اثر عصاره ریشه گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth.) بر روی میزان لیپید پراکسیداسیون در جریان ایسکمی فراگیر مغزی در رت

حمیدرضا صادق‌نیا[۱], مرجان نصیری‌اصل[۱], محمدحسین حداد خدادپرست[۲], حسین حسین‌زاده[۳*]

۱-دستیار بخش فارماکولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۲-دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳-استاد بخش فارماکودینامی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

*آدرس مکاتبه: مشهد، دانشکده داروسازی, صندوق پستی: ۱۳۶۵-۹۱۷۷۵، نمابر: ۸۶۲۳۲۵۱ (۰۵۱۱)

پست الکترونیکی: hosseinzadehh@yahoo.com

چکیده

ایسکمی فراگیر مغزی (Global cerebral ischemia) در رت منجر به آسیب اختصاصی نورون‌ها در هیپوکامپ و استریاتوم می‌گردد. تولید رادیکال‌های‌آزاد اکسیژن و متعاقب آن پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع موجود در غشاهای سلولی از وقایع کلیدی در جریان فرآیند ایسکمیک / رپرفیوژن و آسیب اکسیداتیو می‌باشند. مطالعات آسیب‌شناسی انجام گرفته نشان می‌دهد که عصاره گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth.) دارای اثرات محافظتی در برابر ایسکمی است. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک بر روی میزان لیپید پراکسیداسیون در جریان ایسکمی فراگیر مغزی/رپرفیوژن در هیپوکامپ رت می‌باشد. ایسکمی مغزی به روش انسداد چهار رگ، به مدت ۲۰ دقیقه ایجاد گردید.به منظور سنجش میزان لیپید پراکسیداسیون، سطح مالون دی‌آلدیید (MDA) در هیپوکامپ رت با استفاده از آزمون تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد.

عصاره آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک (با دوزهای ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی)، فنی‌توین (به عنوان کنترل مثبت و با دوز ۵۰ ml/kg به صورت داخل صفاقی) و نرمال سالین (به عنوان کنترل منفی و یا دوز ۱۰ ml/kg به صورت داخل صفاقی) ۱۵ دقیقه پس از القای ایسکمی به حیوانات تجویز شدند. به گروه sham هیچ دارویی تجویز نگردید. میزان MDA در گروه نرمال‌سالین بالاتر از گروه sham بود. فنی‌توین و عصاره ریشه گیاه نوروزک، سطوح MDA بافتی را به صورت معنی‌داری کاهش دادند. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره‌های آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک دارای اثرات محافظتی قوی بر علیه استرس اکسیداتیو در جریان فرآیند ایسکمیک / رپرفیوژن در هیپوکامپ می‌باشند.

گل‌واژگان: لیپید پراکسیداسیون، مالون دی‌آلدیید، رادیکال‌های آزاد اکسیژن، گیاه نوروزک، ایسکمی فراگیر مغزی / رپرفیوژن

مقدمه

سکته مغزی (stroke) که مهمترین دلیل ایسکمی مغزی است، بعد از انفارکتوس میوکارد و سرطان سومین عامل مرگ و میر در کشورهای غربی می‌باشد. از دیگر دلایل ایسکمی مغزی می‌توان به ایست قلبی، حوادث ترومبو آمبولیک و هیپوتانسیون شدید در جریان اعمال جراحی قلبی- ریوی اشاره کرد.

ایسکمی مغزی منجر به اختلالات عصبی نظیر اختلالات حرکتی، حسی و بینایی، اختلال تکلم (aphasia) و نقایص نوروسایکیاتریک (neurosychological) همچون کاهش ادراک (reduced intellectual capacity)، آپراکسی (apraxia یا ناتوانی در انجام تکالیفی که فرد قبلاً قرا گرفته است)، اختلال شناخت (agnosia)، فراموشی آنتروگراد (anterograde amnesia) و اختلال یادگیری فضایی (spatial learning) و حافظه می‌گردد [۳،۲،۱].

