

بررسی اثر پیش تغذیه‌ای عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare*) بر میزان نفوذپذیری سدخونی- مغزی و نقص‌های نورولوژیکی در مدل سکته‌ی مغزی موش صحرایی

میثم فروزنده^۱، دکتر محمد رضا بیگدلی^۲، دکتر مهدی رهنما^{۳*}

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۲- دکتری فیزیولوژی، دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

۳- دکتری فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلازما و کاهش ابتلا به بیماری‌هایی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و مغزی می‌شوند. برغم اهمیت موضوع اطلاعات اندکی در این زمینه منتشر شده است. در این مطالعه اثر عصاره‌ی مرزنجوش بر نفوذپذیری سدخونی- مغزی و نقص‌های نورولوژیک ناشی از حوادث عروق مغزی مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. به گروه کنترل آب مقطر داده شد. گروه آزمون نیز عصاره‌ی هیدروالکلی مرزنجوش را به ترتیب با دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به صورت خوراکی توسط گاواژ و به مدت ۳۰ روز دریافت کردند. گروه ششم هم که تیمار و القای ایسکمی در آن‌ها صورت نمی‌گیرد. ۲ ساعت بعد از آخرین گاواژ چهار گروه اول، ۶۰ دقیقه تحت جراحی شریان مغزی میانی^۱ قرار گرفتند و میزان نفوذپذیری سدخونی- مغزی و نقص‌های نورولوژیکی در آن‌ها بررسی شد.

نتایج: یافته‌ها نشان داد که عصاره‌ی مرزنجوش در هر سه دوز ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سبب کاهش میزان نفوذپذیری سدخونی- مغزی و امتیاز نقص‌های نورولوژیک می‌شود ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که عصاره‌ی مرزنجوش به دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان موثر اثر حفاظتی در سکته‌ی مغزی داشته باشد.

کلمات کلیدی: گیاه مرزنجوش، آنتی‌اکسیدان، نفوذپذیری سدخونی- مغزی و نقص‌های نورولوژیک

* آدرس نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

تلفن: ۹۸۹۱۲۱۴۱۳۹۶۹+

پست الکترونیک meh_rahnema@yahoo.com

¹ - Middle Cerebral Artery Occlusion

مقدمه

ایسکمی عارضه‌ای مهم است که باعث کاهش انتقال مواد غذایی و اکسیژن به بافت‌های بدن شده و در نتیجه سبب اختلال در عملکرد آنها می‌شود (۱). این حالت اغلب در اثر عواملی چون ترومبوز، آمبولی و کاهش خون‌رسانی سیستمیک به وجود می‌آید (۲). بعد از برقراری جریان خون مغزی، جریان بازگشتی باعث بازگشت اکسیژن به سلول‌ها و آسیب‌های ناشی از تولید و تهاجم رادیکال‌های آزاد سوپراکسید می‌شود. این موضوع می‌تواند روی سلول‌ها اثر گذاشته و باعث نکروز و مرگ فیزیولوژیک بافتی^۲ گردد (۳).

مطالعات پایه و بالینی نشان می‌دهد که تولید رادیکال‌های آزاد یکی از مهمترین عواملی است که متعاقب سکنه مغزی موجب افزایش فاکتورهای التهابی و اکسیداتیو می‌گردد (۴). با ایجاد ایسکمی، مغز به علت کاهش غلظت اکسیژن به گلیکولیز بی‌هوازی روی می‌آورد که این فرآیند از نظر تامین انرژی ناکارآمد است (۵). این کمبود انرژی باعث بروز یکسری آبشارهای بیوشیمیایی آسیب زنده شده و در نهایت مرگ سلولی از نوع نکروز رخ می‌دهد، مرگ سلول‌های اندوتلیالی باعث تخریب سد خونی مغزی و در نتیجه ایجاد ادم مغزی می‌شود (۶). با توجه به این موضوع مدیریت رادیکال‌های آزاد و افزایش توان آنتی‌اکسیدانی در بدن می‌تواند سبب کاهش آسیب به نورون‌ها شده و از شکستن سد خونی-مغزی جلوگیری کند. گیاهان یکی از منابع مهم آنتی‌اکسیدان‌ها محسوب می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بیماری‌هایی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و سکنه‌ی مغزی می‌شوند. از آنجایی که آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی موجود در مواد غذایی، دارای اثرات جانبی بر بدن می‌باشند، نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی که سمیت کمتر و اثربخشی بیشتری دارند، یک ضرورت جدی برای بدن محسوب می‌شوند (۷). گیاه مرزنجوش از تیره‌ی نعناعیان، پراکنش وسیع جهانی دارد. این گیاه در مناطق شمال و شمال غرب ایران پراکندگی بیشتری دارد و در مناطق گرم جنوبی یافت نمی‌شود (۸). مشخص شده است که تجویز داخل صفاقی عصاره گیاه مرزنجوش یادگیری تمایزی موش‌های صحرایی در ماز T

شکل را بهبود می‌بخشد (۹). از مهم‌ترین ترکیباتی که در عصاره‌ی این گیاه مشخص شده است، می‌توان به مونوترپن‌های فنلی تیمول (۳۵ درصد) و کارواکرول (۳۲ درصد) اشاره کرد. مونوترپن‌های فنولی تیمول به راحتی می‌توانند از سدخونی-مغزی عبور کرده و به صورت وابسته به دوز اثرات آنتی‌اکسیدانی اعمال کنند (۱۰،۱۱).

از دیگر ترکیبات این گیاه می‌توان به هیدروکربن‌های P-سیمین، آلفا و گاماتریپین اشاره کرد (۱۲). این ترکیبات نیز می‌توانند با عبور از سد خونی-مغزی اثرات خود را اعمال کنند. ترکیبات اکسیژن‌دار مانند اورسالیک اسید و بورنتول نیز در این گیاه مشخص شده‌اند (۱۳،۱۴). بورنتول یک مونوترپن دو حلقه‌ای است که دارای اثر ضد دردی بوده و افزایش دهنده‌ی گیرنده‌ی GABA A است (۱۵). همچنین رزمارینیک اسید، اریوسیتین، آپی‌ژنین گلیکوزید و اورینگانوال از ترکیبات مهم دیگر این گیاه هستند که اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند (۱۶،۱۷). علاوه بر رزمارینیک اسید و اورسالیک اسید، سایر ترکیبات فلاونوی، فلاونولی و فلاونوئیدها، این گیاه را به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار موثر مطرح کرده است (۱۸،۱۹). تیمول، کارواکرول، P-سیمین و بورنتول به صورت وابسته به دوز آنزیم استیل کولین استراز را مهار می‌کنند (۱۹). اورسالیک اسید در مهار عوامل همولیتیک خون نیز اثر دارد و دارای اثرات ضد سرطانی و ضدالتهابی است (۲۰).

تجویز خوراکی تیمول در موش‌های صحرایی غلظت سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را کاهش می‌دهد. گزارشات نشان می‌دهد که حضور آنتی‌اکسیدان‌ها در مغز سبب بهبود بیماری‌های دستگاه عصبی می‌شود (۲۱،۲۲).

مشخص شده که رادیکال‌های آزاد نقش اصلی را در آسیب‌های ناشی از حوادث عروق مغزی بر عهده دارند. با توجه به مطالب اشاره شده عصاره گیاه مرزنجوش دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی متعددی است که می‌توانند سبب کاهش رادیکال‌های آزاد شوند. به همین دلیل در این مطالعه اثر عصاره این گیاه بر نفوذپذیری سدخونی-مغزی و نقص‌های نورولوژیک در مدل سکنه مغزی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

² -Tissue apoptose

روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از موسسه انستیتو پاستور کرج خریداری و در حیوان‌خانه‌ی مرکز تحقیقات در قفس‌های مناسب و در محدوده‌ی دمایی 22 ± 2 درجه سانتیگراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. این حیوانات به صورت نامحدود به آب و غذا دسترسی داشتند و نگهداری آنها مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت بود.

