JAMS

Journal of Arak University of Medical Sciences
2019; 21(7)

Journal Homepage: http://jams.arakmu.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH

Neuroprotective Effects of Stachys Lavandulifolia Hydroalcoholic Extract on Size of Cerebral Ischemia, Blood-Brain Barrier Permeability and Edema Volume in Rat Stroke Model

Firoozeh Alavian[1*], Saeedeh Ghiasvand[2]

1. Department of Basic Sciences, Farhangian University, Tehran, Iran.

2. Department of Basic Sciences, Malayer University, Malayer, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history

Received: *12 May 2018*

Accepted: *04 August 2018*

Published online: *04 February 2019*

Keywords

Neuroprotection

Rat

Stachys lavandulifolia

Stroke

**** Corresponding Author:***

Firoozeh Alavian; P.O. Box 1998963341, Department of Basic Sciences, Farhangian University, Hashemi Rafsanjani Junc, Tarbiat-e-Moallem St, Shahid Mohammad Mehdi Farahzadi Blvd, Qods Town, Tehran, Iran.

Fax: *+98 31 3461 6268*

Email: *f.alavian@cfu.ac.ir*

ABSTRACT

Background and Aim: Recent studies point to the protective effects of Stachys lavandulifolia against inflammation and oxidative stress. The purpose of this study was to investigate the neuroprotective effects of Stachys lavandulifolia on brain injury, blood-brain barrier permeability and edema volume in rat stroke model.

Materials and Methods: In this experimental study, 17 male Wistar rats groups (n=6) were used; including control groups, sham and groups receiving doses of 50, 75 and 100 mg/kg/day of extract; for 30 days and orally by gavage. Two hours after the last gavage, the stroke groups were subjected to the Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO) model. 24 hours later, the volume of stroke, the blood-brain barrier permeability (BBB) and the volume of edema were investigated in the experimental groups. Results were analyzed by one-way ANOVA, Bonffron post test through Graph Pad Prism software and designed through Excel.

Ethical Considerations: This study with research ethics code IR.UI.REC.1397.162 has been approved by research ethics committee at Isfahan University.

Findings: Pre-treatment with Hydroalcoholic Extract with doses of 50, 75 and 100 mg/kg/day reduced stroke size. The dose of 75mg/kg/day reduced the permeability of BBB and the edema volume compared with the stroke group.

Conclusion: The most effective dose of Stachys lavandulifolia is 75 mg/kg, which has a strong potential in neuroprotection and stroke prevention. This study could be useful in further investigating of neuroprotective effect of Stachys lavandulifolia.

© Copyright (2019) Arak University of Medical Sciences

Use your device to scan and read this article online:

Alavian F., Ghiasvand S. Neuroprotective Effects of Stachys Lavandulifolia Hydroalcoholic Extract on Size of Cerebral Ischemia, Blood-Brain Barrier Permeability and Edema Volume in Rat Stroke Model. J Arak Uni Med Sci. 2019; 21(7): 92-101.

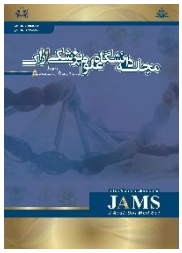
This open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 License (CC BY-NC 4.0).

JAMS

مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

دوره بیست و یک، شماره هفت، بهمن و اسفند ۱۳۹۷

journal homepage: http://jams.arakmu.ac.ir



مقاله پژوهشی

اثرات حفاظت نورونی عصاره هیدروالکلی چای‌کوهی بر روی اندازه ایسکمی مغزی، نفوذپذیری سد خونی–مغزی و حجم ادم در مدل سکته مغزی موش صحرایی

فیروزه علویان[1*]، سعیده قیاسوند[2]

۱. گروه علوم پایه، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران.

۲. گروه علوم پایه، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۱۳

تاریخ انتشار: ۹۷/۱۱/۱۵

واژگان کلیدی

چای‌کوهی

حفاظت نورونی

رت

سکته‌مغزی

*نویسنده مسئول:

فیروزه علویان

آدرس پستی: ایران، تهران، شهرک قدس، بلوار شهید محمد مهدی فرحزادی، تقاطع هاشمی رفسنجانی، خیابان تربیت معلم، دانشگاه فرهنگیان، گروه علوم پایه. کدپستی: ۱۹۹۸۹۶۳۳۴۱

نمابر: +98 31 3461 6268

Email: f.alavian@cfu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات اخیر بیان‌گر اثرات حفاظتی چای‌کوهی (Stachys lavandulifolia) در برابر التهاب و استرس اکسیداتیو است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات حفاظت نورونی چای‌کوهی بر روی آسیب مغزی، نفوذپذیری سد خونی-مغزی و حجم ادم در مدل سکته‌مغزی موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی از ۱۷ گروه ۶تایی رت نر نژاد ویستار استفاده شد که شامل گروه‌های کنترل، شم و گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز عصاره چای‌کوهی به مدت ۳۰ روز و به‌صورت خوراکی از طریق گاواژ بودند. دو ساعت پس از آخرین گاواژ، گروه‌های سکته در معرض مدل MCAO (Middle Cerebral Artery Occlusion) قرار گرفتند. ۲۴ ساعت بعد حجم سکته، نفوذپذیری سد خونی-مغزی (BBB ،Blood-brain barrier) و حجم ادم در گروه‌های آزمایشی بررسی شد. نتایج از طریق آنووای یک‌طرفه، آزمون تعقیبی بن‌فرونی و توسط نرم‌افزار Graph Pad Prism تجزیه‌وتحلیل و از طریق نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد اخلاق IR.UI.REC.1397.162 به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه اصفهان رسیده است.