اختلالات متابولیک ایجاد شده در جریان ایسکمی مغزی/ رپرفیوژن در نهایت منجر به مرگ نورون‌ها (شامل نکروز و آپپتوز) می‌گردد [٤]. نواحی مشخصی از مغز و انواع خاصی از نورون‌ها نسبت به ایسکمی مغزی حساستر هستند [٦،٥]. از جمله نورون‌های پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ. در رت ایسکمی به مدت ده دقیقه موجب القای آسیب نورون‌های هیپوکامپ می‌گردد که در عرض ٤٨ تا ٧٢ ساعت بعد از ایسکمی به حداکثر می‌رسد و مرگ تاخیری نورونی (delayed neuronal death) نامیده می‌شود [٧]. همچنین ایسکمی مغزی به مدت ٢٠ یا ٣٠ دقیقه موجب آسیب نورون‌های ناحیه dorsolateral استریاتوم و لایه‌های ٣، ٥ و ٦ کورتکس می‌گردد [٧]. در این نواحی آسیب اختصاصی، سلول‌های لگیال (میکرولگیا و آستروسیت‌ها) نیز فعال می‌گردند که منجر به تشدید آسیب نورون‌ها می‌گردد [٨].

مهم‌ترین وقایع آسیب‌شناسی در جریان ایسکمی مغزی عبارتند از: تخلیه ذخایر انرژی، exitotoxicity، التهاب و آپپتوزیس [١٠،٩]. کاهش جریان خون مغز (CBF) منجر به تخلیه ذخایر انرژی سلولی (ATP و سایر ترکیبات حاوی اتصالات فسفات پر انرژی)، اختلال در فعالیت‌های پمپ‌های یونی (سدیم - پتاسیم ATP آز و کلسیم ATP آز)، دپلاریزاسیون هیپوکسیک، اسیدوز داخل سلولی (به علت متابولیسم بی‌هوازی) افزایش سدیم و کلسیم داخل سلولی و ریلیز اسیدهای آمینه تحریکی (گلوتامات و آسپارتات) می‌گردد که به نوبه خود موجب exitotoxicity می‌گردند که با افزایش کلسیم داخل سلولی (Calcium overload)، فعال‌شدن آنزیم‌های کاتالیتیک مختلف (پروتئین کینازها، پروتئازها، فسفولیپازها، اندونوکلئازها و غیره)، تحریک تولید نیتریک اکساید (NO) و سایر رادیکال‌های آزاد و تغییر در بیان ژن مشخص می‌گردد [١٠،٩].

فعال شدن فسفولیپازهای وابسته به کلسیم (فسفولیپاز A2 و فسفولیپاز C) موجب تجزیه لیپیدهای غشاء (lipid catabolism) و افزایش غلظت اسیدهای چرب آزاد داخل سلولی (free FAA) به‌خصوص آراشیدونیک اسید می‌گردد (AA). متابولیسم آراشیدونیک اسید (در مسیرهای سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز) موجب تولید ایکوزانوییدها (که مدیاتورهای التهابی قوی هستند)، رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌گردد [٩، ١٠،١١].

این رادیکال‌های آزاد علاوه بر آسیب اکسیداتیو پروتیین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، به چربی‌های غشاء نیز حمله کرده و باعث پراکسیداسیون چربی‌های غشاء و تولید آلدییدهای سمی همچون مالون دی آلدیید (MDA)، ٤-هیدروکسی نوننال (4-hydroxynonenal) و آکرولئین می‌شوند [١٢،١١].

تجزیه متابولیت‌های ATP (نوکلئوتیدهای آدنیل)

از طریق مسیر گزانتین اکسیداز نیز موجب تولید رادیکال‌های آزاد (آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن) می‌گردد [۱۳] و سرانجام اینکه فعال‌شدن آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (در نتیجه افزایش کلسیم داخل سلولی) و القای آن در نتیجه التهاب، باعث تولید نیتریک اکساید (NO) می‌گردد که با تشکیل آنیون پراکسی نیتریت ($ONOO^-$) در تولید رادیکال‌های آزاد (رادیکال هیدروکسیل) نقش دارد [۱٤].

جنس سالویا از تیره نعناعیان شامل حدود ۹۰۰ گونه گیاه می‌باشد [۱۵]. گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth.) که در سال ۱۹۸۲ به عنوان فلور گیاهی ایران معرفی گردید [۱۵]، بومی مناطق جنوبی و گرمسیر خراسان، دشت سمنان و قسمت‌هایی از افغانستان می‌باشد. در سال‌های اخیر اثرات مختلف فارماکولوژیک این گیاه نظیر کاهش قندخون [۱٦]، کاهش وابستگی به مورفین [۱۷]، ضدتشنج [۱۸]، ضددرد و التهاب [۱۹]، ضدزخم معده [۲۰] مورد بررسی قرارگرفته است.

