جلوگیری از آپوپتوز می‌باشد که اثرات جانبی دیابت از جمله نوروفیاتی را کاهش می‌دهد [۱۲]. از این‌رو، در این مطالعه اثر عصاره هیدرووالکلی مرزه بر نفوذپذیری سدخونی-مغزی، ادم مغزی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک به دنبال القای ایسکمی در موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در بهار سال ۱۳۹۴ در مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد زنجان انجام گرفت. موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی 250 تا 300 گرم از موسسه انتستیتو پاستور کرج خریداری شدند و در حیوانخانه مرکز تحقیقات بیولوژی در قفس‌های مناسب و در محدوده دمایی 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی نگهداری شدند و به صورت نامحدود به آب و غذا دسترسی داشتند. حیوانات به صورت تصادفی به 5 گروه تقسیم شدند که عبارت بودند از: گروه کنترل، سه گروه آزمایشی و گروه شم؛ هر گروه شامل 14 سر موش صحرائی بود. گروه کنترل آب مقطر و سه گروه آزمایشی، عصاره مرزه را به ترتیب با دوزهای 50 ، 75 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم [۱۳] به صورت خوراکی و از طریق گاواز به مدت یک ماه دریافت کردند. گاواز حیوانات هر روز ساعت $11-10$ صبح انجام گرفت. 2 ساعت بعد از آخرین گاواز حیوانات دریافت کننده عصاره مرزه و گروه کنترل به مدت 60 دقیقه تحت جراحی میکروسکوپی انسداد شریان مغزی میانی (Middle MCA) میکروسکوپی انسداد شریان مغزی میانی (ACA)

مایع پروفیوژ بی رنگ از دهليز راست خارج شود و اونس بلو داخل رگی پاک گردد. سپس، مغز خارج شده و نيمکرهها از هم جدا شدند و برای اندازه‌گيری ميزان خروج EB، بافت مغز در ۲/۵ ميلی‌لิتر با فر فسفات هموژن شده، برای رسوب پروتئين نيز به آن ۲/۵ ميلی‌لิتر ترى كلرواستيك اسيد ۶۰ درصد اضافه گردید. سپس، ۳ دقيقه با ورتکس همزده و ۳۰ دقيقه در ۴ درجه سانتي-گراد خنک گردید. آنگاه به مدت ۳۰ دقيقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقيقه سانتريفيوژ (g=۱۷۸۸۸) شده و در نهايىت، جذب نوري اونس بلو محلول روبي توسيط اسپكتروفوتومتر (Genova, Jenway) در طول موج ۶۱۰ نانومتر اندازه‌گيری شده و مطابق منحنى استاندارد، غلطت آن محاسبه شد [۱۷].

سنجهش ميزان ادم

شكستن سد خونی-مغزی سبب تجمع مایع در پارانشیم مغز می‌گردد؛ به همين دليل ارزیابی ميزان ادم از طریق اندازه‌گیری محتوى آب مغزی صورت گرفت. بعد از جداسازی سر حیوان، مغز خارج شد. مخچه، پل مغزی، و پیازهای بویابی جدا گردید و وزن خالص نيمکره‌های مغز (WW; Wet Weight; WW) اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک (Dry Weight; DW) بعد از قرار گرفتن ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۲۰ درجه اندازه‌گيری شده و در نهايىت، محتوى آب مغز با فرمول $[(WW-DW)/WW] \times 100$ محاسبه گردید [۱۷].

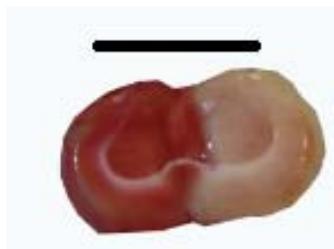
آناليزهای آماری

باتوجه به اينکه داده‌ها کمي بوده و با استفاده از آزمون کولموگروف اسميرنوف فرض نرمال بودن داده‌ها برقرار گردید، از آزمون ANOVA برای مقایسه ميانگين‌ها استفاده شد. تمام آناليز-ها به کمک نرم‌افزار SPSS ويرايش ۱۸ انجام شد. بررسى نفوذ پذيری سد خونی-مغزی و ميزان ادم و ارتباط بين نيمکره‌ها با استفاده از آزمون ANONA يکطرفه توسيط مقاييسه ميانگين‌ها به روش LSD انجام شد و نقص‌های نورولوژيک با استفاده از آزمون مورد تجزيه و تحليل قرار گرفت. $P < 0.05$ از لحاظ آماري معنى دار در نظر گرفته شد و نتایج به صورت $\bar{X} \pm SD$ بيان گردید.