یافته‌ها: پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی چای‌کوهی با دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز سبب کاهش سایز سکته شد. دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز توانست نفوذپذیری BBB و حجم ادم را در مقایسه با گروه سکته کاهش دهد.

نتیجه‌گیری: مؤثرترین دوز چای‌کوهی ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز است که دارای پتانسیل قوی در حفاظت نورونی و پیشگیری از سکته‌مغزی است. این مطالعه می‌تواند در تحقیقات بعدی در تشخیص اثرات حفاظت نورونی چای‌کوهی مفید باشد.

تمامی حقوق انتشار این اثر، متعلق به دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

۱. مقدمه

سکته‌مغزی سومین علت شایع مرگ‌ومیر در بیشتر کشورهای صنعتی پس از بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان است. اثرات سمیت نورونی استرس اکسیداتیو و ناهنجاری ناشی از آن در مناطق مغزی خاص به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده سکته‌مغزی مطرح شده‌اند (۳-۱). اگرچه درمان‌های پیشگیرانه مانند استفاده از هایپراکسی نورموباریک (۴)، ورزش (۵)، رژیم غذایی متنوع (۶) و مصرف اسید فولیک (۷) برای کاهش عوامل خطر (مثلاً فشارخون بالا، هیپرکلسترولمی و دیابت) موردتوجه قرارگرفته است، تاکنون تنها روش درمانی کارآمد، استفاده از پلاسمینوژن نوترکیب بافتی ترومبولیتیک است که به دلیل محدودیت زمانی استفاده، کاربرد گسترده‌ای ندارد (۸، ۹). گیاهان دارویی مدت‌هاست که به‌طور گسترده برای درمان سکته‌مغزی موردتوجه محققان قرارگرفته‌اند؛ به‌طوری‌که در سال‌های اخیر افزایش تقاضای گیاهان دارویی به‌عنوان روش‌های درمانی طبیعی، مؤثر و ایمن منجر به شناسایی انواع محصولات طبیعی با پتانسیل درمانی بالقوه در برابر اختلالات مختلف ازجمله سکته‌مغزی شده است (۱۰، ۱۱). ازاین‌بین، گونه *Stachys lavandulifolia* که به‌عنوان چای‌کوهی شناخته می‌شود از زمان‌های قدیم مصرف دارویی و خوراکی داشته است. این گیاه از خانواده نعناعیان است. بسیاری از گونه‌های چای‌کوهی و ترکیبات آن‌ها (بیشتر فنول)، خواص بیولوژیکی متنوعی دارند که از آن جمله می‌توان به اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضددردی، مهار همانندسازی HIV و رقیق‌کنندگی خون اشاره کرد (۱۲، ۱۳). اثرات حفاظت نورونی این گیاه دارویی در مطالعات قبلی ثابت شده است؛ به‌عنوان مثال، عصاره آبی برگ چای‌کوهی دارای اثرات نوروپروتکتیو با افزایش نورون‌های آلفای شاخ قدامی نخاع پس از ایجاد ضایعه است. هم‌چنین، اثرات ضددردی و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی چای کوهی به دلیل فعالیت متابولیت‌های ثانویه آن از جمله: فلاونوئیدها، پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، کارتنوئیدها، کورکومین‌ها و کومارین‌ها تایید شده است (۱۴). باتوجه به مستعد بودن شدید مغز نسبت به آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو به دلیل تقاضای بالای اکسیژن مغز و محتوای بالای چربی آن، به‌خصوص اسیدهای چرب اشباع‌نشده و فعالیت پایین سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در زمان سکته‌مغزی و نیاز به سیستم خنثی‌کننده (۸، ۱۵)، هم‌چنین، فراوانی سکته مغزی و عدم درمان قطعی برای آن، مطالعه در زمینه کاهش و پیشگیری از صدمات ایسکمی مغزی ضروری است. در این مطالعه به بررسی اثرات حفاظت نورونی عصاره هیدروالکلی چای‌کوهی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سکته‌مغزی در مدل MCAO پرداخته و بدین منظور شاخص‌های حجم سکته، میزان نفوذپذیری BBB و حجم ادم در تیمار با این گیاه مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط آزمایشگاهی