جهت ارزیابی آسیب‌های ایجاد شده متعاقب حوادث ایسکمیک مغزی و سنجش اثرات محافظتی داروها و ترکیبات مختلف از روش‌های گوناگون رفتاری [۲۲،۲۱]، پاتولوژیکال، هیستولوژیکال و ایمنوهیستولوژیکال [۲٤،۲۳،۲۲] و نیز بیوشیمیایی [۲٦،۲۵] استفاده می‌گردد.

پیشتر ما اثرات ضدایسکمی برگ و دانه [۲۷] و ریشه این گیاه [۲۸] را به روش آسیب‌شناسی بررسی کرده بودیم. در این مطالعه اثر عصاره آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک بر روی میزان لیپید پراکسیداسیون در جریان ایسکمی فراگیر مغزی، با استفاده از مدل ایسکمیک / رپرفیوژن درون تنی در رت بررسی گردید. به منظور سنجش میزان لیپید پراکسیداسیون، سطح مالون دی‌آلدیید بافتی MDA (با استفاده از آزمون تیوباربیتوریک اسید TBA) اندازه‌گیری گردید.

مواد و روش کار

حیوانات

از رت‌های نر با نژاد NMRI و به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم که در اتاق حیوانات مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد پرورش یافته بودند، استفاده گردید. حیوانات در سیکل روشنایی / تاریکی (۱۲/۱۲)، در درجه حرارت ۲ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری گردیدند.

تهیه گیاه و عصاره‌گیری

گیاه نوروزک (*Salvia leriifoia*) از منطقه بجستان استان خراسان جمع‌آوری شد و توسط مهندس جوهرچی، کارشناس بخش گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مورد تایید قرار گرفت (شماره هرباریوم : ۰۵-۱۹۱۲-۱۵۳). ریشه گیاه نوروزک پس از تمیز کردن در سایه خشک شده، توسط آسیاب پودر گردیده و در شرایط مناسب نگهداری شد. عصاره‌گیری به دو روش جوشانده آبی و خیسانده الکلی انجام گرفت. در عصاره‌گیری به روش جوشانده آبی، به ازای هر گرم پودر، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون بشر ریخته شده و توسط چراغ بونزن به جوش آمد. پس از افزودن پودر ریشه، مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیق جوشانده و پس از گذراندن از پارچه تمیز، توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف گردید. مایع صاف شده به چند پلیت منتقل شده و در اون با درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

در عصاره‌گیری به روش خیسانده الکلی، پودر ریشه به داخل ارلن مایر منتقل شده و سپس به ازای هر گرم پودر، ۱۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۹٦ درجه به آن افزوده گردید. مخلوط حاصل به مدت ۷۲ ساعت به آرامی تکان داده شده و پس از گذراندن از پارچه تمیز، توسط قیف بوخنر صاف گردید. صاف شده

حاصل به چند پلیت منتقل شده و در اون با درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

مواد شیمیایی

اسید فسفریک، پتاسیم کلرید، n-بوتانل و تترامتوکسی پروپان (TMP) از شرکت مرک و فنی توبین به صورت آمپول (۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از شرکت گسترش و سرمایه‌گذاری دارویی ایران، خریداری گردید.

تمام موادشیمیایی در آب مقطر حل شدند. برای انحلال فنی‌توبین و خشک شده حاصل از عصاره‌گیری به روش جوشانده آبی و خیسانده الکلی از نرمال سالین ۰/۹ درصد استفاده گردید.

ایجاد ایسکمی گلوبال به روش انسداد چهار رگ (4VO)

به منظور ایجاد ایسکمی فراگیر مغزی از روش انسداد چهار رگ (شرح داده شده به وسیله Pulsinelli و Brierley) استفاده گردید [٦]. رت‌های نر با نژاد NMRI به وسیله تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گزیلازین (٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. بعد از ایجاد شکاف در پشت سر و گردن حیوان، هر دو شریان مهرهای از طریق واردکردن الکتروکوتر به داخل سوراخ‌های آلار بر روی استخوان مهره اول به‌طور دایم سوزانده و مسدود شدند. سپس محل جراحی بخیه زده شد. پس از گذشت ٢٤ ساعت، حیوانات مجدداً بیهوش شده و با عمل جراحی دو شریان کاروتید با استفاده از کلامپ به مدت ۲۰ دقیقه مسدود شدند و سپس جریان خون مجدداً برقرار گردید.

حیوانات گروه sham متحمل روند جراحی در هر دو روز گردیدند بدون اینکه شریانهای مهرهای و کاروتید آنها مسدود گردد.

