

بررسی اثرات عصاره آبی برگ گیاه مریم گلی بر ترمیم نورون های آلفا شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در موش صحرایی

مریم رضوی، مریم طهرانی پور*، جینا خیاط زاده

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۱۶

چکیده:

زمینه و هدف: اثرات ضایعه در سیستم عصبی به صورت رتروگراد بر جسم سلولی نورون های سیستم عصبی مرکزی تأثیرگذار بوده و باعث دژنراسیون مرکزی نورون ها در نخاع می شود. پژوهش حاضر به منظور تعیین اثرات نوروپروتکتیوی عصاره آبی مریم گلی (*Salvia chloroleuca*) بر دژنراسیون آلفا موتونورون های نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در موش صحرایی انجام شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۴ راس موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی کنترل، کمپرسیون، کمپرسیون به همراه تیمار با دوز ۵۰mg/kg عصاره آبی و کمپرسیون به همراه تیمار با دوز ۷۵mg/kg عصاره آبی قرار گرفتند. در گروه کنترل عضله در محل عصب سیاتیک بدون آسیب شکافته اما در گروه های تیمار پس از شکافتن عضله پای راست، عصب سیاتیک در معرض کمپرسیون قرار گرفت. اولین تزریق عصاره به صورت داخل صفاقی، بلافاصله بعد از کمپرسیون عصب و دومین تزریق ۷ روز بعد انجام شد. پس از ۲۸ روز موش های صحرایی بیهوش و متد پرفیوژن انجام و از نخاع ناحیه کمری نمونه برداری شد. پس از مراحل پاساژ بافتی،

برش های سریال ۷ میکرونی با آبی تولوئیدین رنگ آمیزی و دانسیته نورونی در هر گروه با گروه کمپرسیون مقایسه گردید.

یافته ها: دانسیته نورونی تفاوت معنی داری را در گروه کنترل و کمپرسیون نشان داد ($P < 0.001$). همچنین دانسیته نورونی در گروه های کمپرسیون + تیمار در مقایسه با گروه کمپرسیون افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0.001$) که بیانگر اثرات مثبت عصاره آبی برگ گیاه مریم گلی است.

نتیجه گیری: عصاره آبی مریم گلی دارای اثرات نوروپروتکتیو بروی آلفا موتونورون های نخاع پس از آسیب می باشد. بنابراین احتمالاً این اثرات ناشی از حضور فاکتورهای ترمیمی و رشد در عصاره آبی برگ گیاه مذکور بوده که موجب پیشبرد فرآیند رژنراسیون در نورون های آسیب دیده و پیشگیری از شدت دژنراسیون می شود.

واژه های کلیدی: مریم گلی، دژنراسیون، عصب سیاتیک، نوروپروتکتیو.

مقدمه:

صدمه یا کمپرسیون، خون رسانی کافی به فیبر عصبی صورت نگیرد؛ باعث اختلال در انتقال پیام های عصبی می شود (۱). اگر آسیب در سیستم عصبی محیطی اتفاق بیفتد، قسمت از دست رفته می تواند مجدداً رشد کرده یا رژنه شود که برای این منظور سلول های شوان تکثیر شده و از قسمت پروگزیمال عصب تا اولین گره رانویه و از قسمت دیستال عصب تا انتهای عصب را پر می کنند. در نهایت مخروط رشد (فیلامان هایی با سرهای پیازی شکل که از انتهای پروگزیمال عصب خارج می شود) به همراه

آسیب های وارده به اعصاب محیطی یکی از شایع ترین آسیب ها در جوامع امروز است. کمپرسیون عصب یکی از عوامل به وجود آورنده ضایعه در اعصاب محیطی می باشد. به دنبال کمپرسیون عصب سیاتیک، ارتباط آکسون با جسم سلولی قطع می گردد و ممکن است تغییراتی در نورون از جمله حرکت هسته از قسمت مرکزی به قسمت محیطی سلول، قطعه قطعه شدن آکسون و میلین و قطع ارتباط بین ابتدا و انتهای نورون رخ دهد که به این فرآیند دژنراسیون والرین گویند. در صورتی که به دنبال