در این مطالعه تجربی از رت‌های نر بالغ ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی–تاریکی، دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دسترسی کامل به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. تمامی آزمایش‌ها مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی Institutional Animal Ethics Committee (IAEC) انجام پذیرفت. حیوانات به‌طور تصادفی به ۱۷ گروه تقسیم شدند (n =۶) شامل: ۲ گروه کنترل (کنترل BBB و کنترل حجم ادم)، ۳ گروه شم (شم حجم آسیب، شم BBB و شم حجم ادم)، ۳ گروه سکته (برای حجم آسیب، BBB و حجم ادم) و ۳ گروه از هریک از دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز (۹ گروه) که عصاره چای کوهی را به‌صورت پیش‌تیمار دریافت می‌کردند. حیوانات به مدت یک ماه بین ساعت ۹ تا ۱۰ صبح، آب مقطر یا عصاره را به‌صورت گاواژ دریافت کردند.

تهیه عصاره چای‌کوهی

پس از تأیید گونه موردنظر توسط گیاه‌شناس، بخش‌های هوایی گیاه از کوهستان‌های اطراف شهرستان دهاقان استان اصفهان جمع‌آوری و در سایه خشک شدند. سپس، بر روی ۱۰۰ گرم از پودر گیاه، ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد اضافه شد و به‌منظور

خروج بهتر عصاره، هر دو ساعت یک‌بار این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر قرار می‌گرفت تا عصاره بهتر خارج شود. پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول دو بار صاف‌شده و به کمک دستگاه روتاری (IKA, RV05 BASIC)، تغلیظ شده و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس، غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره با حل کردن پودر خشک در نرمال سالین تهیه شد (۱۶).

القای مدل MCAO

ابتدا حیوانات را از طریق تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات (۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) (Merck, Germany) بی‌هوش کرده و سپس با ایجاد برش در خط وسط گردن، انشعاب راست کاروتید و شاخه خارجی آن را مشخص می‌نماییم. عصب واگ و بافت‌های مجاور را بادقت از کاروتید جدا کرده، انتهای کاروتید راست و انشعاب خارجی آن را با نخ بخیه محکم گره‌زده، شاخه داخلی کاروتید راست و سرخرگ پتریگوپالاتین را با گیره ظریف موقتاً می‌بندیم. سپس، منفذ کوچکی در بدنه کاروتید راست ایجاد کرده و نخ نایلونی به ضخامت صفر تا ۳ میلی‌متر و طول ۲۰ تا ۲۲ میلی‌متر را از آن عبور داده تا جایی که ابتدای سرخرگ سری جلویی توسط نوک نخ نایلونی حس شود. طی جراحی، درجه حرارت ناحیه رکتال اندازه‌گیری گردید (Citizen-513w). جریان خون مغزی نیز به‌طور مداوم توسط لیزر داپلر (LDF; Moor Instrument, UK) ثبت شد. پس از گذشت یک ساعت، با خارج کردن نخ نایلونی، مجدداً جریان خون برقرار می‌شد (۱۷). درنهایت، ناحیه بازشده گردن، بخیه شده و حیوانات درون قفس‌های مجزا مستقر می‌شدند. گروه‌های شم در شرایط گروه‌های سکته و عدم عبور نخ نایلونی تیمار شدند.

اندازه‌گیری نفوذپذیری BBB

نفوذپذیری BBB از طریق میزان خروج اوانس‌بلو (Merck، آلمان) برآورد شد. پس از ۳۰ دقیقه از القای مدل سکته، اوانس‌بلو ۲ درصد با غلظت ۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق ورید دمی تزریق می‌شد. نیم ساعت بعد، نخ نایلونی خارج می‌شد و پس از ۲۴ ساعت، قفسه سینه حیوانات بی‌هوش بازشده و از طریق بطن چپ، اوانس‌بلو با پرفیوز ۲۵۰ میلی‌لیتر سالین از بدن خارج می‌شد. این کار تا زمانی ادامه داشت که مایع بی‌رنگ از دهلیز راست خارج شود. در مرحله بعد، مغز حیوان خارج می‌شد و بافت مغز در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات هموژنیزه شده و به آن ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک ۶۰ درصد اضافه می‌شد تا پروتئین‌های آن رسوب کند. به دنبال آن، ۵ دقیقه ورتکس می‌شد و بعد به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سرد می‌گردید. آن‌گاه، ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ می‌شد و محلول رویی جداشده، جذب نوری اوانس‌بلو توسط اسپکتروفتومتر (Genova, Jenway) در ۶۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت آن طبق منحنی استاندارد تعیین می‌شد (۱۸).

اندازه‌گیری حجم ادم

بعد از جداسازی سر حیوان، مغز خارج می‌شد. مخچه، پل مغزی و پیازهای بویایی جدا می‌شدند و وزن خالص نیمکره‌های مغزی WW (وزن مرطوب) اندازه‌گیری می‌گردید. سپس وزن خشک DW (وزن خشک) بعد از قرار گرفتن ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۲۰ درجه اندازه‌گیری می‌شد. درنهایت، محتوی آب مغز بر اساس فرمول ([(WW-DW)/WW]×100) اندازه‌گیری می‌شد (۱۷).