به منظور انجام آزمایش‌های حیوانات به ۹ گروه ٦ تایی تقسیم شدند. گروه اول عبارت بودند از حیوانات گروه sham، به گروه دوم نرمال سالین ۰/۹درصد (میلی‌لیتر بر کیلوگرم ۱۰ به صورت داخل صفاقی)، به گروه سوم فنی‌توبین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی)، به گروه‌های چهارم تا ششم عصاره آبی (۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ گرم بر کیلوگرم به ترتیب، به صورت داخل صفاقی) و به گروه‌های هفتم تا نهم عصاره الکلی (۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی) تجویز گردید.

تمام داروها ۱۵ دقیقه بعد از انسداد شریان‌های کاروتید تزریق شدند و تجویز آنها به مدت ۲ روز (هر ٢٤ ساعت) ادامه یافت. پس از نگهداری حیوانات در شرایط مناسب به مدت ۷۲ ساعت، سر حیوانات از بدن جدا شد و ناحیه هیپوکامپ به منظور اندازه‌گیری میزان MDA تولید شده در جریان ایسکمی از مغز جدا گردید.

سنجش MDA

به منظور سنجش میزان MDA بافتی از تست تیوباربیتوریک اسید (شرح داده شده به‌وسیله Uchiama و Miahara) استفاده گردید [۲۹].

به‌طور مختصر، بلافاصله بعد از کرانیوتومی (Craniotomy)، نمونه‌های هیپوکامپ از مغز جدا شده و پس از توزین با استفاده از محلول ۱/۵درصد کلرید پتاسیم سرد، هموژن گردید تا یک مخلوط هموژن ۱۰درصد به‌دست آید. ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط هموژن حاصل به لوله سانتریفوژ ۱۰ میلی‌لیتری منتقل شده و سپس به آن ۳ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۱درصد و یک میلی‌لیتر محلول آبی تیوباربیتوریک اسید ٦ درصد (TBA) اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ٤٥ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. بعد از خنک شدن به مخلوط فوق، ٤ میلی‌لیتر n-بوتانل اضافه شده و به خوبی تکان داده شد. سپس به کمک سانتریفوژ (با سرعت rpm ۲۰۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه)، فاز رنگی بوتانلی

جداسازی شده و جذب آن در طول موج nm ۵۳۵ خوانده شد. از ترکیب ۱، ۱، ۳، ۳-تترامتوکسی پروپان (TMP) به عنوان استاندارد مالون دی‌آلدیید استفاده گردید.

TMP در محیط اسیدی و با نسبت استوکیومتری ۱:۱، MDA آزاد می‌نماید. MDA با TBA واکنش داده و کمپلکس رنگی تولید می‌کند که در طول موج داده و حدود nm ۵۳۵ دارای پیک جذبی است [۳۰].

آنالیز آماری

کلیه نتایج به صورت میانگین ± میانگین خطای معیار (SEM) ذکر گردیده‌اند. برای آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و برای مقایسه بین گروهی از آزمون Tukey-Kramer استفاده گردید.

نتایج

تمام حیوانات گروه sham به مدت ۷۲ ساعت زنده مانده و هیچ‌گونه اختلال حرکتی در آنها مشاهده نگردید.

فنی‌توبین و عصاره‌های آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک به صورت مختصر و از نظر آماری غیر معنی‌دار، درصد زنده ماندن حیوانات را متعاقب ایجاد ایسکمی افزایش دادند.

در حیوانات گروه نرمال سالین افزایش قابل توجهی در سطح MDA مغز در مقایسه با گروه sham مشاهده گردید (۷۷درصد) (جدول شماره ۱).

در گروه فنی توبین، سطح MDA مغز در مقایسه با گروه نرمال سالین به صورت معنی‌داری کاهش یافت (٤٧درصد).

همچنین دوزهای مختلف عصاره‌های آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک به صورت معنی‌داری سطح MDA مغز را در مقایسه با گروه نرمال‌سالین کاهش دادند، اگرچه بین عصاره‌های الکلی و آبی گیاه نوروزک و همچنین سطوح مختلف دوز (۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ گرم بر کیلوگرم) از نظر کاهش میزان MDA مغز تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید.