گلیکوزیدازهای فنولی، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها، کومارین، پلی ساکاریدها، پروتئین ها، استرول و ترپن ها می باشند (۱۰). طبق مطالعات انجام شده، در اسانس آن ۳۴ ترکیب شناسایی شده اند که شامل: ترکیبات مونوترپنی هیدروکربنی مانند آلفا پینن و بتا پینن، مونو ترپن های اکسیژنه مانند ۸ و ۱ سینئول و کارواکرول، ترکیبات سزکویی ترین شامل بتا کاریوفیلن و جرماکرن دی، ترکیبات سزکویی ترین اکسیژن دار و ترکیبات دیگر (بی سیکلو جرماکرن، اسپاتونول، سابینین و غیره) می باشند (۱۱-۱۳). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدهای عمده گیاه سالویا کلورولوکا شامل: رزمارنیک اسید، کاتکین، کوئرستین، روتین و لوتئولین می باشد (۱۱). گیاهان متعلق به جنس سالویا خواص دارویی بر سیستم عصبی مرکزی داشته که علاوه بر اثر نوروپروتکتیوی آن بر روی سیستم عصبی می توان به اثرات آنتی اکسیدان، ضد التهاب، ضد تب، آرام بخش و خواب آور، شل کننده عضلات اسکلتی، درمان کننده بسیاری از بیماری ها از جمله سرماخوردگی، برونشیت، ناراحتی های گوارشی، سل و بیماری های پوستی و عصبی اشاره کرد (۱۴، ۱۵). نقش موثر گیاه مریم گلی در مهار تشنج ناشی از پنتیلن تترازول و جلوگیری از ایجاد صرع در موش سوری به اثبات رسیده است (۱۶). همچنین تجویز عصاره سالویا با برقرار کردن خصوصیات کولینرژیک سبب بهبود عملکرد ادراکی در افراد بالغ جوان می شود (۱۷).

نتایج تحقیقات متعدد نشان می دهد که سالویا کلورولوکا دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد درد، ضد آپوپتوز، ضد میکروبی و غیره است (۲۱-۱۸). با توجه به این که تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی اثر عصاره آبی برگ گیاه مذکور صورت نگرفته است؛ لذا این مطالعه به منظور تعیین اثرات عصاره آبی برگ گیاه سالویا کلورولوکا بر دژنراسیون نورون های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در موش صحرایی انجام شد.

سلول های شوان به سمت انتهای آسیب دیده حمله می کنند و سپس میلین سازی از سمت پروگزیمال به دیستال عصب صورت می گیرد (۲).

وقایع بیولوژیکی متعددی به دنبال کمپرسیون عصب سیاتیک در سطح سلولی و مولکولی روی می دهد که از آن جمله می توان به بروز آپوپتوزیس، افزایش ورود کلسیم به درون نورون، آزاد شدن نوروترانسمیترهای تحریکی مانند گلوتامات، ایجاد رادیکال های آزاد و فعال شدن فرآیند های التهابی اشاره نمود و اگر کمپرسیون عصب شدید باشد منجر به دژنراسیون مرکزی در نخاع می گردد (۳، ۴). به دنبال له شدگی عصب تغییرات مورفولوژیکی و متابولیکی تحت عنوان کروماتولیز در جسم سلولی نورون ها به وجود می آید و شامل پاره پاره شدن اجسام نیسل و تبدیل آن ها به ذرات ریز و ناپدید شدن آن ها، حجیم و مدور شدن جسم سلولی نورون، قطعه قطعه شدن نوروفیبریل ها و جابجایی هسته از مرکز به محیط می باشد (۵). اگرچه نورون ها پس از تولد فاقد قدرت تکثیر می باشند، اما می توانند در مقابل درجات معینی از ضایعات مقاومت کرده و بهبود یابند که به این فرآیند رژنراسیون می گویند (۶). به دنبال تغییرات رژنراتیو در آکسون، جسم سلولی به حالت طبیعی در آمده سنتز RNA و پروتئین تسریع شده، تورم سلولی کم شده و هسته به مرکز بر می گردد (۷). نتایج نشان می دهد که عوامل نوروتروفیک موثر بر روند رژنراسیون مانند فاکتور رشد عصبی (NGF)، فاکتور مشتق شده از مغز (BDNF) از طریق انتقال رتروگراد در نورون ها به جسم سلولی انتقال می یابد و به بقای نورونی و ترمیم کمک می کند (۸).

گیاهان تیره نعناع (Labiata) دارای پراکندگی وسیعی در سراسر جهان بوده و شامل ۱۸۷ جنس و حدود ۳۰۰۰ گونه می باشد. جنس مریم گلی (salvia) در ایران ۵۸ گونه گیاه علفی یک ساله و چندساله دارد که از این تعداد ۱۷ گونه آن انحصاری می باشد (۹). مریم گلی حاوی اسانس (روغن فرار)، اسیدهای فنولیک،

روش بررسی:

برای انجام این مطالعه تجربی ۲۴ رأس موش صحرائی نر نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۲ هفته و وزن ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم از موسسه سرم سازی رازی مشهد خریداری شد. موش ها در حیوان خانه گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تا زمان آزمایش نگهداری شدند. شرایط نگهداری دمای ۲۱ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۰ درصد، سیکل نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی بود. به طوری که همگی امکان دسترسی به آب و غذای کافی داشتند. پروتکل اخلاقی کار روی حیوانات رعایت شد.