اندازه‌گیری جریان‌خون و تعداد حرکات تنفسی

جریان‌خون حیوانات پس از بی‌هوشی با استفاده از دستگاه پاورلب (AD instrument Co, Australia) تعیین شد؛ ابتدا، با استفاده از دستگاه استریوتاکس و یک مته ظریف دندانپزشکی، منفذی به قطر ۲ میلی‌متر بر در سمت راست جمجمه، در یک میلی‌متری پشتی و پنج میلی‌متری کناری بریگما ایجاد می‌شد. سپس، یک پروب لیزری سوزنی روی سخت‌شامه قرار می‌گرفت. ثبت جریان، ۴۵ دقیقه قبل از انجام MCAO شروع می‌شد و تا وقتی‌که سیگنال لیزر داپلر به میزان زیادی افت می‌کرد (برای القای ایسکمی موفقیت‌آمیز، حدود ۸۰ درصد کاهش جریان خون مغزی ضروری است)، ادامه می‌یافت.

میزان حرکات تنفسی حیوانات نیز از طریق شمارش تعداد حرکات شکم آن‌ها اندازه‌گیری می‌شد (۱۵).

تحلیل آماری

تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه (آنووا) و پس‌آزمون بن‌فرونی به کمک نرم‌افزار Graph Pad Prism صورت گرفت. رسم نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل انجام شد. داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار گزارش گردید. $p< ۰/۰۵$ به‌عنوان حداقل سطح معنی‌داری درنظر گرفته شد.

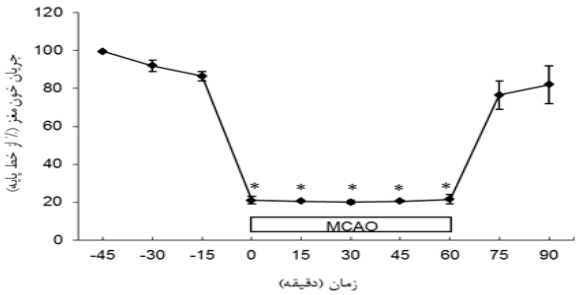
۳. ملاحظات اخلاقی

تمامی آزمایش‌ها مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی Institutional Animal Ethics Committee (IAEC) و با کد اخلاقی IR.UI.REC.1397.162 مصوب دانشگاه اصفهان انجام پذیرفت.

۴. یافته‌ها

بررسی تغییرات جریان خون شریان مغز میانی

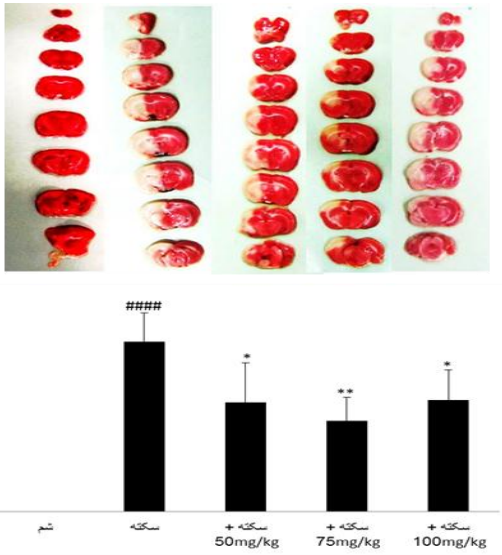
برای اطمینان از ایجاد مدل MCAO، کاهش جریان خون مغز تا حدود ۸۰ درصد از خط پایه ضروری است. از شروع جراحی تا انسداد رگ، مدتی طول می‌کشد؛ نقطه صفر، زمان شروع سکته است. پس از برقراری جریان خون مجدد نیز مدتی زمان می‌برد تا جریان خون مجدداً افزایش یابد؛ البته به دلیل انسداد برخی مسیرها، جریان خون به ۱۰۰ درصد اولیه نمی‌رسد (۱۵)(نمودار ۱).



نمودار ۱. تغییرات جریان خون مغزی قبل، ضمن و پس از سکته‌مغزی. MCAO (Middle Cerebral Artery Occlusion)؛ rCBF (regional cerebral blood flow)، $p < ۰/۰۵$ *. جریان خون نسبت به خط پایه سنجیده شده است. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار به کمک آزمون واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون بن‌فرونی نمایش داده شده‌اند.

اثرات عصاره چای‌کوهی بر روی سایز سکته

نمودار ۲، تأثیر دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز عصاره چای‌کوهی بر روی سایز سکته را نشان می‌دهد. گروه سکته در مقایسه با گروه شم، افزایش معنی‌داری در اندازه ناحیه آسیب‌دیده داشت ($p <۰/۰۰۰۱$). هم‌چنین، دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز عصاره چای‌کوهی با سطح معنی‌داری $p <۰/۰۱$ و دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز با سطح معنی‌داری $p <۰/۰۵$ در مقایسه با گروه سکته، سبب کاهش سایر سکته شدند.