جدول شماره ۱- اثر عصاره‌های ریشه نوروزک و فنی‌توبین بر میزان مالون دی‌آلدیید (MDA) در رت به دنبال ایسکمیک-ریپرفیوژن

گروه (n=۶)	دوز	MDA (nmol/g)
نرمال سالین	۱۰ml/kg	۲۰/۱ ± ۲۵۲/۷
Sham	-	۸/۸*** ± ۱٤۲/۷
فنی توبین	۵۰mg/kg	۱۷/۲*** ± ۱۳۳/٤
عصاره آبی نوروزک	۰/۱mg/kg	۷/۰*** ± ۱٦۲/۷
عصاره آبی نوروزک	۰/۲ mg/kg	۱۷/۸*** ± ۱٤٦/۸
عصاره آبی نوروزک	۰/٤ mg/kg	٦/۳*** ± ۱۲۵/٤
عصاره الکلی نوروزک	۰/۱ mg/kg	۱۰/٤*** ± ۱٦۳/۱
عصاره الکلی نوروزک	۰/۲ mg/kg	۱۰/۵*** ± ۱۱٤/٤
عصاره الکلی نوروزک	۰/٤ mg/kg	۱٤/۷*** ± ۱۰۲/۷

*** p<۰.۰۰۱, آزمون Tukey-Kramer, تعداد حیوان=۶

نتایج به صورت S.E.M.± میانگین گزارش شده‌اند

بحث

اگرچه مدل‌های حیوانی متعددی برای ایجاد ایسکمی فراگیر مغزی وجود دارد اما عقیده عمومی بر این است که نورونهای پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ و نورون‌های hilar در dentate gyrus دارای استعداد انتخابی (selective vulnerability) بوده و چندین روز (۷۲ ساعت) پس از آسیب ایسکمیک، دچار دژنراسیون می‌گردند که به این فرایند مرگ تاخیر نورونی یا DND (delayed neuronal cell death) گفته می‌شود. در مقابل سلول‌های گرانولی (granule cell) در dentate gyrus نسبت به آسیب ایسکمیک مقاومتر می‌باشند [۳۲،۳۱].

رادیکال‌های آزاد در آسیب بافتی متعاقب حوادث ایسکمیک / رپرفیوژن نقش بسیار مهمی دارند [۳۴،۳۳]. در واقع نشان داده شده است که هم رادیکال‌های آزاد و هم اسیدهای آمینه تحریکی (که در جریان فرآیند ایسکمی / رپرفیوژن به میزان زیاد آزاد می‌شوند), در آسیب مغزی متعاقب ایسکمی‌گذاری مغزی دارای نقش کلیدی هستند [۳۵]. شواهدی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد اسیدهای آمینه تحریکی در تولید رادیکال‌های آزاد نقش دارند [۳۶،۳۵]. این رادیکال‌های آزاد، همان‌گونه که ذکر گردید موجب آسیب اکسیداتیو اسیدهای نوکلئیک و پروتیین‌ها، لیپید پراکسیداسیون چربی‌های غیر اشباع در غشاهای سلولی، افزایش نفوذپذیری عروق ریز (که منجر به ایجاد ادم می‌گردد)، اختلال در عملکرد میتوکندری و غیره شده و لذا بالقوه سمی هستند [۱۲،۱۰].

Monyer و همکاران نشان دادند که ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی همانند ۲۱-آمینو استروییدها می‌توانند آسیب نرونی ناشی از اسیدهای آمینه تحریکی و لیپید پراکسیداسیون القا شده به وسیلهٔ رادیکال‌های آزاد را مهار نمایند [۳۷]. لذا امروزه استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد (Free radical scavengers) به‌منظور به حداقل رساندن ضایعات نورونی متعاقب آسیب‌های ایسکمیک بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۲۳، ۲۶].

عصاره آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک عمدتاً حاوی ساپونین و تانن می‌باشد [۲۸]. گزارش‌هایی مبنی بر فعالیت ضدایسکمیک و ضدهیپوکسیک بعضی از این ترکیبات وجود دارد [۴۰،۳۹،۳۸]. این احتمال وجود دارد که دی‌ترپن‌ها نیز, همانند گیاه *Salvia miltiorrhiza*, در اثرات محافظتی بر ضدایسکمی نقش داشته باشند, هرچند که وجود این ترکیبات در ریشه گیاه نوروزک بررسی نگردیده است.

مطالعات گذشته ما نشان داد که عصاره برگ و دانه و ریشه گیاه نوروزک دارای اثرات ضدایسکمیک و ضدهیپوکسیک بسیار قوی می‌باشد [۲۸،۲۷]. در این مطالعات اثرات ضدایسکمی این عصاره‌ها به روش آسیب‌شناسی و بر مبنای درصد شدت آسیب‌های ایسکمیک سلول‌های عصبی نواحی مختلف هیپوکامپ, مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه سعی گردید که اثر محافظتی عصاره ریشه این گیاه بر روی میزان لیپید پراکسیداسیون و سطح MDA مغز متعاقب ایسکمی فراگیر مغزی بررسی گردد.

مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که عصاره آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک، از افزایش میزان MDA مغز متعاقب آسیب ایسکمیک / رپرفیوژن، جلوگیری می‌نماید که در تطابق با یافته‌های قبلی می‌باشد.

Calapai و همکاران و همچنین Lazzarino و همکاران نشان دادند که افزایش سطح MDA مغز ناشی از لیپید پراکسیداسیون القاشده بر اثر رهایش رادیکال‌های آزاد، متعاقب آسیب ایسکمیک / رپرفیوژن می‌باشد [۴۱، ۴۲].بنابراین به‌نظر می‌رسد که اثرات عصاره ریشه گیاه نوروزک در مهار لیپید پراکسیداسیون و احتمالاً اثرات ضدایسکمیک آن به

علت وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و مهارکننده رادیکال‌های آزاد در آن می‌باشد.

Wang و همکاران نشان دادند که گیاه *Salvia miltiorrhiza* غلظت ATP (و احتمالاً آدنوزین) را در مغز افزایش می‌دهد [٤٣].

گزارش‌های متعددی مبنی بر اثرات نورومدولاتوری، ضدهیپوکسیک، ضدایسکمیک [٤٦،٤٥،٤٤] و مهار لیپید پراکسیداسیون [٢٥] در مورد آدنوزین یا آنالوگ‌های آن وجود دارد. این احتمال وجود دارد که عصاره گیاه نوروزک از طریق افزایش سطح آدنوزین در مغز نیز اثرات خود را در مهار لیپید پراکسیداسیون و آسیب‌های ایسکمیک اعمال نماید و لذا می‌توان مطالعات آینده را در این زمینه نیز متمرکز نمود.

گزارش‌های منتشر شده همچنین, نشان می‌دهد که گونه‌های دیگر سالویا، به‌خصوص *Salvia miltiorrhiza* دارای اثرات متعدد آنتی‌اکسیدان [٤٧، ٤٨]، انبساط عروقی [٤٩]، کاهش تولید NO [٥٠] و کاهش رهاسازی گلوتامات [٥١], می‌باشند که این اثرات می‌توانند تا حدودی توجیه‌کننده اثرات محافظتی این گیاه در برابر حوادث ایسکمیک باشند و بایستی در مورد گیاه نوروزک نیز مورد توجه و بررسی قرار گیرند.

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های آبی و الکلی ریشه گیاه نوروزک به صورت معنی‌داری سطح لیپید پراکسیداسیون را متعاقب آسیب‌های ایسکمیک / رپرفیوژن، مهار می‌نمایند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از جناب آقای دکتر رشیدی‌پور به جهت ارایه ایده اولیه آزمون تیوباربیتوریک اسید تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Bokura H and Robinson R.G. Long-term cognitive impairment associated with caudate stroke. *Stroke* 1997; 28: 970-5.

2. Braduik B; Sonesson B and Holtas S. Spatial impairment hallowing right hemisphere transient ischemic attacks in patients without carotid artery stenosis. *Acta Neural. Scand*. 1989;80: 411-18.

3. Godefroy O; Rousseaux M; Pruvo JP; Cabaret M and Leys D. Neuropsychological changes related to unilateral lenticostriate infarcts. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat*. 1994;57: 480-85.

4. Barinaga M. Stroke-damaged neurons may commit cellular suicide. *Science* 1998; 281: 1302-3.

5. Hossmann KA. Post-ischemic resucitation of the brain: selective vulnerability versus global resistance. *Prog. Brain Res*. 1985; 63: 3-17.

6. Pulsinelli WA; Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke* 1979; 10: 268-72.

7. Pulsinelli WA; Brierley JB and Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. *Ann. Neurol.* 1982; 11: 491-8.

8. Morioka T, Kalehua AN and Streit WJ. Progressive expression of immunomolecules on microglial cells in rat dorsal hippocampus following transient forebrain ischemia. *Acta Neuropathol*. 1992; 83: 149-57.