برگ گیاه آبی مریم گلی (*Salvia chloroleuca*) پس از تهیه توسط مرکز هرباریوم دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی مشهد به شماره هرباریومی (۹۱۸۴) تأیید شد. برگ گیاه توسط آسیاب کاملاً خرد گردید، از برگ آن عصاره آبی با استفاده از دستگاه سوکسله مدل (H626) تهیه شد. برای اینکار ۵۰ گرم پودر خشک برگ گیاه را ابتدا داخل کاغذ مخصوص کارتوش ریخته و در دستگاه قرار داده شد و از ۴۵۰ سی سی آب مقطر به عنوان حلال استفاده شد. در پایان عصاره گیری از عصاره آبی حذف حلال صورت گرفت.

حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه شش تایی کنترل (A)، کمپرسیون (B)، کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره آبی (C) و کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره آبی (D) تقسیم شدند. موش های صحرائی هر گروه با تزریق درون صفاقی ماده بیهوشی رامپون و کتامین به نسبت ۶ و ۶۰ میلی گرم بر کیلو گرم بیهوش شدند (۳). پس از زودودن موهای زائد ناحیه خلف ران راست حیوان، پوست به اندازه ۲-۳ سانتی متر شکافته شد و با کنار زدن عضلات خلف ران، عمل کمپرسیون عصب سیاتیک با استفاده از قیچی قفل دار (قفل دوم) به مدت ۶۰ ثانیه صورت گرفت. پس از کمپرسیون عصب، محل ضایعه ضد عفونی و توسط گیره فلزی بخیه زده شد.

در گروه شاهد (کنترل)، مشاهده عصب سیاتیک پای راست حیوان صورت گرفت و تزریق سرم فیزیولوژیک جهت ایجاد استرس تزریق، صورت گرفت. در گروه کمپرسیون، کمپرسیون عصب سیاتیک و تزریق سرم فیزیولوژیک جهت ایجاد استرس تزریق صورت گرفت. در گروه های تیمار اولین مرحله تزریق عصاره با دوز ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی بلافاصله پس از عمل کمپرسیون انجام شد. این دوزها با توجه به تجربیات آزمایشات انجام شده قبلی بر روی گیاهان مشابه انتخاب شده است (۲۲، ۲۳). پس از به هوش آمدن حیوانات، آن ها به قفس های جداگانه انتقال داده شد و در شرایط استاندارد حیوان خانه نگهداری شدند. دومین مرحله تزریق درون صفاقی عصاره در گروه های تیمار ۷ روز پس از اولین تزریق صورت گرفت که این مدت زمان تیمار با توجه به تجربیات آزمایشات انجام شده قبلی بوده که مناسب ترین زمان برای تیمار دو هفته اول بعد از کمپرسیون می باشد (۲۴).

پس از ۲۸ روز از تاریخ کمپرسیون با استفاده از روش پرفیورژن ابتدا بافت های بدن حیوانات تا حدی فیکسه شد، سپس از نخاع ناحیه کمری آن ها نمونه برداری صورت گرفت (۲۳). نخاع تا انتهای مخروط انتهایی از داخل ستون مهره ها خارج شد. سپس از انتهای مخروط انتهایی نخاع ۱۸ میلی متر بالا رفته و نمونه هایی به طول ۸ میلی متر تهیه شد. با توجه به این که عصب سیاتیک از پنج ریشه عصب شامل اعصاب چهارم و پنجم در نخاع (L4-L5) و اول تا سوم خاجی (S1-S3) منشأ می گیرد؛ لذا نمونه های ۸ میلی متری تهیه شده، محدوده جسم سلولی نرون های تشکیل دهنده عصب سیاتیک می باشند (سگمانت های ۲۴ تا ۲۸ نخاعی) (۳). نمونه های تهیه شده به مدت دو هفته درون فیکساتور قرار گرفت و پس از آن وارد مراحل پاساژ بافتی شد که شامل سه مرحله آنگیری از بافت با استفاده از الکل، شفاف سازی توسط زایلن و مرحله آغشتگی با پارافین بود. برش گیری با استفاده از دستگاه میکروتوم انجام شد. به طوری که برش هایی با ضخامت ۷

$\Sigma frame$: مجموع دفعات نمونه برداری شده در یک نمونه
 V dissector: حجم چهارچوب نمونه برداری و برابر با
 $V \text{ dissector} = A \text{ frame} \times H$ می باشد
 قالب A : مساحت چهارچوب نمونه برداری
 H : فاصله بین دو برش متوالی یا ضخامت هر برش
 داده ها با استفاده از نرم افزار Minitab 13 و
 آزمون های آماری T-test و ANOVA (برای مقایسه
 دو تایی گروه ها) تجزیه و تحلیل شدند. سطح
 معنی داری آزمون ها کمتر از ۰/۰۰۱ در نظر گرفته شد.