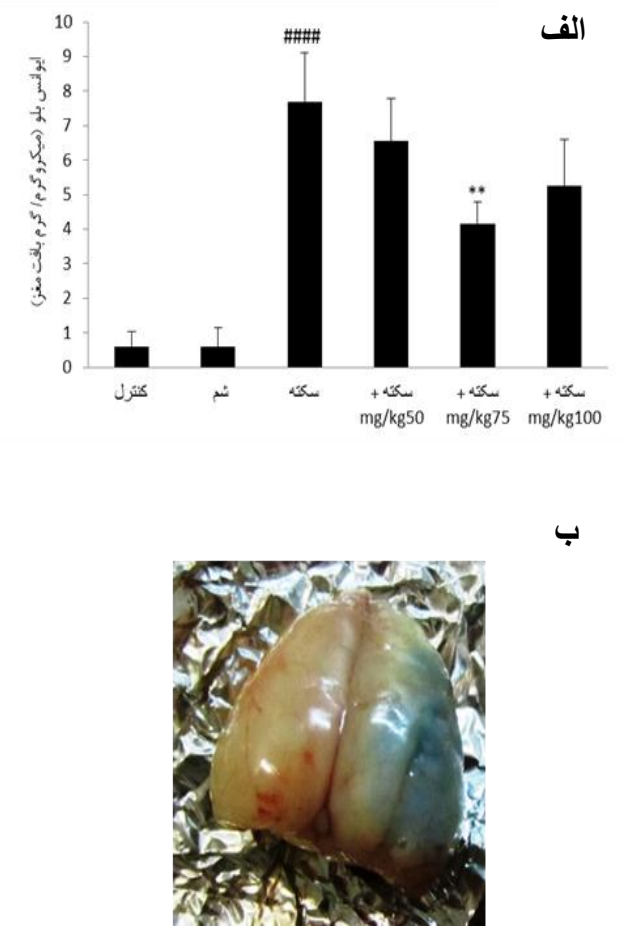


نمودار ۲. اثرات حفاظتی چای‌کوهی بر روی اندازه سکته. تمامی برش‌های مغزی، ۲۴ ساعت پس از ۶۰ دقیقه اعمال سکته با TTC رنگ‌آمیزی شدند. بخش‌های سفید برش‌ها، معرف نقاط با قطع جریان خون و سکته هستند (سکته تنها در نیمکره راست القاء شد). $p < ۰/۰۵$ * و $p < ۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه سکته و $p < ۰/۰۰۰۱$ #### در مقایسه با گروه شم می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار به کمک آزمون واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون بن‌فرونی نمایش داده شده‌اند.

اثرات عصاره چای‌کوهی بر روی نفوذپذیری BBB

همان‌طور که نمودار ۳ الف نشان می‌دهد، گروه سکته در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم، افزایش معنی‌داری در خروج اوانس‌بلو داشت ($p <۰/۰۰۰۱$). عصاره چای‌کوهی تنها در دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز قادر به کاهش نفوذپذیری BBB در مقایسه با گروه سکته شد ($p <۰/۰۱$). نمودار ۳ ب، ورود اوانس‌بلو به نیمکره‌ی با سکته‌مغزی (راست)

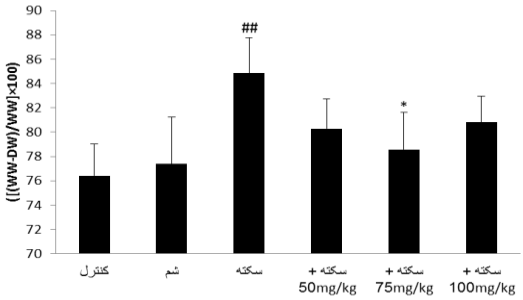
را نشان می‌دهد که حضور رنگ آبی در این نیمکره، بیان‌گر شکسته شدن BBB است.



نمودار ۳. الف) اثرات حفاظتی چای‌کوهی بر روی نفوذپذیری BBB. گروه سکته در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل افزایش معنی‌داری در نفوذپذیری BBB داشت ($p < ۰/۰۰۰۱$ ####). دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز از چای‌کوهی به‌طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۱$ **) نفوذپذیری این سد را در مقایسه با گروه سکته کاهش داد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار به کمک آزمون واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون بن‌فرونی نمایش داده شده‌اند. ب) شکسته شدن BBB در نیمکره راست منجر به ورود اوانس‌بلو به نیمکره راست شده است.

اثرات عصاره چای‌کوهی بر روی حجم ادم

سکته‌مغزی به‌طور معنی‌داری محتوای آب مغزی در نیمکره آسیب‌دیده را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد ($p < ۰/۰۱$). دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز از عصاره چای‌کوهی سبب کاهش معنی‌دار محتوای آب مغزی در مقایسه با گروه سکته شد ($p < ۰/۰۵$) (نمودار ۴).



نمودار ۴. اثرات حفاظتی چای‌کوهی در برابر ادم مغزی. محتوای آب مغزی گروه سکته در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۱$ ##). چای‌کوهی در دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به‌طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$ *) قادر به کاهش حجم ادم در مقایسه با گروه سکته شد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار به کمک آزمون واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون بن‌فرونی نمایش داده شده‌اند. WWحرف اختصار Wet Weight (وزن مرطوب) و WD اختصار Weight Dry (وزن خشک) است.

۵. بحث

براساس نتایج مشاهده‌شده در این مطالعه، سایز سکته، میزان نفوذپذیری BBB و حجم ادم در گروه‌های سکته نسبت به گروه‌های کنترل یا شم افزایش معنی‌داری داشت. این یافته‌ها با نتایج کارهای قبلی مطابقت دارد (۱۷، ۱۹).

اثر عصاره چای‌کوهی بر روی سکته مغزی برای اولین‌بار است که گزارش می‌شود. با انجام این پژوهش مشخص شد که ۳۰ روز مصرف خوراکی چای‌کوهی بر روی فاکتورهای موردمطالعه ما اثرگذار است؛ به طوری‌که کاهش هر ۳ فاکتور یعنی حجم سکته، BBB و حجم ادم به نسبت‌های متغیر در گروه‌های مختلف تیمار شده با گیاه مشاهده شد و دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز در هر ۳ آزمایش بهترین پاسخ‌ها را داشت.

بافت مغزی به دلیل متابولیسم بالا و ذخایر اکسیژن کم، حساسیت بسیار زیادی به آسیب ایسکمی دارد. معمولاً آسیب بافتی توسط واسطه‌های التهاب نورونی اتفاق می‌افتد. طی ایسکمی میکروگلیاهای فعال‌شده می‌توانند سیتوکین‌های التهابی مثل TNFα، IL-1β و مولکول‌های سیتوتوکسیک دیگری مثل NO و ROS (reactive oxygen species) را تولید کنند (۲۰). آستروسیت‌ها نیز مانند میکروگلیاها قادر به تولید فاکتورهای التهابی مثل سیتوکین‌ها، کموکین‌ها و NO هستند (۲۱). سیتوکین‌ها بیان مولکول‌های اتصالی سلول‌ها را

افزایش داده، به‌طوری‌که ۴ تا ۶ ساعت پس از شروع ایسکمی، لوکوسیت‌ها به دیواره رگ‌ها چسبیده و به بافت مغزی مهاجرت کرده و شروع به ترشح واسطه‌های پیش برنده التهاب و آسیب ثانویه مغزی می‌کنند (۲۲). تغییرات التهابی نورون‌ها درنهایت می‌تواند سبب تخریب BBB و تشکیل ادم و درنتیجه مرگ سلولی شوند (۲۳، ۲۴). مطالعات نشان داده که شکسته شدن BBB و ادم مغزی می‌تواند درنتیجه فعالیت متالوپروتئینازهای ماتریکس باشد. پیش ماده اختصاصی متالوپروتئینازها، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی مانند کلاژن، فیبرونکتین و لامینین هستند. گلیاها، سلول‌های آندوتلیال و نورون‌ها قادرند اشکال غیرفعال این آنزیم‌ها را بیان کنند که این اشکال غیرفعال توسط فرآیندهایی چون التهاب به فرم فعال تبدیل می‌شوند (۲۵)؛ بنابراین، مسیرهای التهاب نورونی می‌توانند اهدافی برای پیشبرد داروها در درمان ایسکمی باشند.

مطالعات متعدد ثابت کرده‌اند که چای‌کوهی خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی دارد؛ به‌طوری‌که مصرف ۶ هفته‌ای این چای در موش، سبب افزایش آزادشدن عوامل آنتی‌اکسیدان مانند گلوتاتیون (GSH) و کاهش تولید عوامل اکسیدانت مانند مالون‌دی‌آلدئید دی آلدئید (MDA) در نواحی مختلف مغز، خصوصاً مغزمیانی، کرتکس و مخچه می‌شود (۳، ۲۶). در تحقیق حاضر، مناسب‌ترین دوز عصاره چای‌کوهی برای کاهش اثرات احتمالی ناشی از استرس اکسیداتیو سکته، ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز بود که موافق با کارهای انجام‌شده قبلی است (۱۶). احتمالاً در این دوز، مکانیسم‌های ضدالتهابی آنتی‌اکسیدانی و حفاظت نورونی در حداکثر مقدار فعالیت خود بوده‌اند؛ زیرا علی‌رغم انتظار، در دوز بالاتر ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، این اثر حفاظتی کاهش می‌یافت که ظاهرا مکانیسم‌های درگیر در این دوز به حالت اشباع رسیده‌اند. هم‌چنین، شواهد محلی حاکی از افت شدید فشار و سرگیجه شدید در افرادی است که در این منطقه از جوشانده دوزهای بالای این گیاه استفاده می‌کنند که خود شاهدی است در تفاوت اثرات دوزهای مختلف چای‌کوهی و نیاز به مطالعه بیشتر بر روی دوزهای بالاتر و مکانیسم‌های احتمالی.