حیوانات مورد مطالعه به ۵ گروه که هر کدام شامل ۷ سر موش صحرایی نر بودند، تقسیم شدند: گروه کنترل آب مقطر دریافت کردند و سه گروه آزمایشی عصاره‌ی هیدروالکلی مرزنجوش را به میزان 100 mg/kg و ۷۵، ۵۰ به مدت ۳۰ روز، به صورت خوراکی و از طریق گاوژ دریافت کردند. آخرین گاوژ برای هر موش صحرایی ۲ ساعت قبل از جراحی انجام شد. در ضمن برای گروه شم تیمار و القای ایسکمی در آنها صورت نگرفت. گاوژ حیوانات هر روز ساعت ۱۱-۱۰ صبح انجام و دوزها بر اساس مطالعات قبلی انتخاب می شدند (۲۳). تمامی اصول اخلاقی و پژوهشی کار با حیوانات در این مطالعه رعایت گردید.

عصاره‌گیری: گیاه مرزنجوش از مراتع شهرستان خدابنده از توابع استان زنجان جمع‌آوری شده و توسط گروه گیاه شناسی و هرباریوم دانشگاه آزاد زنجان (۲۵۹۱۱۱) از نظر تاکسونومیک تایید شد. گیاهان جمع‌آوری شده در سایه خشک شده و سپس پودر شدند. عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام گرفت (۷). ۱۰۰ گرم از پودر در یک ارلن با الکل ۷۰ درصد مخلوط شد به طوری که حلال تا ۲ سانتی‌متر بالای پودر را بپوشاند. درب ارلن با ورق آلومینیومی پوشانده شده و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. در طول شبانه روز هر دو ساعت یکبار با یک همزن شیشه‌ای مخلوط می‌شد. بعد از اتمام مدت مورد نظر، مخلوط در دستگاه روتاری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا حلال جدا گردد. پس از تغلیظ، عصاره در آون با دمای ۵۰ درجه قرار گرفت تا پودر عصاره به دست آید. سپس هنگام گاوژ دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم از عصاره تهیه شد. **ایجاد مدل سکته‌ی مغزی:** حیوانات بعد از توزین، با داروی کلرال هیدرات (مرک، آلمان) به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن بی‌هوش شدند. جراحی مدل‌سازی انسداد شریان

میانی مغز یا همان^۳ مطابق دستورالعمل لونگا و همکاران انجام شد (۲۴). به طور خلاصه، تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون ۳-۰ از طریق تنه شریان کاروتیدی خارجی^۴ وارد رگ شریانی راست شده و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی^۵ از میان شریان کاروتیدی داخلی^۶ با پتریگوپالاتین بسته ادامه داده شد. در اثر تماس نخ بخیه و شریان مغزی قدامی جریان خون از هر طرف به شریان کاروتید داخلی^۷ بسته شد. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت در پیشروی نخ و ورود حدود ۲۰ میلی‌متر طول نخ از تنه‌ی شریان کاروتیدی خارجی مشخص گردید. بعد از ۶۰ دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت.

سنجش نفوذپذیری سد خونی- مغزی: استحکام سد خونی- مغزی توسط اندازه‌گیری میزان خروج اوانس بلو (EB) ارزیابی شد. نخست، حیوانات بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی از طریق ورید دم محلول اوانس بلوی ۲ درصد را به میزان ۴ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد از برقراری جریان مجدد خون، بعد از بی‌هوش کردن موش‌ها ناحیه قفسه سینه آنها باز شده و ۲۵۰ میلی‌لیتر سالین از طریق بطن چپ به آنها تزریق شد تا اوانس بلو داخل رگی پاک شده و مایع پرفیوژ بی‌رنگ از دهلیز راست خارج شود. سپس، مغز حیوان خارج شد. برای اندازه‌گیری میزان خروج EB، بافت مغز در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات هموژن شده و برای رسوب پروتئین به آن ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک ۶۰ درصد اضافه گردید. سپس ۳ دقیقه با ورتکس به هم زده و ۳۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد خنک شد. آن‌گاه به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و جذب نوری اوانس بلو بخش رویی توسط اسپکتوفتومتر (Genova, Jenway) در جذب ۶۱۰ نانومتر اندازه‌گیری و مطابق منحنی استاندارد، غلظت آن محاسبه گردید (۲۵).

ارزیابی رفتاری حاصل از سکته مغزی: معاینه‌های نورولوژیک ۲۴ ساعت بعد از القای ایسکمی انجام شد. یافته‌های نورولوژیک در ۵ مقیاس دسته بندی شد: مقیاس صفر (۰) هیچ

³ Middle Cerebral Artery Occlusion

⁴ External Carotid Artery

⁵ Anterior Cerebral Artery

⁶ Internal Carotid Artery

⁷ Middle Carotid Artery

همچنین پیش تغذیه‌ای این عصاره امتیاز نقص‌های نورولوژیک را نیز در هر سه دوز کاهش داد.

القای ایسکمی سبب افزایش میزان نفوذ پذیری در نیمکره‌ی آسیب دیده (نیمکره‌ی راست) گروه کنترل گردید ($p < 0.001$). همچنین غلظت اونس بلو در نیمکره‌ی آسیب دیده‌ی (راست) گروه کنترل نسبت به نیمکره‌ی راست گروه شم تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$).

پیش تغذیه‌ای با عصاره‌ی هیدروالکلی مرزنجوش سبب کاهش غلظت اونس بلو در نیمکره‌ی آسیب دیده در هر سه دوز ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ($p < 0.001$) نسبت به گروه کنترل گردید. بین دو نیمکره‌ی راست و چپ دوزهای ۵۰ و ۷۵ میلی گرم تفاوت معنی‌داری وجود داشت (به ترتیب $p < 0.001$ و $p = 0.03$). اما بین دو نیمکره‌ی گروه دریافت کننده‌ی دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، که نشان دهنده‌ی اثر بهتر این دوز از عصاره می‌باشد. بین نیمکره‌ی چپ گروه‌های شم، کنترل، دوز ۵۰، دوز ۷۵ و دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۱). امتیاز نقص‌های نورولوژیک در هر سه دوز عصاره‌ی هیدروالکلی مرزنجوش یعنی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داشت (به ترتیب $p = 0.026$ ، $p = 0.011$ و $p = 0.001$) (شکل ۱).

گونه عارضه نورولوژیک نشان ندادند. مقیاس یک (نارسایی کامل در انتهای پنجه‌های جلویی)، نقص نورولوژیک کانونی خفیف، مقیاس دو (به چپ چرخیدن) نقص نورولوژیک کانونی متوسط و مقیاس سه (افتادن به سمت چپ) نقص کانونی شدید در نظر گرفته شد. موش‌های صحرایی مقیاس چهار به طور خودبخودی نمی‌توانستند راه بروند و سطح هوشیاری پایین داشتند؛ و به موش‌های صحرایی که طی ۲۴ ساعت بعد جراحی می‌مردند در حالی که بعد از رنگ‌آمیزی بخش وسیعی از مغزشان آسیب دیده و مرگ منحصر به سکتة مغزی بود، مقیاس ۵ داده شد (۲۴).

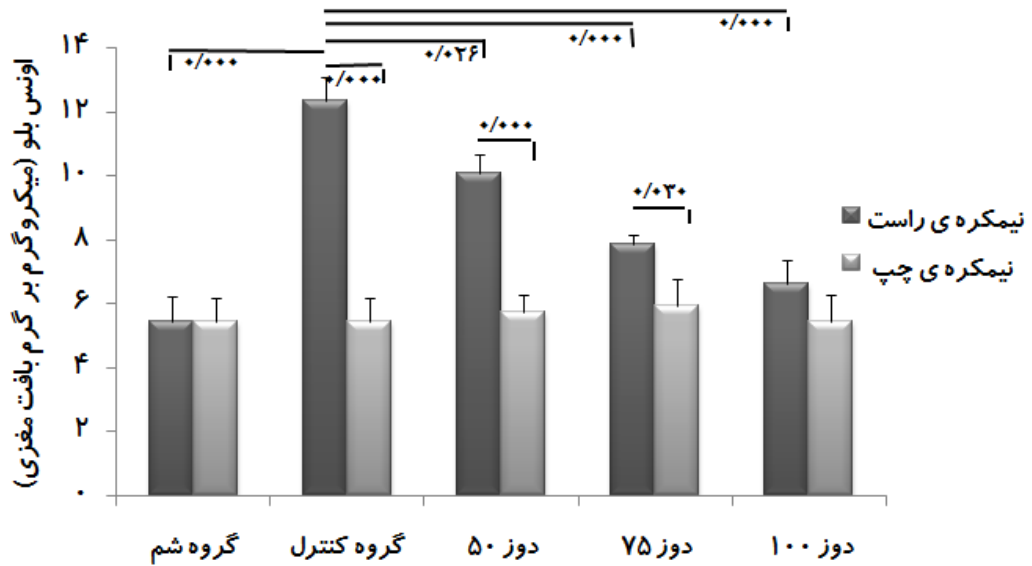
نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. با توجه به این که داده‌ها کمی بوده و با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف، فرض نرمال بودن برقرار گردید، میزان نفوذپذیری سد خونی-مغزی با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و مقایسه‌ی دو به دوی میانگین‌ها با آزمون تعقیبی LSD انجام شد.

نقص‌های نورولوژیک با استفاده از آزمون من ویتنی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در همه آزمون‌ها میزان خطا ۰/۰۵ لحاظ شد. پیش تغذیه‌ای با عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه مرزنجوش در هر سه دوز ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سبب کاهش میزان نفوذپذیری سد خونی-مغزی، نسبت به گروه کنترل شد.

جدول ۱: مقایسه نقص‌های نورولوژیک

نتایج آماری	میانگین	میان	نقص‌های نورولوژیک							تعداد	گروه آزمایشی	کد گروه
			۰	۱	۲	۳	۴	۵				
	۴	۲.۵۸	۰	۰	۰	۰	۲	۲	۲	۷	کنترل	۱
۱:۲ ($p = 0.026$)												
۱:۳ ($p = 0.011$)	۲	۲.۴۲	۰	۱	۲	۳	۱	۰	۰	۷	دوز ۵۰ mg/kg	۲
۱:۴ ($p = 0.001$)												
۲:۴ ($p = 0.017$)	۲	۲	۰	۱	۱	۳	۱	۱	۰	۷	دوز ۷۵ mg/kg	۳
	۱	۱	۰	۰	۰	۲	۳	۲	۰	۷	دوز ۱۰۰ mg/kg	۴
	-	-	۲	۴	۶	۸	۵	۳	۰	۲۸	کل	



نمودار ۱. مقایسه غلظت اوانس بلو در مغز موش‌های صحرایی گروه کنترل، شم و تیمار شده با عصاره

بحث

مشخص شد که افزایش سطح کلسترول و کلسترول استر مغزی در اثر مصرف روغن زیتون باعث ایجاد اثرات حفاظتی بر مغز شده و از این طریق باعث افزایش استحکام سد خونی-مغزی گردیده است. این اثرات به حضور ترکیبات فنولی و اسیدهای چرب اشباع نشده در روغن زیتون نسبت داده شد (۲۶). شکسته شدن سدخونی-مغزی می‌تواند نتیجه فعال شدن متالوپروتئینازهای ماتریکسی باشد. از آنجایی که متالوپروتئینازهای ماتریکسی می‌توانند سبب مهاجرت نوتروفیل‌ها به بافت‌ها شده و در نتیجه سبب ایجاد چرخه‌ی معیوب و افزایش التهاب گردند. همچنین متالوپروتئینازهای ماتریکسی سبب تخریب پروتئین‌های مسئول برقراری اتصالات محکم مانند کلودین و اکلودین می‌شوند (۲۷). بعلاوه ترکیبات فنولی موجود در برگ زیتون می‌تواند با مهار فعالیت فاکتور رونویسی NFκB از فعال شدن متالوپروتئینازهای ماتریکسی و در نتیجه از تخریب سد خونی-مغزی جلوگیری کنند (۲۸). تزریق داخل صفاقی روغن زیتون قبل از القای ایسکمی سبب افزایش جامعیت سد خونی-مغزی و کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیک می‌گردد. در واقع ترکیبات فنولی روغن زیتون، به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی، از افزایش رادیکال‌های آزاد جلوگیری کرده و در نتیجه سبب حفظ سلامت سیستم سدخونی-مغزی می‌شود (۲۹). به اعتقاد صاحب‌نظران

ویتامین C، اختلالات نورولوژیک را کاهش می‌دهد. ویتامین C دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و جزء آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنژیمی محسوب می‌شود (۳۰). همچنین مشخص شده است که عصاره‌ی بومادران به دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهاب سبب کاهش نقص‌های نورولوژیک می‌گردد (۳۱). نتایج یک بررسی نشان داد که مرزنجوش دارای سطوح بالایی از فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تغذیه‌ای است (۶۹-۴۲ میلی مول در ۱۰۰ گرم پودر گیاه خشک شده) (۳۲). در بررسی اثرات آنتی-اکسیدانی مرزنجوش مشخص شده است که اثرات آنتی-اکسیدانی وابسته به دوز می‌باشد و این اثر به وجود غلظت‌های بالای ترکیبات فنولی از جمله کارواکرول (۲۶/۹۷ درصد) و متیل تیمول (۱/۳ درصد) نسبت داده شده است (۳۳). گروهی از محققین به بررسی اثر مرزنجوش و توکوفرول بر اکسیداسیون لیپیدها در بوقلمون پرداخته و دریافته‌اند که این عصاره سبب افزایش مقاومت بافت‌ها در برابر اکسیداسیون می‌شوند. آن‌ها این اثر را به کارواکرول و تیمول در مرزنجوش نسبت دادند (۳۴). در یک بررسی اثر اورسالیک اسید مشتق شده از مرزنجوش بر سمیت عصبی ناشی از بت‌آمیولید در رده‌ی سلول‌های عصبی PC12، مطالعه شد و مشخص گردید که اورسالیک اسید، سلول‌های عصبی را از آسیب ناشی از بت‌آمیولید که به واسطه‌ی افزایش رادیکال‌های اکسیژن فعال رخ می‌دهد، محافظت می‌کند (۳۵).

نتیجه‌گیری

دارند، استفاده گردد. همچنین به دلیل شباهت مکانسیم ایسکمی قلبی و مغزی، ممکن است این عصاره بتواند با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از گرفتگی عروق کرونر قلبی نیز جلوگیری کند. گرچه مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله محققان از زحمات جناب آقای دکتر مصطفوی، خانم قاسملو، خانم قمری و همچنین خانم اسلامی به خاطر همکاری در اجرای مطالعه سپاس و قدردانی می‌نمایند.

با توجه به این مطالعات به نظر می‌رسد که مرزنجوش به دلیل داشتن مقادیر بالایی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله کارواکرول و رزمارینیک اسید، سبب کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد و همچنین افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های بدن شده و در نتیجه نوروپاتی‌ها را از اثر آسیب‌رسان آن‌ها محافظت می‌کند. بدین ترتیب سبب افزایش استحکام سدخونی-مغزی و کاهش امتیاز نقص‌های نورولوژیک می‌گردد. به نظر می‌رسد بتوان از این عصاره برای پیشگیری از عوارض ناشی از سکته مغزی در بیمارانی که در معرض کاهش خون‌رسانی به مغز قرار

References

1. Hadjinikolaou L, Kotidis K, Galinanes M. Relationship between reduced elasticity of extracardiac vessels and left main stem coronary artery disease. *Eur Heart J* 2004;25(6):508-13.
2. White B, Sullivan J, DeGracia D, O'Neil B, Neumar R, Grossman L, et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *J Neurol Sci*. 2000;179(1-2):1-33.
3. Weglicki W, Dickens B, Mak I. Enhanced lysosomal phospholipid degradation and lysophospholipid production 1984 due to free radicals. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984;124(1):229-35.
4. Sanchez-Moreno C, Doshe J, Scott T, Thaler D, Folstein M, Martin A. Decreased levels of plasma vitamin C and increased concentrations of inflammatory and oxidative stress markers after stroke. *Strok*. 2004;35:163-8.
5. Vannucci Ascherio A, Rimm E, GIO E, Spiegelman D, Stampfer M, Willett W. Dietary fat and risk of coronary heart disease in men: cohort follow up study in the United States. *BMJ*. 1996;313:84-90.
6. Cunningham L, Wetzel M, Rosenberg G. Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia. *Glia*. 2005;50(4):329-39.
7. Nichols M, Townsend N, Luengo-Fernandez R, Leal J, Gray A, Scarborough P, et al. European Cardiovascular Disease Statistics. European Heart Network, Brussels, European Society of Cardiology, Sophia Antipolis;2012. P.8-14.
8. Mirzaee A, Jaberi Hafashani H, Madani A. Antioxidant activities, total phenols and total Flavonoids assay of *Origanum vulgare*, *Teucrium polium* and *Thymus daensis* J of Hormozgan Univ Med Sci. 2011;15(4):285-94.
9. Abbasnejad M, Mirtajadini M, Afarinesh M, Hassibi N. Evaluation of origanum leaves extract on spatial learning in male rats. *J Physio and Pharma* 2006;10(2):143-50.
10. Youdim K, Deans S. Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. *Br J Nutr* 2000;83(1):87-93.
11. Youdim K, Deans S. Beneficial effects of thyme oil on age-related changes in the

- phospholipid C20 and C22 polyunsaturated fatty acid composition of various rat tissues. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1438(1):140-6.
- 12.Kulisic T, Radonic V, Katalinic M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem* 2004;85(4):633-40.
- 13.Heo H, Cho H, Hong B, Kim H, Heo T, Kim E, et al. Ursolic acid of *Origanum majorana* L. reduces Abeta- induced oxidative injury. *Mol Cells* 2002;13(1):5-11.
- 14.Vagi E, Rapavi E, Hadolin M, Vasarheline K, Balazs A, blazovics A, et al. Phenolic and triterpenoid antioxidants from *origanum majorina* L. herb and extracts obtained with different solvents. *Agric Food Chem* 2005;53(1):17-21.
- 15.Granger R, Campbell E, Johnston GA, (+)-And (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABA(A) receptors. *Biochem Pharmacol* 2005;69:1101-11.
- 16.Matsuura H, Chiji H, Asakawa C, Amano M, Yoshihara T, Mizutani J. radical scavengers from dried leaves of oregano (*Origanum vulgare*). *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003;67(11):2311-6.
- 17.Kulisic T, Krisko A, Dragovic-Uzelac V, Milos M, Pifat G. The effects of essential oils and aqueous tea infusions of oregano (*Origanum vulgare* L. spp.hirtum), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) on the copperinduced oxidation of human low-density lipoproteins. *Int J Food Sci Nutr* 2007;58(2):87-93.
- 18.Meizoso I, Marin F, Herrero M, Senorans F, Reglero G, Cifuentes A, et al. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *J Pharm Biomed Anal*. 2006;41(5):1560-5.
- 19.Lynch M. Long term potentiation and Memory. *Physiol rev*. 2004;84(1):87-136.
- 20.Lee H, Nam G, Kim S, Lee S. Phytocomponents of triterpenoids, oleanolic acid and ursolic acid, regulated differently the processing of epidermal keratinocytes via PPAR-alpha pathway. *Exp Dermatol*. 2006;15(1):66-73.
- 21.Mecocci P, Mariani E, Cornacchiola V, Polidori M. Antioxidants for the treatment of mild cognitive impairment. *Neurol Res* 2004;26(5):598-602.
- 22.Huang M, Wu S, Shen A. Stimulatory actions of thymol, a natural product, on $Ca(2+)$ -activated $K(+)$ current in pituitary GH(3) cells. *Planta Med* 2005;71(11):1098-.
- 23.Ramadan G, El-Beih M, Arafa M, Mai M. Preventive Effects of Egyptian Sweet Marjoram (*Origanum majorana* L.) Leaves on Haematological Changes and Cardiotoxicity in Isoproterenol-Treated Albino Rats. *Cardiovasc Toxicol*. 2013;13(2):100-9.
- 24.Longa E, Weinstein P, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989;20:84-91.
- 25.Bigdeli M, Hajizadeh S, Froozandeh M, Heidarianpour A, Rasoulilian B, Asgari A, 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.
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 Of Zanjan Univ Med Sci*. 2013;21(86):56-64.
27. Wang L, Geng C, Jiang L, Gong D, Liu D, Yoshimura H, et al. The anti atherosclerotic effect of olive leaf extract is related to suppressed inflammatory response in rabbits with experimental atherosclerosis. *Eur J Nutr* 2008;47(5):235-43.
28. Rabiei Z, Bigdeli M, Mohagheghi F. The effect of various doses of olive leaf extract on brain lipid levels and blood brain barrier permeability in rat stroke model. *J Pejouhandeh* 2012;17(2):67-72.
29. Sarshoori J, Asadi M, Mohammadi M. Effect of olive oil on the cerebral reperfusion following ischemia injuries in rats. *J of Birjand Univ of Med Sci* 2014;21(1):56-67.
30. Allahtavakoli M, Rezaee H, Kamrany N, Shamsizadeh A, Moloudi R, Amin F, et al. Effect of Ascorbic Acid on Infarct Volume and Neurological Deficits after the Embolic Model of Stroke in Rat. *J of Rafsanjan Univ Med Sci*. 2009;8(1):49-58.
31. Alimohamadi R, Naderi S, Imani E, Shamsizadeh A, Mobini M, Rezazadeh H, et al. The Effects of the Ethanolic Extract of *Vitex Agnus Castus* on Stroke Outcomes in Ovariectomized Mice. *J of babol Univ Med Sci*. 2015;17(3):20-7.
32. Steinar D, Senoo H, Wake K, Kari H, Blomhoff R. several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *J Nutr*. 2003;133(5):1286-90.
33. Alma M, Mavi A, Yildirim A, Digrak M, Hirata T. Screening Chemical Composition and in Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oils from *Origanum syriacum L.* Growing in Turkey. *Biol Pharm Bull*. 2003;26(12):1725-9.
34. Papageorgio G, Botsoglou N, Govaris A, Giannenas I, Iliadis S, Botsoglou E. Effect of dietary oregano oil and α -tocopheryl acetate supplementation on iron-induced lipid oxidation of turkey breast, thigh, liver and heart tissues. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2003;87(9-10):324-35.
35. Heo H, Cho H, Hong B, Kim H, Heo T, Kim E, et al. Ursolic acid of *Origanum majorana L.* reduces A β -induced oxidative injury. *Mol Cells*. 2002;13(1):5-11.

Survey on pre-feeding effect of hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* on blood-brain barrier (BBB) permeability and neurologic deficits in rat stroke model

Meysam Foroozandeh¹, Mohhamad Reza Bigdeli,² Mehdi Rahnema^{*3}

1- MSc of Physiology, Department of Physiology, Biology Research Center, Zanjan-Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

2- PhD of Physiology, Faculty of Biological Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

3- PhD of Physiology, Department of Physiology, Biology Research Center, Zanjan-Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

**Corresponding Address: Biology Research Center, Zanjan-Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
Email: meh_rahnema@yahoo.com*

Abstract

Background & aims: Natural antioxidants increase the strength of plasma antioxidants and decrease the risk of diseases such as cancer, heart attack and stroke. Therefore this study is conducted to investigate the effect of hydroalcoholic extracts of *Origanum vulgare* on blood-brain barrier (BBB) permeability and neurologic deficits.

Methods: This is an experimental study on 35 male Wistar rats which divided randomly into 5 groups of 7 members. Control group received distilled water and 3 groups received hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* with 50, 75 and 100 mg/kg doses through gavage feeding for 30 days. Sham group received no treatment and Ischemia induction. Two hours after the last gavage feeding of the first 4 groups, Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO) operation was done on the subjects for 60 minutes and blood-brain barrier (BBB) permeability and neurologic deficits were investigated.

Results: Findings show that *Origanum vulgare* extracts in all three doses (50, 75, 150 mg/kg) decrease the blood-brain barrier permeability and neurologic deficits. ($P < 0.05$)

Conclusion: It seems that *Origanum vulgare* extracts has preventive effects on stroke due to having antioxidants compounds.

Keywords: *Origanum vulgare*, antioxidants, blood-brain barrier permeability, neurologic deficits