یافته ها:

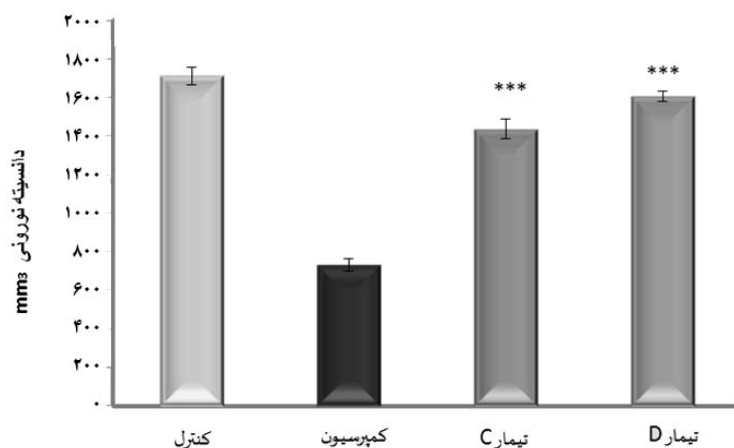
مقایسه دانسیته نورونی گروه کنترل با گروه
 کمپرسیون اختلاف معنی داری ($P < 0/001$) را نشان داد که
 بیانگر شدت ضایعه ایجاد شده و درصد تخریب بالای
 نورون های نخاع است. همچنین مقایسه دانسیته نورونی
 گروه های تیمار با گروه کمپرسیون افزایش معنی دار
 ($P < 0/001$) را نشان داد که بیانگر اثرات مثبت عصاره آبی
 برگ گیاه *Salvia Choloroleuca* است (نمودار شماره ۱).

میکرون ایجاد گردید. برش گیری به صورت سریال
 صورت گرفت و از هر ۳۰ برش ۳ برش متوالی به لام منتقل
 گشت و در نهایت از هر نمونه ۳۰ لام تهیه شد. پس از آن
 نمونه ها با استفاده از رنگ آبی تولوئیدین
 رنگ آمیزی شدند (۲۵). در مرحله بعدی با استفاده
 از دستگاه فتومیکروسکوپ از منطقه شاخ قدامی نخاع در
 سمت راست در لام های تهیه شده، از دو برش متوالی
 عکس هایی تهیه گردید. برای شمارش نورون های
 حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در سمت راست، از روش
 دایسکتور استفاده شد. در این روش در یک چهارچوب
 مرجع نورون ها شمارش می گردند. اگر ذره ای در
 چهارچوب مرجع باشد ولی در چهارچوب بعدی (در برش
 متوالی بعدی) نباشد، در شمارش به حساب می آید؛ اما
 اگر نورونی در هر دو چهارچوب باشد، در شمارش
 محسوب نمی شود (۲۳).

پس از شمارش نورون ها دانسیته نورونی توسط
 فرمول زیر محاسبه شد:

$$ND = \Sigma Q / \Sigma frame \times V \text{ dissector}$$

ΣQ : مجموع نورون های شمارش شده در یک نمونه

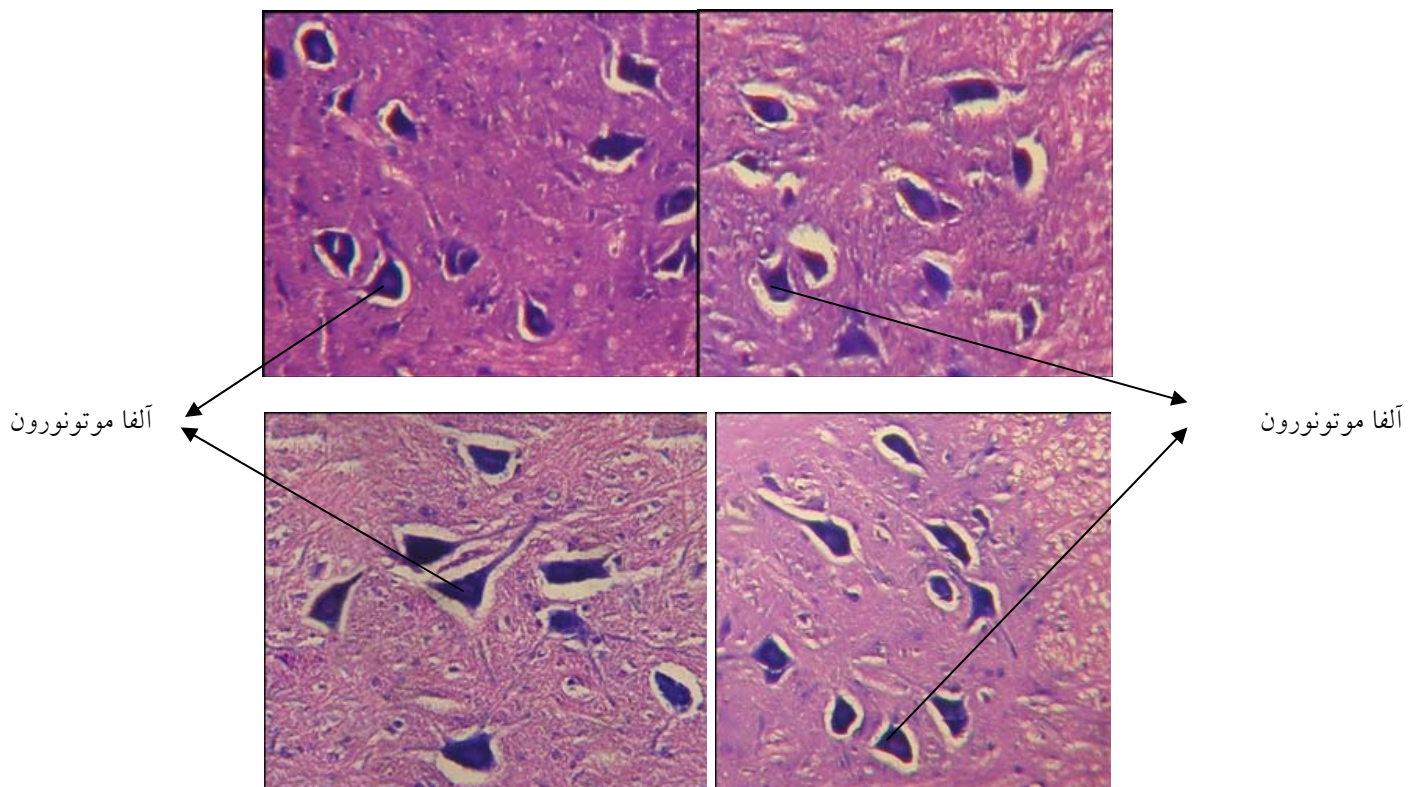


نمودار شماره ۱: مقایسه دانسیته نورونی شاخ قدامی نخاع در سمت راست در گروه های مختلف

$n=6$ در هر گروه؛ تیمار C: گروه کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی برگ گیاه *Salvia Choloroleuca*، تیمار D: گروه کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی برگ گیاه *Salvia Choloroleuca* *** $P < 0/001$ در گروه های تیمار نسبت به گروه کمپرسیون.

وضعیت نرمال داشته و پدیده های دژنراسیون در آن ها کمتر دیده می شود که بیانگر اثرات حفاظتی عصاره این گیاه بر جسم سلولی نورون ها پس از آسیب عصب سیاتیک است. در حالی که در گروه کمپرسیون جسم سلولی چروکیده و غیر نرمال است (تصویر شماره ۱).

جهت بررسی میکروسکوپی تغییرات ایجاد شده، از شاخ قدامی نیمه راست نخاع تصاویری تهیه شده که در آن تغییرات جسم سلولی نورون ها در گروه های مختلف قابل مقایسه است. در گروه های تیمار و شاهد، جسم سلولی نورون های حرکتی نخاع



تصویر شماره ۱: تغییرات جسم سلولی نورون های حرکتی آلفا در نیمه راست شاخ قدامی نخاع

الف: گروه کنترل؛ ب: گروه کمپرسیون؛ ج: گروه کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی برگ گیاه *Salvia Choleroleuca*؛ د: گروه کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی برگ گیاه *Salvia Choleroleuca*. تصاویر با درشت نمایی $160\times$ می باشند.

بحث:

کمپرسیون شدید اعصاب و میزان تخریب شدید بخش پروگزیمال آکسون ها، اثرات ضایعات رو به عقب (رتروگراد) به سمت جسم سلولی نورون ها توسعه یافته و سبب دژنراسیون مرکزی و تخریب جسم سلولی نورون ها گردید (۲۷). همچنین مرگ ناشی از ضایعه در نورون های سیستم عصبی مرکزی امری طبیعی است و قطع عصب سیاتیک یا کمپرسیون آن سبب القای مرگ

این مطالعه نشان داد که کمپرسیون ایجاد شده در عصب سیاتیک طبق انتظار دانسیته نورونی شاخ قدامی نخاعی را کاهش داد به طوری که بین دانسیته نورونی گروه کمپرسیون و گروه کنترل اختلاف معنی داری دیده شد. در مطالعه Ferrer و Planas قطع فیبر عصبی در اعصاب محیطی و مرکزی تغییراتی ایجاد نمود و سبب مرگ سلولی گردید (۲۶). در مطالعه Scott و Foote با

نورونی در آلفا موتونورون های نخاع می شود (۳). همچنین عصاره آبی برگ گیاه سالویا کلورولوکا به میزان ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن درموش های با کمپرسیون عصب سیاتیک، باعث افزایش معنی دار دانسیته نورون های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع می گردد که احتمالاً از طریق ویژگی های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی عناصر قابل حل در آب این گیاه می باشد.