نتایج

پيش‌تغذيه‌اي با عصاره سبب کاهش غلظت اونس بلو (نفوذ پذيری سد خونی-مغزی) و درصد آب مغزی (ميزان ادم) در هر سه دوز ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ ميلی‌گرم بر كيلوگرم نسبت به گروه كنترل گردید. همچنين، امتياز نقص‌های نورولوژيک را در دوز‌های

ECA مشخص می‌شود. بعد از ۶۰ دقيقه ايسكمي، برقراری مجدد جريان خون صورت گرفت. دمای بدن از طریق ركتوم با کمک دماسنج ديجيتالي اندازه‌گيری شده و حدود ۳۷ درجه نگهداري شد [۱۶]. جهت اطمینان از القاي ايسكمي مغزی در حيوانات، روشی از مغز آنها تهييه شده و توسيط محلول ترازاوليوم كلرايد رنگ آميزی گردید (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- برش کرونال از مغز موش صحرائی توسيط دستگاه ماتريكس. برش توسيط محلول ۲ درصد ترازاوليوم كلرايد (TTC) رنگ آميزی شده است. ناحيه سفيد رنگ (نيمکره راست) دچار ايسكمي مغزی شده و ناحيه قرمز رنگ (نيمکره چپ) سالم می‌باشد.

ارزیابی اختلال حرکتی ناشی از سکته مغزی

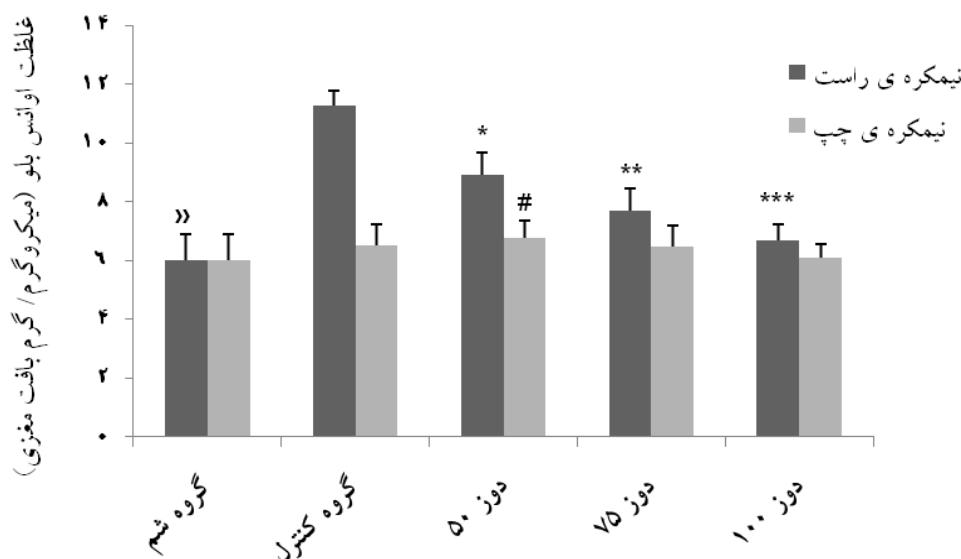
معاينه‌های نورولوژيک ۲۴ ساعت بعد از القاي ايسكمي انجام گرفت. يافته‌های نورولوژيکي در ۵ مقاييس دسته بندی شدند: مقاييس صفر: هیچ گونه عارضه نورولوژيک وجود نداشت؛ مقاييس يك: نارسايی كامل در انتهای پنجه‌های جلوبي، يك نقص نورولوژيک کانوني خفيف در نظر گرفته شد؛ مقاييس دو (به چپ چرخیدن): نقص کانوني شديد در نظر گرفته شد. موش‌های مقاييس چهار نمی‌توانستند به طور خودبه‌خودی راه روند و سطح هوشياری پايان داشتند و به موش‌هایی که طی ۲۴ ساعت بعد از جراحی می‌مردند، در صورتی که بعد از رنگ آميزی بخش وسيعی از مغزشان آسيب دиде و مرگ منحصر به سکته مغزی بود، مقاييس پنج داده شد [۱۶].