اثرات نوروپروتکتیو چای‌کوهی احتمالاً مربوط به ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند کوئینیک اسیدها، دی تریپنوئیدها، ایریدوئیدها و فلاونوئیدها است. به‌عنوان‌مثال، وجود ترکیبات فلاونوئید عصاره هیدروالکلی گیاه در فرآیندهای ضدالتهابی و بازسازی نورونی از طریق افزایش تکثیر سلولی و کاهش فعالیت اکسیژن آزاد مؤثر است (۲۷). هم‌چنین، اثرات حفاظتی تریپنوئیدهای چای‌کوهی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش تولید ROS، افزایش گلوتاتیون و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و فعال شدن مسیر سیگنالینگ متعدد ازجمله Nrf2 در آستروسیت‌ها را می‌توان به‌عنوان مکانیسم‌های احتمالی اثرات عصاره گیاه در بهبود آسیب مغزی ناشی از سکته درنظر گرفت که مطالعات مولکولی و اسپکتروفوتومتری نیز این اثرات را تأیید نموده‌اند (۲۶، ۲۸)

باوجود این‌که عصاره چای‌کوهی در درمان‌های سنتی به‌طور وسیعی استفاده می‌شوند، نظرات ضدونقیضی در مورد اثرات سمی آن مطرح است؛ به‌طوری‌که اثرات تراتوژنیک دوزهای بالای این عصاره در تحقیقات مختلف ثابت شده است و مصرف طولانی آن می‌تواند اثرات سمی روی کبد، کلیه و طحال داشته باشد (۲۹). این امر یکی از عوامل محدودکننده دوزهای بالای چای‌کوهی است که اثبات آن در مغز نیاز به تحقیق بیشتر دارد. هم‌چنین، مطالعه در مورد مکانیسم‌های احتمالی درگیر در کاهش اثرات نوروپروتکتیو چای کوهی دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز و بررسی تغییرات فشار خون در ۳ دوز کار شده و دوزهای بالاتر توصیه می‌شود.

۶. نتیجه‌گیری

توافق علمی در مورد استفاده از غذاهای غنی از آنتی‌اکسیدان ممکن است به کاهش بروز بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو یا حتی خواص ضدپیری کمک کند. براساس نتایج این پژوهش و تایید تقریبی داده‌های ارائه شده احتمال دارد عصاره چای کوهی کاندیدی مناسب برای اهداف درمانی سکته‌مغزی باشد.

۷. تقدیر و تشکر

این مطالعه هیچ‌گونه حامی مالی نداشته است. نویسندگان از همکاری صمیمانه دکتر مشتاقیان و مشاوره علمی دکتر اعظم عسگری کمال تشکر را دارند.

۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

۹. تضاد منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Faraji F, Ranjbar A, Eshrati B, Talaie A, Shafie N, Pirasteh S. Comparing the oxidative stress indexes of CVA patients with control group. Arak Medical University Journal. 2008; 11(3):109-16.
2. Darabi S, Mohammadi MT, Noroozzadeh A. Neuroprotective Effects of Fullerenol against Reperfusion Injuries after Focal Transient Cerebral Ischemia in Rat. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. [Research (Original)]. 2017; 26(144):250-64.
3. Vasilopoulou CG, Kontogianni VG, Linardaki ZI, Iatrou G, Lamari FN, Nerantzaki AA, et al. Phytochemical composition of mountain tea • from Sideritis clandestina subsp. clandestina and evaluation of its behavioral and oxidant/antioxidant effects on adult mice. European journal of nutrition. 2013; 52(1):107-16.
4. Alavian F, Hajizadeh S, Javan M, Bigdeli MR. Evaluation of HIF1α EXPRESSION in Ischemic Tolerance Induced by Intermittent Normobaric Hyperoxia in the Rat Model of Stroke. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2012; 287-95.
5. Chen B-L, Guo J-B, Liu M-S, Li X, Zou J, Chen X, et al. Effect of traditional Chinese exercise on gait and balance for stroke: a systematic review and meta-analysis. PloS one. 2015; 10(8): e0135932.
6. Lakkur S, Judd SE. Diet and stroke: recent evidence supporting a Mediterranean-style diet and food in the primary prevention of stroke. stroke.2014; 46(7):2007-11.
7. Huo Y, Li J, Qin X, Huang Y, Wang X, Gottesman RF, et al. Efficacy of folic acid therapy in primary prevention of stroke among adults with hypertension in China: the CSPPT randomized clinical trial. The Journal of the American Medical Association.2015; 313(13):1325-35.
8. Förstermann U, Xia N, Li H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. Circulation research. 2017; 120 (4):713-35.
9. Xian Y, Federspiel JJ, Grau-Sepulveda M, Hernandez AF, Schwamm LH, Bhatt DL, et al. Risks and benefits associated with prestroke antiplatelet therapy among patients with acute ischemic stroke treated with intravenous tissue plasminogen activator. The Journal of the American Medical Association neurology. 2016; 73(1):50-9.
10. Rabiei Z, Gholami M, Rafieian kopaei M. Effect of Lavender on Blood Brain Barrier Permeability in Rats Subjected to Ischemia. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. [Research(Original)]. 2015; 25(129):46-56.
11. Simonyi A, Wang Q, Miller RL, Yusof M, Shelat PB, Sun AY, et al. Polyphenols in cerebral ischemia. Molecular neurobiology. 2005; 31(1-3):135-47.
12. Kitic D, Brankovic S, Radenkovic M, Savikin K, Zdunic G, Kocic B, et al. Hypotensive, vasorelaxant and cardiodepressant activities of the ethanol extract of Sideritis raeseri spp. raeseri Boiss & Heldr. Journal of Physiology and Pharmacology. 2012; 63:531-5.
13. Tadić VM, Jeremic I, Dobric S, Isakovic A, Markovic I, Trajkovic V, et al. Anti-inflammatory, gastroprotective, and cytotoxic effects of Sideritis scardica extracts. Planta medica. 2012; 78(05):415-27.
14. Hajhashemi V, Ghannadi A, Sedighifar S. Analgesic and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic, polyphenolic and boiled extracts of Stachys lavandulifolia. Research in Pharmaceutical Sciences. 2007; 1(2):92-8.
15. Alavian F, Hajizadeh S, Javan M, Mazloom R. Evaluation of ERK activity on Ischemic Tolerance-induced by Preconditioning with Intermittent Normobaric Hyperoxia in the Rat Model of Stroke. Arak Medical University Journal (AMUJ). 2017; 20(123):41-53.
16. Neshat SB, Tehranipour M, Balanejad SZ. The effect of aqueous phase and hydroalcoholic extract of stachys lavandulifolia on VEGF gene expression changes and angiogenesis of chick embryo chorioallantoic membrane. Journal of Kermanshah University of Medical Sciences. 2017; 20(4):117-23.
17. Alavian F, Hajizadeh S, Bigdeli MR, Javan M. The role of protein kinase C in ischemic tolerance induced by hyperoxia in rats with stroke. EXCLI journal. 2012; 11:188.
18. Alavian F, Hajizadeh S, Javan M, Bigdeli MR. Effects of preconditioning with intermittent normobaric hyperoxia on TNFR1 and TNFR2 expression in the rat brain. Physiology and Pharmacology. 2017; 21(2):110-9.
19. Alavian F, Hajizadeh S, Bigdeli MR, Javan M. Effect of intermittent normobaric hyperoxia and protein kinase C activity on blood-brain barrier permeability. Journal of Shahrekord

University of Medical Sciences. 2012; 14(3):40-50.
20. Xiong X-Y, Liu L, Yang Q-W. Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke. Progress in neurobiology. 2016; 142:23-44.
21. Barata-Antunes S, Cristóvão AC, Pires J, Rocha SM, Bernardino L. Dual role of histamine on microglia-induced neurodegeneration. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2017; 1863(3):764-9.
22. Swanson R, Ying W, Kauppinen T. Astrocyte influences on ischemic neuronal death. Current Molecular Medicine. 2004;4:193-205.
23. Gelderblom M, Sobey CG, Kleinschnitz C, Magnus T. Danger signals in stroke. Ageing research reviews. 2015; 24:77-82.
24. Sanalmath SK, Gopal P, Parker JR, Downs RK, Parker JC, Dawn B. Global cerebral ischemia due to circulatory arrest: insights into cellular pathophysiology and diagnostic modalities. Molecular and cellular biochemistry. 2017; 426(1-2):111-27.
25. Del Zoppo G, al e. Microglial activation and matrix protease generation during focal cerebral ischemia. Stroke. 2007; 38:646-51.
26. González-Burgos E, Carretero ME, Gómez-Serranillos MP. Nrf2-dependent neuroprotective activity of diterpenoids isolated from Sideritis spp. Journal of ethnopharmacology. 2013; 147(3):645-52.
27. Yin F, Liu J, Zheng X, Guo L, Xiao H. Geniposide induces the expression of heme oxygenase-1 via PI3K/Nrf2-signaling to enhance the antioxidant capacity in primary hippocampal neurons. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2010; 33(11):1841-6.
28. GonzaÌ lez-Burgos E, Carretero ME, GoÌ mez-Serranillos MP. Diterpenoids isolated from Sideritis species protect astrocytes against oxidative stress via Nrf2. Journal of natural products. 2012; 75(10):1750-8.
29. Arbabi Bidgoli S, Jamali Zavarhei M. Assessment of target organ toxicity induced by Stachys Lavandulifolia Vahl: a pathological study in female mice. Medical Sciences Journal. [Experimental]. 2014; 24(2):81-7.