در روند کمپرسیون عصب، فرآیندهای التهابی فعال می شوند و باعث پدید آمدن محیط شیمیایی زیان آور و آسیب بیشتر می شوند (۴). احتمالاً عصاره آبی برگ گیاه با داشتن اثرات ضد التهابی از پیشرفت آن ها جلوگیری می کند. به طوری که در پژوهش حاضر نیز گروه های تیمار پیشرفت ضایعه را کند کرده بودند. شواهد موجود نشان می دهد سالویا کلورولوکا دارای آثار آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است. بتا کاربوفیلین موجود در اسانس این گیاه یک ترکیب سزکویی ترین می باشد که دارای اثر ضد التهابی در چندین مدل حیوانی از جمله ادم پنجه پا به دلیل پروستاگلاندین E و کارژینان و همچنین کولیت روده بزرگ ناشی از سولفات سدیم دکستران (DSS) در موش بوده است که این ترکیب در مراحل اولیه پس از آسیب از ترشح سایتوکین های اصلی و التهابی مانند فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا ($TNF\alpha$)، اینترلوکین یک (IL-1 β) و اینترلوکین ۶ (IL-6) جلوگیری می نماید (۱۹). کوئرستین موجود در گیاه از طریق کاهش ماکروفاژها در محل صدمه، باعث افزایش عملکردهای حرکتی در موش های صحرایی صدمه دیده شده است (۲۸). این ترکیب اثر ضد التهابی خود را از طریق بلوک تولید پیش التهاب های بیوشیمیایی مثل لوکوترین و پروستاگلاندین اعمال کرده و نیز آزاد سازی هیستامین و دیگر میانجی های آلرژیک را مهار می کند (۲۹).

یکی دیگر از عوامل موثر در مرگ سلولی رادیکال های آزاد می باشد که به دنبال آسیب مکانیکی و یا کمپرسیون عصب سیاتیک تولید رادیکال های آزاد افزایش می یابد. تولید بیش از حد این رادیکال ها باعث آسیب به عملکرد سلول می شود. موجود زنده برای

اجتناب از این آسیب ها باید مجهز به مواد آنتی اکسیدان باشد. آنتی اکسیدان ها نقش ارزنده ای در حفاظت نورونی برعهده دارند (۴). مریم گلی حاوی غلظت بالایی از آنتی اکسیدان ها می باشد. اسدی و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که گیاه سالویا کلورولوکا خاصیت آنتی اکسیدانی قوی دارد. در این بررسی گیاه مذکور حاوی بالاترین ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدهای مهمی نسبت به دو گونه دیگر مورد بررسی، مانند روتین، کاتکین و کوئرستین با خاصیت می باشد که این فلاونوئیدها از طریق چلاته کردن یون های فلزی فعالیت آنتی اکسیدانی خود را اعمال می کنند. در این تحقیق خاصیت آنتی اکسیداتی بالا را به وجود این ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نسبت می دهند (۱۱). پیامد کمپرسیون عصب مرگ نورونی از نوع آپوپتوز می باشد. بیان ژن های آغازگر آپوپتوز از جمله باکس، کاسپاز ۳ و ۹ بعد از آسیب سیاتیک دیده شده است. آسیب مکانیکی اولیه باعث هموراژی مرکزی و نکروز در ماده خاکستری می شود و به دنبال آن منجر به تخریب نورون ها، سلول های پشتیبان گلیال و رگ های خونی، افزایش غلظت گلوتامات، کاهش سطح cAMP و آپوپتوز می شود (۳۰). آزمایش بیانگر این مطلب است که گیاه سالویا کلورولوکا مرگ نورونی را از طریق مهار آزادسازی گلوتامات متوقف می کند؛ بنابراین ظاهراً این گیاه خاصیت آنتی آپوپتوزی دارد و طبق گزارشی که در سال ۲۰۱۱ انجام شد اثر آنتی آپوپتیک این گیاه به اثبات رسیده است (۳۱).

نتیجه گیری:

از آنجا که نورون ها، سلول های تجدید نشدنی می باشند، دژنراسیون مرکزی سیستم عصبی ضایعات جبران ناپذیری را به دنبال دارد. برای جلوگیری از این مسئله با استفاده از گیاه *salvia chloroleuca* به عنوان یک ماده نوروپروتکتیو که دارای خواص آنتی اکسیدانی، آنتی آپوپتوزی و ضد التهابی ثابت شده ای

تشکر و قدردانی:

این تحقیق در گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد صورت گرفت که از همه همکاران گروه زیست شناسی و مدیریت محترم گروه سرکار خانم دکتر خیاط زاده و ریاست محترم دانشکده علوم آقای دکتر خورشید تشکرو قدردانی می شود. مقاله حاصل پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم جانوری بوده و هزینه های این تحقیق بر عهده دانشجو بوده است.