9. Block, F. Global ischemia and behavioral deficits. , Progress in Neurobiology. 1999; 58: 279-95.

10. Fisher, M. *Stroke therapy.* Butter worth-Heinemann, 2nd ed., 2001; pp: 25-50.

11. Rao MA, Hatcher JF, Dempsey, RJ. Lipid metabolism in ischemic neuronal death, *Recent Res. Devel. in Neurochem.* 1999; 2: 533-49.

12. Traystman RJ; Kirsch RC; Koehler RC. Oxygen redical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion, *J. Appl. Physiol.* 1991; 71: 1185-95.

13. Lindsay S, Liu TH, Xu J. Role of xanthine dehydrogenase and oxidase in focal cerebral ischemic injury to rat, *Am. J. Physiol.* 1991; 261: H 2051-H 2057.

14. Beckman JS, Beckman TW, Chen J. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990; 87: 1620-4.

15. Rechinger KH. *Flora Iranica*, NO. 150, Tab 582, labiatae Akademische Druck-U. Verlagsantalt, Graz-Austeria, 1982.

16. Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH, Shokoohizadeh H. Antihyperglycemic effect of *Salvia lerrifolia* Benth. leaf and seed extract in mice, *Irn. J. Sci.* 1998; 23: 74-80.

17. Hosseinzadeh H, Lari P. Effect of *Salvia lerrifolia* extract on morphine dependence in mice, *Phytother. Res.* 2000; 14, 384-7.

18. Hosseinzadeh H, Arabsanavi J. Anticonvulsant effect of *Salvia lerrifolia* Benth. seed and leaf extract in mice, *Irn. J. Basic Med. Sci.* 2001; 3, 166-70.

19. Hosseinzadeh H, Yavari M. Antiinflammatory effects of *Salvia lerrifolia* Benth. leaf extract in mice and rats, *Pharmac. Pharmacol. Lett.* 1999; 9: 60-1.

20. Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH, Hosseini E. Anti-ulcer effect of *Salvia lerrifolia* Benth. leaf extracts in mice, *Pharmac. Pharmacol. Lett.* 2000; 2, 63-4.

21. Block F, Schmitt W, Schwarz M. Pretreatment but not posttreatment with GYKI 52466 reduces functional deficits and neuronal damage after global ischemia in rats, *J. Neurol. Sci.* 1996; 139: 167-72.

22. Nakase H, Heimann A, Uranishi R, Riepe MW, Kempski O. Early-onset tolerance in rat global cerebral ischemia induced by a mitochondrial inhibitor, *Neuroscience lett.* 2000; 290: 105-8.

23. Wang Q, Xu J, Rottinghaus GE, Simonyi A, Lubahn D, Sun GY, Sun AY. Resveratrol protects against global cerebral ischemic injury in gerbils. *Brain Res.* 2002; 958: 439-47.

24. Puurunen K, Koistinaho J, Sirvio J, Jolkkonen J, Sivenius J. Enriched-enviroment housing increases neuronal fos-staining in the dentate gyrus after a water maze spatial learning task, *Neuropharmacology* 2001; 40: 440-7.

25. Yavuz O, Turkozkan N, Bilgihan A, Dogulu F, Aykol S. The effect of 2-chloroadenosine on lipid peroxide levl during experimental cerebral ischemia-reperfusion in gerbils. *Free Radic. Biol. and Med.* 1997; 22: 337-41.

26. Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, Marciano MC, Squadrito F, Infereera G, Parisi A, Rizzo A, Crisafulli C, Fiore A, Caputi AP. Neuroprotective effects of *Ginko biloba* extract in brain ischemia are mediated by inhibition of nitricoxide synthesis. *Life Sci.* 2000; 67: 2673-83.

27. Khooei AR, Hosseinzadeh H, Imanshahidi, M. Pathologic evaluation of anti-ischemic effect of *Salvia lerrifolia* Benth. Seed and leaf extracts in rats after global cerebral ischemia., *Irn. J. Med. Sci.* 2003; 5: 8-13.

28. Hosseinzadeh H, Khooei AR, Jafari MR, Ghassamipuor J. Evaluation of anti-hypoxic and anti-ischemic effect of alcoholic and aqueous extracts of *Salvia lerrifolia* Benth. root in mice and rats. *Irn. J. Med. Plants*, 2002; 1:1-10.

29. Uchiama M, Miahara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 1978; 86: 279-86.

30. Fernandez J, Perez-Alvarez JA, Fernandez-lopez JA. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chem.*

1997; 99: 345-33.

31. Nitatori T, Sato N, Waguri S, Karasawa Y, Araki H, Shibanai K, Kominami E, Uchiyama Y. Delayed neuronal death in the CA1 pyramidal cell layer of the gerbil hippocampus following transient ischemia is apoptosis, *J. Neurosci*. 1995; 15: 1001-1011.

32. Schmidt-Kastner R, Freund TF. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia, *Neuroscience* 1991; 40: 599-636.

33. Maupoli V, Rodnette L. Evaluation of free radical and lipid peroxide formation during global ischemia and reperfusion in isolated rat heart, Cardiovasc. *Drug Ther*, 1988; 2: 615-21.

34. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain, *J. cereb. Blood Flow Metab*. 2000; 21: 2-14.

35. Moon S, Betz AL. Interaction between free radicals and excitatory amino acids in the formation of ischemic brain edema in rats., *Stroke*, 1991; 22: 915-21.

36. Dykens JA, Stern A, Trenkner E. Mechanism of kainate toxicity to cerebral neurons in vitro is analogous to reperfusion tissue injury. *J. Neurochem*., 1987; 49: 1222-8.

37. Monyer H, Hartley DM, Choi DM. 21-Aminosteroids attenuate excitotoxic neuronal injury in cortical cell cultures. *Neuron*. 1990; 5: 121-6.

38. Dou DQ, Zhang YW, Zhang L, Chen YJ, Yao XS. The inhibitory effects of ginsenosides on protein toyrosine kinase activated by hypoxia/reoxygenation in cultured human umbilical uein endothelial cells. *Planta Med*. 2001; 67: 19-23.

39. Sui DY, Lu ZZ, Ma LN. Effects of the leaves of Acanthopanax senticosus on myocardial infarct size were studied in acute ischemic dogs. *Chung. Kuo. Xao. Tsa. Chin.* 1994;19: 746-7.

40. Wen TC, Yoshimura H, Matsuda S, Lim JH, Sakanaka M. Ginseng root prevents learning disability and neuronal loss in gerbils with minute fore brain ischemia. *Acta. Neuropathol*. 1996; 91: 15-22.

41. Calapai, G.; Squadrito, F.; Rizzo, A.; Crisafulli C, Campo GM, Marciano MC, Mazzaglia G, Caputi AP. A new antioxidant drug limits brain damage induced by transient cerebral ischemia. *Drugs under Exp. and Clin. Res.* 1993; 19: 159-64.

42. Lazzarino G, Tavazzi B, Dipierro D, Vagnozzi R, Penco M, Giardina B. The relevance of malondialdehyde as a biochemical index of lipid peroxidation of post ischemic tissues in the rat and human beings. *Biological Trace Element Research*, 1995; 47: 165-70.

43. Wang SX, Xie SH. Effect of ATP quantity of myocardium and brain in mice by extract from *Rubia yannanensis*, *Rubia corliifolia* and *Salvia miltiorrhiza*. *Chin. Trad. Herbal Drugs*, 1986; 17: 451-3.

44. Laghi PF, Guideri F, Dicano E, Parenti G, Varga A, Diperri T. Increase in plasma adenosine during brain ischemic attacks and storoke. *Brain Res. Bu*ll. 2000; 51: 327-30.

45. Mori M, Nishizaki T, Okada Y. Protective effect of adenosine on the anoxic damage of hippocampal slice. *Neurosci.* 1992; 46: 301-7.

46. Nieber K, Eschke D, Brand A. Brain hypoxia: effects of ATP and adenosine. *Prog. Brain Res.* 1999; 120: 287-97.

47. Cuppett SL, Hall CA. Antioxidant activity of the labiatae, *Adv. Food. Nut. Res.* 1998; 42: 245-71.

48. Wang T. Effects of Chinese medicine zhenxianling in 239 case of epilepsy, *J. Tradit. Chin. Med.* 1999; 16: 94-7.

49. Masahiro N. Vasodilator effects of des (α-carboxy-3, 4-dihydroxy phenethyllithospermic acid β-epilechnic acid), a derivative of lithospermic acids in *Salvia miltiorrhiza* radix, *Biol. Pharmac. Bu*ll. 1996; 19: 228-32.

50. Kuang P. Effect of radix *Salvia miltiorrhizae* on nitric oxide in cerebral ischemia-reperfusion injury, *J. Tradit. Chin. Med.*

1996; 16: 224-27.
51. Kuang P. Effect of radix *Salvia miltiorrhizae* on EAA and IAA during cerebral ischemia in gerbil: a microdialysis study, *J. Tradit. Chin. Med.* 1994; 14: 45-50.