سنجهش نفوذپذيری سد خونی-مغزی

استحکام سد خونی-مغزی توسيط اندازه‌گيری ميزان خروج اونس بلو (EB) ارزیابی شد؛ زيرا اختلال در عملکرد سد خونی-مغزی سبب ورود اونس بلو به بافت مغزی می‌گردد. ابتدا، موش‌های صحرائی از طریق ورید دم محلول اونس بلو ۲ درصد را به اندازه ۴ ميلی‌لิتر بر كيلوگرم وزن بدن، بعد از ۳۰ دقيقه ايسكمي دريافت گردند. ۲۴ ساعت بعد از جريان مجدد خون، حيوانات بيهوش شده و ناحيه قفسه سينه آنها باز شد. ۲۵۰ ميلی‌لิتر سالين از طریق بطون چپ به حيوان تزریق گردید تا زمانی که

(۱۱/۲۷±۰/۵۲) و چپ (۶/۵۲±۰/۷۰) گروه کنترل ($P<0/001$) و همچنین بین نیمکرهای راست (۸/۹۳±۰/۷۵) و چپ (۶/۷۶±۰/۶۱) حیوانات دریافت کننده دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره ($P=0/010$) تفاوت معنی داری مشاهده شد، اما بین نیمکره راست (۷/۶۹±۰/۷۴) و چپ (۶/۴۸±۰/۷۰) در دوز ۷۵ (۶/۰۹±۰/۴۸) و نیمکره راست (۰/۵۶) و چپ (۰/۴۸) ($P=0/223$) در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم ($P=0/557$) تفاوت معنی داری مشاهده نشد (نمودار شماره ۱).

۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم، کاهش داد ($P<0/005$). ایسکمی مغزی سبب افزایش غلظت اوانس بلو در نیمکره آسیب دیده (راست) (۱۱/۲۷±۰/۵۲) گروه کنترل نسبت به نیمکره سالم (چپ) (۶/۵۲±۰/۷۰) شد ($P<0/001$). پیش تغذیه با عصاره هیدرولکلی مرزه سبب کاهش غلظت اوانس بلو در نیمکره آسیب دیده (راست) حیوانات دریافت کننده دوزهای ۵۰ (۸/۹۳±۰/۷۵)، ۷۵ (۷/۶۹±۰/۷۴) و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم (۶/۶۸±۰/۵۶) نسبت به نیمکره آسیب دیده (به ترتیب) گروه کنترل گردید ($P=0/020$ و $P=0/001$). بین نیمکرهای راست



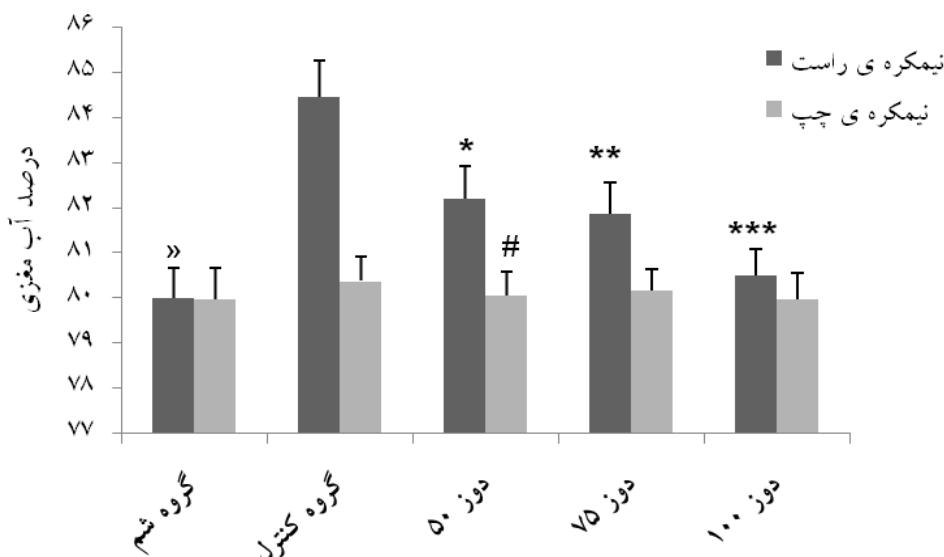
نمودار شماره ۱- مقایسه غلظت اوانس بلو در گروههای دریافت کننده عصاره مرزه و گروه کنترل.

* اختلاف معنی دار در سطح $P=0/020$ نسبت به گروه کنترل و در سطح $P=0/010$ نسبت به #؛ ** اختلاف معنی دار در سطح $P=0/001$ نسبت به گروه کنترل؛

** اختلاف معنی دار در سطح $P<0/001$ نسبت به گروه کنترل؛ «اختلاف معنی دار در سطح $P=0/001$ نسبت به گروه کنترل

(۸۰/۳۸±۰/۵۵) در گروه کنترل و نیمکرهای راست (۸۰/۷۱±۰/۷۱) و چپ (۸۰/۰۵±۰/۵۳) در حیوانات دریافت کننده دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم، تفاوت معنی دار مشاهده شد (به ترتیب $P<0/001$ و $P=0/010$). در حالی که بین نیمکرهای راست (۸۰/۱۸±۰/۴۷) و چپ (۸۰/۱۸±۰/۴۷) در دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم ($P=0/136$) و نیمکرهای راست (۸۰/۰۵±۰/۸۹) و چپ (۸۰/۰۵±۰/۶۰) در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم ($P=0/579$) تفاوت معنی دار مشاهده نشد (نمودار شماره ۲).

سکته مغزی سبب افزایش درصد آب مغزی (آدم مغزی) در نیمکره آسیب دیده گروه کنترل (۸۴/۴۶±۰/۸۱) نسبت به گروه شم (۷۹/۹۹±۰/۶۹) گردید ($P<0/001$). پیش تغذیه با عصاره سبب کاهش میزان آدم نیمکره آسیب دیده در حیوانات دریافت کننده هر سه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم (۸۲/۲۱±۰/۷۱)، ۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم (۸۱/۸۸±۰/۶۹) و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم (۸۰/۸۸±۰/۶۹) نسبت به گروه کنترل (به ترتیب $P=0/009$ و $P=0/021$) گردید. بین نیمکرهای راست (۸۴/۴۶±۰/۸۱) و چپ



نمودار شماره ۲ - مقایسه درصد آب مغزی (میزان ادم) در گروههای دریافت کننده مرزه و گروه کنترل. محتوی آب مغزی که نشان دهنده میزان ادم مغزی می‌باشد، توسط فرمول $100 \times \frac{\text{WW-DW}}{\text{WW}}$ محاسبه شده است.

* اختلاف معنی دار در سطح $P=0.021$ نسبت به گروه کنترل و در سطح $P=0.010$ نسبت به $\#$; ** اختلاف معنی دار در سطح $P=0.009$ نسبت به گروه کنترل؛ *** اختلاف معنی دار در سطح $P<0.001$ نسبت به گروه کنترل؛ «اختلاف معنی دار در سطح $P<0.001$ نسبت به گروه کنترل»

($P<0.001$)، در حالی که دریافت دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P=0.077$)، تاثیر معنی داری ($P=0.033$) بر امتیاز نقص‌های نورولوژیک نداشت (جدول شماره ۱).

پیش‌تغذیه با عصاره هیدروالکلی مرزه در دوزهای $75\pm0/27$ و $100\pm0/21$ سبب کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیک نسبت به گروه کنترل ($3/36\pm0/32$) گردید

جدول شماره ۱ - مقایسه امتیاز نقص‌های نورولوژیک

شماره گروه	گروه آزمایشی	تعداد کل	نقص‌های نورولوژیک					میانگین	میانه
			۵	۴	۳	۲	۱		
۱	کنترل	۱۴	۰	۱	۲	۳	۳	۳/۷۱	۴
۲	دوز ۵۰ mg/kg	۱۴	۰	۰	۳	۵	۱	۲/۸۶	۳
۳	دوز ۷۵ mg/kg	۱۴	۳	۴	۴	۵	۰	۱/۵۷	۲
۴	دوز ۱۰۰ mg/kg	۱۴	۴	۶	۴	۰	۰	۰/۸۶	۱

در ستون سوم تعداد موش‌هایی که هر کدام از مقیاس‌های نورولوژیک را داشته‌اند، آورده شده است.

* و ** اختلاف معنی دار در سطح $P<0.001$ نسبت به گروه کنترل

مغزی در هر سه دوز ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گردید و این اثر در دوزهای بالاتر قابل توجه بود؛ زیرا در دوزهای ۷۵ و ۱۰۰ تفاوت معنی داری بین غلظت اوانس بلو و همچنین درصد آب مغزی نیمکره‌های راست و چپ مشاهده نشد. همچنان، در این دو دوز، امتیاز نقص‌های نورولوژیک به طور معنی داری کاهش یافت، در حالی که در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. تولید رادیکال‌های آزاد بدنبال

بحث

داده‌های حاصل از این بررسی نشان داد که پیش‌تغذیه با عصاره مرزه سبب افزایش استحکام سد خونی-مغزی و کاهش میزان ادم مغزی و نقص‌های نورولوژیک می‌گردد. از آنجایی که نفوذپذیری سد خونی-مغزی با استفاده از غلظت اوانس بلو و میزان ادم توسط درصد آب مغزی سنجیده شد، مشخص گردید که پیش‌تغذیه با عصاره سبب کاهش غلظت اوانس بلو و درصد آب

اکسیدانی، سبب کاهش ادم و امتیاز نقص‌های نورولوژیک می‌گردد [۲۷]. در این مطالعه نیز عصاره مرزه سبب افزایش استحکام سد خونی-مغزی و کاهش ادم مغزی گردید که با نتایج مطالعات مشابه اشاره شده هم‌سو می‌باشد؛ در ضمن این اثر حفاظتی در دوزهای بالا (۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیشتر بود. بررسی‌ها نشان می‌دهد که آنتی اکسیدان‌ها می‌توانند با کاهش مرگ سلولی اختلالات حرکتی ناشی از آسیب مغزی را کاهش دهند. به عنوان مثال ثابت شده است که کروسین (ماده موثره زعفران) آسیب قشری و اختلالات نورولوژیک ناشی از سکته مغزی را کاهش می‌دهد؛ در واقع این اثر را به خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد دردی و ضد التهابی این ماده نسبت داده‌اند [۲۸]. در مطالعه Bozkurt و همکاران، فعالیت ضد آپوپتوزی Daidzin که یک ترکیب پلی-فلولی از گرده ایزوفلاؤن است مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این ماده به‌دلیل خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی از آپوپتوز و مرگ سلولی پیشگیری کرده و سبب کاهش آسیب بافتی می‌گردد [۲۹]. ایمانی و همکاران نشان داده‌اند که عصاره بو-مادران (Achillea millefolium) به‌دلیل داشتن ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی نقص‌های نورولوژیک را کاهش می‌دهد [۳۰]. توکلی و همکاران بیان کرده‌اند که ویتامین C دارای خاصیت نورولوژیک را کاهش می‌دهد؛ در واقع ویتامین C آنتی اکسیدانی بوده و جزء آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی محسوب می‌شود [۳۱]. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره مرزه سبب کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیک می‌گردد. اسطو-خودوس به‌دلیل دارا بودن فلاونوئیدهای فراوان با خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی از مرگ برنامه ریزی شده جلوگیری کرده و اثر حفاظتی بر مغز اعمال می‌کند [۳۲]. بررسی‌های اشاره شده نشان می‌دهد که گیاهان و ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌توانند عوارض ناشی از سکته مغزی را کاهش دهند. در واقع بیان شده است که گیاهان نیز به‌واسطه ترکیبات آنتی اکسیدانی خود که سبب کاهش رادیکال‌های آزاد تولید شده‌اند می‌گردند؛ اثرات حفاظتی اعمال می‌کنند که با نتایج مطالعه حاضر هم‌سو است.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت مرزه از طریق افزایش استحکام سد خونی-مغزی و کاهش میزان ادم مغزی و نقص‌های نورولوژیک اثر حفاظتی در برابر ایسکمی مغزی اعمال کرده و سبب ایجاد پدیده تحمل ایسکمی گردد. احتمالاً این اثر حفاظتی به‌واسطه حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره مرزه

ایسکمی مغزی افزایش می‌باید [۵،۶] و رادیکال‌های آزاد می‌توانند از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند [۴]. بررسی‌های متعدد نشان می‌دهد که مرزه نیز سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی است. به عنوان مثال با چند گیاه دارویی مشخص شد که گیاه مرزه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بهتری نسبت به سایر گیاهان دارویی است و این خاصیت را به حضور کارواکرول و تیمول در عصاره نسبت داده‌اند [۱۸]. هم‌چنین، مرزه علاوه بر مواد آنتی اکسیدان حاوی ترکیبات ضد التهابی نیز می‌باشد. مطالعات ثابت کرده‌اند که عصاره هیدروکلری مرزه اثرات ضد دردی و ضد التهابی خوبی داشته که این اثرات ناشی از ترکیبات مهم موجود در آن از جمله کارواکرول و فلاونوئیدها است [۱۹]. وفایی و همکاران ثابت کرده‌اند که عصاره مرزه به‌دلیل داشتن فلاونوئیدها، سبب کاهش علامت ناشی از قطع مورفين می‌گردد [۱۲]. مشخص شده است که مرزه باعث کاهش پراکسید-اسیون لیپیدی در موش‌های سوری دچار التهاب روده می‌شود [۲۰]. مرزه به‌دلیل داشتن اثرات آنتی اکسیدانی می‌تواند سبب کاهش مشکلات قلبی عروقی شود [۲۱]. در مطالعات قبلی ثابت شده است که مرزه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و باعث مهار اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها با چگالی کم در محیط برون‌تنی می‌شود [۲۲]. ثابت شده است کارواکرول با کاهش بیان اینتر-لوکین‌ها سبب کاهش التهاب و میزان ادم می‌گردد [۲۳]. پیامدهای ناشی از ایسکمی مغزی مغزی به‌طور عمده از آسیب سد خونی-مغزی و افزایش نفوذپذیری آن ناشی می‌شود و محافظت از ساختار عملکرد سد خونی-مغزی در برابر آسیب ایسکمیک می‌تواند در کاهش ادم ایجاد شده و تقلیل آسیب نورومنی نقش داشته باشد [۲۴]. در مطالعات مختلف مشخص شده است که ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهان می‌توانند با افزایش استحکام سد خونی-مغزی سبب کاهش ادم مغزی و اختلالات حرکتی گردد. در این راستا، ربیعی و همکاران اثر عصاره برگ زیتون (*Olea europaea*) بر میزان نفوذ پذیری سد خونی-مغزی را مورد بررسی قرار دادند؛ آنها بیان کرده‌اند که عصاره برگ زیتون به‌دلیل غنی بودن از ترکیبات فنولی با خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی از طریق مهار فاکتور رونویسی NFκB، از فعال شدن متالوپروتئناز ماتریکسی و در نتیجه تخریب سد خونی-مغزی جلوگیری می‌کند [۲۵]. هم‌چنین، عصاره برگ زیتون باعث سرکوب التهاب و کاهش آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو شده و به‌دلیل وجود ترکیبات زیاد پلی‌فنولی با خاصیت آنتی اکسیدانی، باعث کاهش ادم مغزی می‌گردد [۲۶]. ثابت شده است که عصاره اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) به‌دلیل داشتن ترکیبات آنتی-

تشکر و قدردانی
هزینه این مطالعه توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد
زنجان تامین گردیده است.

باشد که سبب کاهش رادیکال‌های آزاد تولید شده حین ایسکمی
مغزی می‌گردد.

References:

- [1] Chinwatanakul S, Boonyapisit K, Pornsiriyom D, Proyoonwiwat N, Senanarong V, Chaisevikul R, et al. Siriraj Acute Stroke Unit: 10 years experience. *J Med Assoc Thai* 2012; 95(2): 235-44.
- [2] Huang L, Chen N, Ge M, Zhu Y, Guan S, Wang JH. Ca²⁺ and acidosis synergistically lead to the dysfunction of cortical GABAergic neurons during ischemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394(3): 709-14.
- [3] Woodruff TM, Thundyil J, Tang SC, Sobey CG, Taylor SM, Arumugam TV. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *J Mol Neurodegener* 2011; 6(1): 11.
- [4] Oke F, Aslim B, Ozturk S, Altundag S. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of Satureja cuneifolia Ten. *J Food Chem* 2009; 112: 874-9.
- [5] Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev* 2010; 4(8): 118-26.
- [6] Gu Y, Dee CM, Shen J. Interaction of free radicals, matrix metalloproteinases and caveolin-1 impacts blood-brain barrier permeability. *Front Biosci (Schol Ed)* 2011; 3: 1216-31.
- [7] Samsam-Shariat H. Collection of medicinal plants. Mani Pub. Esfahan; 2007; p. 19. [in Persian]
- [8] Fazel M, Omodbeygi M, Barzegar M, Naghdibadi H. The effect of temperature on antioxidant activity of essential oils Thymus vulgaris, Satureja hortensis and Carnation by DPPH. *J Med Plants* 2007; 6(2): 54-63. [in Persian]
- [9] Quintans-Junior LJ, Guimaraes AG, Santana MT, Araujo BE, Moreira FV, Bonjardim LR, et al. Citral reduces nociceptive and inflammatory response in rodents. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2011; 21(3): 497-502.
- [10] Omar EA, Kam A, Alqahtani A, Li KM, Razmovski-Naumovski V, Nammi S, et al. Herbal medicines and nutraceuticals for diabetic vascular complications: mechanisms of action and bioactive phytochemicals. *Curr Pharm Des* 2010; 16(34): 3776-807.
- [11] Assaie R, Mostafavi-pour Z, Pajouhi N, Ranjbar-Omrani GH, Sepehrimanesh M, Zal F. Effects of essential oil of *Satureja khuzestanica* on the oxidative stress in experimental hyperthyroid male rat. *Vet Res Forum* 2015; 6(3): 233-8.
- [12] Kaeidi A, Esmaeili-Mahani S, Abbasnejad M, Sheibani V, Rasoulian B, Hajializadeh Z, et al. *Satureja khuzestanica* attenuates apoptosis in hyperglycemic PC12 cells and spinal cord of diabetic rats. *J Nat Med* 2013; 67(1): 61-9.
- [13] Vafaei AA, Milad-Gorji H, Taherian AA, Bagherian M. Effects of Valeriane Officinalis, Satureja Hortensis, and Mentha Piperita extracts on the withdrawal syndrome signs in mice. *Koomesh* 2011; 12(3): 342-7. [in Persian]
- [14] Das K, Tiwari R, Shrivastava D. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *J Med plants Rese* 2010; 4(2): 104-11.
- [15] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989; 20(1): 84-91.
- [16] Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Rasoulian B, Heidarianpour A, Khoshbaten A. Prolonged and intermittent normobaric hyperoxia induce different degrees of ischemic tolerance in rat brain tissue. *Brain Res* 2007; 115: 228-33.
- [17] Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Heidarianpour A, Rasoulian B, Asgari AR, et al. Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF-alpha level. *Exp Neurol* 2008; 212(2): 298-306.
- [18] Kamkar A, Tooryan F, Akhondzadeh Basti A, Misaghi A, Shariatifar N. Chemical composition of summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil and comparison of antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts. *J Veterinary Res* 2013; 68: 183-90. [in Persian]
- [19] Hajhashemi V, Ghannadi A, Pezeshkian SK. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of satureja hortensis L. extracts and essential oil. *J Ethnopharmacol* 2002; 82(2-3): 83-7. [in Persian]
- [20] Ghazanfari G, Minaie B, Yasa N, Nakhai LA, Mohammadrad A, Nikfar S, et al. Biochemical and histopathological evidences for beneficial effects of *Satureja khuzestanica* jamzad essential oil on the mouse model of inhibitory bowel diseases. *Toxicol Mech Methods* 2006; 16(7): 365-372.
- [21] Ahmadvand H, Tavafi M, Khosrowbeygi A. Effects of *Satureja Khuzestanica* essential oil on hemoglobin A1C, serum urea and creatinine in alloxan-induced Type 1 diabetic adult rats. *J Jahraom Univ Med Sci* 2013; 11(1): 57-62. [in Persian]
- [22] Omar EA, Kam A, Alqahtani A, Li KM, Razmovski-Naumovski V, Nammi S, et al. Herbal medicines and nutraceuticals for diabetic vascular complications: mechanisms of action and bioactive

- phytochemicals. *Curr Pharm Des* 2010; 16(34): 3776-807.
- [23] Keloushadi M, Heidarian E, Ghatreh-Samani K, Rafieian-Kopaei M. The effect of carvacrol on the interleukin-6 gene expression and cell signaling proteins in prostatic cancer cell line DU-145. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2015; 17(2): 105-18. [in Persian]
- [24] Zhou F, Xiang Z, Feng WX, Zhen LX. Neuronal free Ca²⁺ and BBB permeability and ultrastructure in head injury with secondary insult. *J Clin Neurosci* 2001; 8(6): 561-3.
- [25] Rabiei Z, Bigdeli MR, Mohagheghi F. 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. *J Physiol Pharmacol* 2012; 16(3): 245-54. [in Persian]
- [26] Rabiei Z, Bigdeli M, Asadi M. The Effect of Dietary Virgin Olive Oil on Brain Lipid Levels and Brain Edema in Rat Stroke Models. *J Zanjan Univ Med Sci* 2013; 21 (86): 56-64. [in Persian]
- [27] Rabiei Z, Heidarian E, Rafieian-Kopaei M. The Neuroprotective Effect of Pretreatment with Lavandula officinalis Ethanolic Extract on Brain Edema in Rat Stroke Model. *J Zanjan Univ Med Sci* 2014; 23(98 and 3): 41-52. [in Persian]
- [28] Sarshoori Sarshoori J, Asadi MH, Mohammadi MT. Neuroprotective effects of crocin on the histopathological alterations following brain ischemia-reperfusion injury in rat. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17: 895-902. [in Persian]
- [29] Bozkurt A, Guven M, Akman T, Ozkan A, Murat SH, Duz U, et al. Neuroprotective effects of daidzein on focal cerebral ischemia injury in rats. *Neural Regen Res* 2015; 10(1): 146-52.
- [30] Imani E, Esmaili A, Alimohammadi R, Ehsani V, Shamsizadeh A, Mobini M, et al. Effects of Achillea.millefolium on the Consequences of Stroke in Ovarectomized Rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2015; 22(6): 1725-36. [in Persian]
- [31] Allahtavakoli M, Rezaee H, Kamrany N, Shamsizade A, Moloudi R, Amin F, et al. Effect of Ascorbic Acid on Infract Volume and Neurological Deficits after the Embolic Model of Stroke in Rat. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2009; 8(1): 49-58. [in Persian]
- [32] Azizzadeh Delshad AR, Farzan AR. The Prophylactic Capacity of Nepeta Menthoidea (Ostokhodus) in Prevention of Spinal Motoneuron Injury. *J Kerman Univ Med Sci* 2013; 20(1): 20-30. [in Persian]