است، احتمالاً می توان این ضایعات را به حداقل رساند و حتی بروز علایمی از قبیل دردهای ناشی از این ضایعات را تخفیف داد. این مسئله در داده های گروه های تیمار با عصاره آبی (دوز ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) کاملاً مشخص است. این مطالعه نشان داد که عصاره آبی برگ گیاه سالویا کلورولوکا باعث افزایش دانسیته نورون های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در موش صحرایی با کمپرسیون عصب سیاتیک می گردد و این افزایش دانسیته نورونی با میزان عصاره دریافتی ارتباط دارد.

منابع:

1. Guertin AD, Zhang DP, Mak KS, Alberta JA, Kim HA. Microanatomy of axo/glia signaling during Wallerian degeneration. *J Neurosci*. 2005; 25(13): 3478-87.
2. Dahlin LB. Techniques of peripheral nerve repair. *Scand J Surg*. 2008; 97(4): 310-6.
3. Behnam-Rasouli M, Nikravesh M, Mhadavi-Shahri N, Tehranipour M. Post-operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alpha motoneurons, using a sterological counting method (disector). *Iran Biomed J*. 2000; 4 (1) : 45-49
4. Jamalpoor Z, Asgari AR., Nourani MR. Skeletal muscle tissue engineering: Present and future. *J Milit Med*. 2012; 14(2): 77-84.
5. Groves MJ, Christopherson T, Giometto B, Scaravilli F. Axotomy-induced apoptosis in adult rat primary sensory neurons. *J Neurocytol*. 26(9): 615-24.
6. Kerschensteiner M, Schwab ME, Lichtman JW, Misgeld T. In vivo imaging of axonal degeneration and regeneration in the injured spinal cord. *Nat Med*. 2005; 11(5): 572-7.
7. Kirsch M, Campos Friz M, Vougioukas VI, Hofmann HD. Wallerian degeneration and axonal regeneration after sciatic nerve crush are altered in ICAM-1-deficient mice. *Cell Tissue Res*. 2009; 338(1): 19-28.
8. Sahni V, Frostic S. Peripheral nervr regeneration. Royal Liverpool university hospital. *Eur Surg*. 2005; 37(4):187-192.
9. Johnson EO, Charchanti A, Soucacos PN. Nerve repair: experimental and clinical evaluation of neurotrophic factors in peripheral nerve regeneration. *Injury*. 2008; 39 Suppl 3: S37-42.
10. Mozaffarian V. [A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser Pub, 1996.]Persian
11. Asadi S, Khodaghohi F, Esmaeili MA, Tusi SK, Ansari N, Shaerzadeh F, et al. Chemical composition analysis, antioxidant, antiglycating activities and neuroprotective effects of *S. choloroleuca*, *S. mirzayanii* and *S. santolinifolia* from Iran. *Am J Chin Med*. 2011; 39(3): 615-38.
12. Yousefzadi M, Ebrahimi SN, Sonboli A, Miraghasi F, Ghiasi S, Arman M, et al. Cytotoxicity, antimicrobial activity and composition of essential oil from *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*. *Nat Prod Commun*. 2009; 4(1): 119-22.
13. Ali Shahi Nourani F, Sefidkon F, Yousefzadi M, Nemati S, Khajepiri M. Investigation of chemical compositions and anti-microbial effects of essential oils of *Salvia choloroleuca* Rech.f Aell and *Nepeta fissa* C.A. Mey. *J Med Plant*. 2006; 21(4): 435-64.
14. Khaliyazadeh MA, Esmaeili A, Rustaiyan AH, Eslami B, Masoudi SH. Chemical composition of essential oils of three *Salvia* species growing wild in Iran. *Chem Nat Compd*. 2011; 46(6): 836-37.

15. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. The pharmacological effects of salvia species on the central nervous system. *Phytother Res.* 2006 Jun; 20(6): 427-37.
16. Namvaran-Abbasabad A, Tavakkoli-Ghazani F. The effect of *Salvia officinalis* hydroalcoholic extract on PTZ-induced seizure threshold in Vincristine injected mice. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2012; 13 (6): 47-55.
17. Scholey AB, Tildesley NT, Ballard CG, Wesnes KA, Tasker A, Perry EK, et al. An extract of *Salvia* (sage) with anticholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. *Psychopharmacology (Berl).* 2008; 198(1): 127-39.
18. Paknejadi M, Foroohi F, Yousefzadi M. Antimicrobial activities of the essential oils of five *Salvia* species from Tehran province, Iran. *J Paramed Sci.* 2012; 3(2): 4978.
19. Jae Young Cho, Hyun-Joo Chang, Sang-Kil Lee, Hyo-Jong Kim, Jae-Kwan Hwang, Hyang Sook Chun. Amelioration of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by oral administration of β -caryophyllene sesquiterpene. *Life Sci.* 2007; 80: 932-939.
20. Juergens UR, Dethlefsen U, Steinkamp G, Gillissen A, Repges R, Vetter H. Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respir Med.* 2003; 97(3): 250-6.
21. Yanishlieva NV, Marinova EM. Antioxidative effectiveness of some natural antioxidants in sunflower oil. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1996; 203(3): 220-3.
22. Ferdosimakan M, Khayatzade J, Tehranipour M, Rasooli behnam M. The neuroprotective effects of hydroalcoholic extract of *Nigella sativa* on alpha motoneurons degeneration after Sciatic nerve injury in rats. *J Arak Univ Med Sc.* 2013; 16 (1): 79-86.
23. Tehranipour M, Ghadamyari T. The effects of root aquatic extract of *Salvia staminea* on neuronal density of alpha motoneurons in spinal cord anterior horn after sciatic nerve compression in rats. *J Biol Sci.* 2010; 10(1): 48-52.
24. Tehranipour M, Khayatzadeh J, Motevalizadeh E. The study of neuroprotective effects of *Cannabis sativa* seed alcoholic on degeneration of alpha motoneurons in spinal cord after sciatic nerve compression in rats. *Garmsar J.* 1389; 5(2): 11-19.
25. Kiernan J. *Histological and histochemical methods: theory and practice.* 4th ed. London: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2008; 214-39.
26. Ferrer I, Planas AM. Signaling of cell death and cell survival following focal cerebral ischemia: life and death struggle in the penumbra. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2003; 62(4): 329-39.
27. Scott TM, Foote J. A study of degeneration, scar formation and regeneration after section of the optic nerve in the frog, *Rana pipiens*. *J Anat.* 1981; 133(2): 213-25.
28. Schultke E, Kamencic H, Ghong Z, Griebel RW, Juurlink BH. Quercetin promotes functional recovery following acute spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2003; 20(6): 583-91.
29. Schultke E, Griebel RW, Juurlink BH. Quercetin attenuates inflammatory processes after spinal cord injury in an animal model. *Spinal Cord J.* 2010; 48(12): 857-61.
30. Nestic O, Xu GY, McAdoo D, High KW, Hulsebosch C. and Perez-Pol R. IL-1 receptor antagonist prevents apoptosis and caspase-3 activation after spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2001; 18(9): 947-56.
31. Zeighamy Alamdary SH, Khodaghali F, Shaerzadeh F, Ansari N, Sonboli A, khoramian Tusi SS, et al. *Santolinifolia* protect PC12 cells from H₂O₂-induced apoptosis by blocking the intrinsic pathway. *Cytotechnology.* Aug 2012; 64(4): 403-419.

Effects of aqueous extract of *Salvia chloroleuca* leaves on degeneration of alpha motoneurons in spinal cord after sciatic nerve compression in rat

Razavi M, Tehranipour M*, Khayatpour J

Biology Dept., Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, I.R. Iran.

Received: 8/Jul/2013

Accepted: 7/Nov/2013

Background and aims: Neurons are injured under physical, chemical and pathological conditions. The effects of injuries in peripheral nervous system return as retrograde to the cell body of neurons in central nervous system and cause brain and spinal degeneration. This study was done to determine the neuro-protective effects of aqueous extract of *Salvia chloroleuca* leaves on degeneration of alpha motoneurons in spinal cord after sciatic nerve compression in rats.

Methods: This experimental study was carried out on 24 male Wistar rats. Rats were divided into four groups each consisting six members: control, compression, compression with treatment of 50 mg/kg aqueous extract, and compression with treatment of 75 mg/kg aqueous extract. In control group, muscle slitted without injury in the area of sciatic nerve. In compression group and treatment groups, the right leg sciatic nerves got through compression for 60 second. The first extract injection was done intraperitoneally immediately after compression and the second interaperitoneal injection was done 7 days later. 28 days after compression, the Lumbar spinal cord was dissected, fixed and stained with toluidine blue. After tissue processing, 7 micron serial sections stained with toluidine blue, the neurotic density in each group was compared with the compression group.

Results: The results indicated that neuronal density had a significant reduce in compression group and control group ($P < 0.001$). Also, in treatment groups C and D, it had a significant increase compared to the compression group ($P < 0.001$).

Conclusion: The aqueous extract of *Salvia chloroleuca* has neuroprotective effect on spinal cord alpha motoneurons after injury. This could be due to growth and regeneration factors present in the aqueous extract of *Salvia chloroleuca* leaves that induce regeneration process in injured neurons and prevent degeneration intensity.

Keywords: *Salvia chloroleuca*, Degeneration, Sciatic nerve, Neuroprotective.

Cite this article as: Razavi M, Tehranipour M, Khayatpour J. Effects of aqueous extract of *Salvia chloroleuca* leaves on degeneration of alpha motoneurons in spinal cord after sciatic nerve compression in rat. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014; 16(2): 22-30.

***Corresponding author:**

Biology Dept., Mashhad Azad University, Mashhad, I.R. Iran. Tel: 00989155237049,
E-mail: maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir.