مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هفدهم، شماره ۶، خرداد ۱۳۹۴، صفحه ۴۷-۴۰

اثر محافظت نورونی عصاره آبی گیاه *Achillea millifolium* در برابر تخریب رتروگراد نورونهای شاخ شکمی نخاع پس از فشردگی عصب سیاتیک در موش صحرایی

علی شهرکی(PhD)*[1]، عزیزالرحمان رضازهی (MSc)[1]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان

دریافت: ۹۳/۶/۲۳، اصلاح:۹۳/۹/۱۵، پذیرش:۹۳/۱۱/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: آسیب های وارده به اعصاب محیطی یکسری تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی را در نورونها تحریک می کند که نه تنها در محل آسیب دیده تمرکز یافته بلکه در جسم سلولی نورونها در طناب نخاعی و یا عقده عصبی هم اتفاق می افتد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات محافظتی عصاره آبی گیاه آکیلیا میلیفولیوم روی دانسیته نورونی شاخ شکمی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک می باشد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی روی ۳۰ راس موش صحرایی نر نژاد ویستار که به طور تصادفی به ۵ گروه: گروه I کنترل، گروه II کمپرسیون، گروه III کمپرسیون+تزریق عصاره آبی گیاه با دوز ۲۵ mg/kg، گروه IV کمپرسیون+تزریق عصاره آبی گیاه با دوز ۵۰ mg/kg، گروه V کمپرسیون+تزریق عصاره آبی گیاه با دوز ۷۵ mg/kg تقسیم شدند، انجام گرفت. موشها بیهوش شده و پوست ناحیه ران سمت راست را برش داده، آنگاه عضلات را کنار زده تا عصب سیاتیک نمایان شود. با استفاده از پنس، خون بند عصب سیاتیک تحت کمپرسیون شدید قرار گرفت، پس از آن عضلات و پوست بخیه گردید. تجویز عصاره آبی گیاه با دوزهای مربوط به هر گروه بصورت داخل صفاقی و بمدت سه هفته و هر هفته یک تزریق صورت گرفت. پس از گذشت ۲۸ روز از عمل جراحی، موشها فیکس شده و بخش کمری طناب نخاعی (L5،L4) آنها خارج شد. از نمونه نخاع مقاطع بافتی تهیه شد و با رنگ آمیزی تولوئیدین آبی و عکسبرداری تراکم نورونهای حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: تراکم نورونی در گروه کمپرسیون نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد (۵۹±۹۴۳ در مقابل ۵۱/۱±۱۶۲۰، p<۰/۰۰۱). تراکم نورونی در گروههای تیمار نسبت به گروه کمپرسیون افزایش معنی داری را نشان داد. دوز ۷۵ mg/kg بیشترین محافظت نورونی را نسبت به گروه کمپرسیون نشان داد (۱۳۹/۷±۱۴۲۱ در مقابل ۵۹±۹۴۳، p<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: عصاره آبی گیاه Achillea millifolium به خوبی نورونهای حرکتی شاخ قدامی نخاع را در برابر آسیب های روتروگراد به هنگام کمپرسیون عصب سیاتیک محافظت می کند.

واژه های کلیدی: عصب سیاتیک، عصاره آبی، آکیلیا میلیفولیوم، محافظت نورونی.

مقدمه

درمان و ترمیم آسیب های عصبی یکی از اهداف اساسی در پزشکی و نوروفارماکولوژی می باشد. تصادفات و جراحات وارده به بدن، بیماری هایی نظیر دیابت و عفونتها می توانند آسیب دائمی به اعصاب وارد کنند و به دنبال آن درد مزمن شدید، از دست دادن حس و کنترل حرکتی یا فلجی اتفاق می افتد. شیمی درمانی در سرطان نیز ممکن است به طور غیر قابل برگشتی به اعصاب آسیب بزند و رژیم های درمانی را تحت تاثیر قرار داده و کیفیت زندگی افراد مبتلا به سرطان را تحت تاثیر قرار دهد. در حال حاضر تحقیقات گسترده ای برای شناسایی مکانیسم های پایه آسیب های عصبی و رهیافت های جدید برای محافظت نورونی و ترمیم عصبی جریان دارد. مطالعات نشان داده که بعد از آسیب اعصاب محیطی یک رشته وقایع پیچیده و کاملا منظم شروع می شوند تا بافت آسیب دیده را خارج سازند و روند ترمیم را آغاز کنند. بر خلاف ترمیم سلولی در سایر نواحی بدن، پاسخ اعصاب محیطی به آسیب بصورت روند میتوز و تکثیر سلولی نمی باشد. در واقع پاسخ این اعصاب به آسیب و صدمه بسادگی در ناحیه آسیب دیده و بصورت موضعی اتفاق نمی افتد، بلکه جسم سلولی نورون که در طناب نخاعی یا عقده عصبی قرار دارد را درگیر می سازد (۲و۱). از آنجاییکه جسم سلولی نورون مرکز متابولیکی نورون می باشد، در صورت صدمه به نورون، جسم سلولی آن تخریب شده و باعث مرگ نورون خواهد شد که تحت عنوان دژنراسیون والرین خوانده می شود. در سیستم اعصاب محیطی بعد از آسیب عصبی، رژنراسیون و ترمیم اتفاق افتاده اما در سیستم اعصاب مرکزی ترمیم صورت نمی گیرد. به هنگام قطع یا کمپرسیون عصب دژنراسیون والرین در بخش خلفی

▣ این مقاله حاصل پایان نامه عزیزالرحمان رضازهی دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر علی شهرکی
آدرس: زاهدان، دانشگاه سیستان و بلوچستان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۵۴-۳۳۴۴۶۵۶۵
E-mail: ashahraki@science.usb.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.6.3]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.40]

آکسون شروع می شود. سد خونی- عصبی از سلولهای اندوتلیال فاقد منفذی تشکیل شده است که بوسیله اتصالات محکم به هم متصل شده اند. این سد حرکت پروتئین ها، هورمونها، یونها و مواد سمی را از خون به بافت عصبی محدود می سازند (۴و۳).

بعد از آسیب اعصاب محیطی نفوذپذیری این سد افزایش می یابد و اجازه می دهد فاکتورها و سلولهای خونی که ترمیم عصب را تسهیل می‌کنند، وارد عصب گردند. یکی از مهمترین سلولهای خونی که وارد ناحیه آسیب دیده می شوند، ماکروفاژها هستند که بقایای تخریب شده میلین و اکسون را خارج می سازند. طی این پروسه غشای پایه اکسون که سلولهای شوان را احاطه کرده است سالم باقی می ماند. سلولهای شوان در لوله غشای پایه کنار هم قرار می‌گیرند و فاکتورهای رشد را سنتز می کنند. انشعابات اکسون در قسمت پروکسیمال آن جذب این فاکتورها می گردد. لوله های غشا پایه برای اکسونهای رژنره مسیرهایی را فراهم می کنند تا به اندام هدف نظیر عضله یا پوست برسد و آرایش مجدد نوروژنیک پیدا کند. آنگاه سلولهای شوان اکسونهای تازه تشکیل شده را مجددا میلینه می کنند. به هر حال میلین تازه تشکیل شده از میلین طبیعی نازکتر است و مسیرهای بین گرهی از مسیرهای طبیعی کوتاهتر هستند. بلافاصله پس از ترمیم جسم سلولی نورون از تورم خارج شده و به حالت نرمال باز می گردد (۶و۵و۱). گیاه Achillea millifolium دارای حدود ۱۳۰ گونه دائمی یا چند ساله است که به صورت تیپیک دارای برگهای پرزدار و معطر هستند و خوشه های پهن گلهای کوچک بالای ساقه قرار دارد. از آنجایی که این گلها دارای رنگهای متنوعی هستند، تعدادی از گونه های آنها گیاهان باغی مورد علاقه مردم می باشند (۷). اکثر گونه های آکیلیا بعنوان گیاه دارویی استفاده می شوند و دارای کاربردهای درمانی می باشند. بومیان آمریکا و افرادی که ابتدا به این منطقه وارد شدند آنرا برای التیام زخمها استفاده می کردند. گونه های آکیلیا مهمترین گیاهان اقتصادی در منطقه آناتولی ترکیه هستند و چای گیاهی آن برای درمان دردهای شکمی و نفخ شکم استفاده می شود (۸و۷).

بسیاری از استفاده های درمانی این گیاه بوسیله مطالعات بالینی و تجربی تایید شده است. گزارشات متعددی درباره اثرات ضد التهابی (۹)، ضداسپاسم (۱۰)، آنتی اکسیدانی (۱۱)، دیافورتیک، مدری، ضد ترومبوز، پایین آورنده فشار خون و عامل ایجاد کننده قاعدگی گونه آکیلیا وجود دارد (۱۲). به هر حال هنوز جنبه های زیادی از اثرات گیاه آکیلیا وجود دارد که بایستی مورد تحقیق و بررسی قرار گیرد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره آبی گیاه Achillea millifolium روی محافظت نورونهای شاخ شکمی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در موشهای صحرایی می باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره آبی گیاه: ابتدا گیاه آکیلیا میلیفولیوم در تیر ماه ۱۳۹۱ از مجتمع گلخانه ای دانشگاه سیستان و بلوچستان جمع آوری و در سایه خشک گردید. شناسایی دقیق گونه گیاه بوسیله متخصص گیاه شناسی گروه زیست شناسی دانشگاه سیستان و بلوچستان صورت گرفت. نمونه هرباریومی گیاه با کد ۱۲۳۸ در هرباریوم گروه زیست شناسی دانشگاه سیستان و بلوچستان نگهداری می شود. برای تهیه عصاره آبی گیاه مقدار ۲۰ گرم از ساقه، برگ و گلهای آن را آسیاب نموده و درون بشر با ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته، به مدت ۲۴ ساعت با مگنت روی شیکر قرار داده شد. آنگاه با استفاده از کاغذ صافی محلول حاصل را صاف نموده و در انکوباتور ^{oC} ۳۷ خشک گردید.

انجام کمپرسیون عصب سیاتیک: این مطالعه تجربی روی تعداد۳۰ راس موش صحرایی نر نژاد ویستار دارای وزن تقریبی ۳۵۰-۳۰۰ گرم و سن ۳ ماهگی انجام شده است. راتها پس از خریداری از بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به حیوانخانه دانشگاه سیستان و بلوچستان منتقل شدند. اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. برای سازگاری با محیط موشها به مدت ده روز در شرایط استاندارد از لحاظ نور(۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) دما، تغذیه و رطوبت در حیوانخانه دانشگاه سیستان و بلوچستان نگهداری شدند. آنگاه بصورت تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی شامل: گروه I گروه کنترل، گروه II گروه کمپرسیون، گروه III گروه کمپرسیون+تیمار با دوز mg/kg ۲۵ عصاره آبی گیاه، گروه IV گروه کمپرسیون+تیمار با دوز mg/kg ۵۰ عصاره آبی گیاه و گروهV گروه کمپرسیون+تیمار با دوز mg/kg ۷۵ عصاره آبی گیاه تقسیم شدند. بیهوشی موشها با استفاده از اتر و کتامین (۰/۱۶ سی سی به ازای ۳۰۰ گرم وزن بدن) صورت گرفت، آنگاه پوست و عضلات ران سمت راست روی عصب سیاتیک را بوسیله اسکالپل و قیچی برش زده پس از نمایان شدن عصب سیاتیک، اقدام به کمپرسیون شدید عصب سیاتیک با استفاده از پنس قفل دار به مدت ۶۰ ثانیه گردید (۱۳). آنگاه عضلات و پوست را بخیه نموده و ناحیه عمل با استفاده از بتادین ضد عفونی گردید.

بعد از عمل به گروههای آزمایشی III, IV, V به ترتیب دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی گیاه آکیلیا میلیفولیوم که در نرمال سالین قابل تزریق حل شده بود به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. در گروههای I و II هم فقط نرمال سالین مذکور به صورت داخل صفاقی تزریق شد. اولین تزریق بعد از عمل و دو تزریق دیگر نیز به فاصله یک هفته در روزهای ۷ و ۱۴ بعد از عمل انجام شد. آنگاه روز ۲۸ پس از کمپرسیون به منظور خارج سازی طناب نخاعی موشهای صحرایی تحت عمل پرفیوژن قرار گرفتند. طناب نخاعی را تا انتهای ناحیه دم اسب از ستون مهره ها خارج نموده، آنگاه ۱۸ میلی متر انتهایی آن را قطع نمودیم. پس از آن به اندازه ۸ میلی متر از طناب نخاعی نمونه برداری شد. به دلیل اینکه عصب سیاتیک از ۵ ریشه عصبی یعنی اعصاب L4 و L5 و اعصاب اول تا سوم خاجی منشاء می گیرد، نمونه برداشته شده از نخاع، جسم سلولی نورونهای تشکیل دهنده عصب سیاتیک را در بر می گیرد (۱۳). نمونه های تهیه شده به مدت یک هفته در فیکساتور (فرمالین ده درصد) نگهداری شدند.

تهیه مقاطع میکروسکوپی، رنگ آمیزی آنها و شمارش تراکم نورونهای حرکتی آلفا: به منظور تهیه مقاطع میکروسکوپی ابتدا پاساژ بافتی شامل آبگیری با الکل۷۰، ۸۰، ۹۰، الکل مطلق I و الکل مطلق II شفاف سازی با بوتانل ۱ و۲ و آغشتگی با پارافین ۱ و ۲ انجام پذیرفت. آنگاه از بافت نخاعی، قالب های پارافینی تهیه نموده و از این قالب های تهیه شده بوسیله دستگاه میکروتوم، برشهای متوالی ۷ میکرونی تهیه شد. نمونه برداری به اینصورت انجام گردید که از اولین برش تعداد ۳۰ برش متوالی دور ریخته شد و بعد از آن سه برش متوالی روی لام قرار گرفت. به همین ترتیب از هر ۳۰ برش سه برش متوالی روی لام جمع آوری گردید تا نهایتا از هر کدام از نمونه های طناب نخاعی تعداد۳۰ برش فراهم شد و رنگ آمیزی آنها با تولوئیدین آبی صورت گرفت. در رنگ آمیزی بازی تولوئیدین آبی هسته سلولهای عصبی به رنگ بنفش و زمینه به رنگ نارنجی در می آید. آنگاه عکس برداری از نمونه ها انجام شد و دانسیته نورونی نورونهای حرکتی آلفای

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.6.3]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.40]

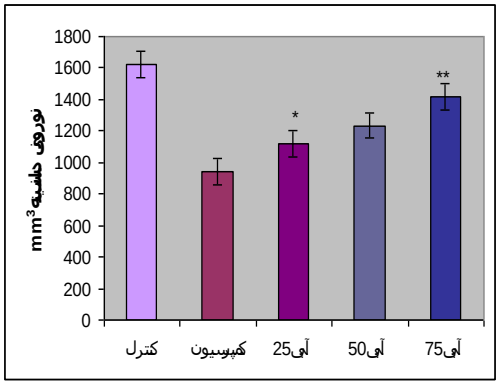
شاخ شکمی در گروههای مختلف مورد آزمایش به روش دایسکتور (شمارش واحد درحجم) شمارش گردید. تراکم نورونها عبارتست از: مجموع نورونهای شمارش شده تقسیم بر حجم چهارچوب نمونه برداری ضربدر تعداد دفعات نمونه برداری شده. مساحت چهارچوب نمونه برداری به ابعاد ۲/۵ در ۲/۵ سانتی متر بود. برای محاسبه واقعی این مساحت به میکرون از لام میکرو متری استفاده گردید (۱۳). اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۹ و تستهای آماری آنالیز واریانس یک طر فه و Student T-Test تجزیه و تحلیل شد و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

میانگین و انحراف معیار تراکم نورونهای آلفا شاخ شکمی نخاع در گروههای کمپرسیون۵۹± ۹۴۳، کنترل ۱۶۲۰±۵۱/۱، گروه III ۱۱۱۷±۱۸۸/۱، گروه IV ۱۲۳۵±۸۳/۸ و گروه V ۱۴۲۱±۱۳۹/۷ بدست آمد (جدول ۱ و نمودار ۱). مقایسه تراکم نورونهای آلفای شاخ شکمی نخاع بین گروه کمپرسیون و گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان داد (۹۴۳±۵۹ در مقابل ۱۶۲۰±۵۱/۱، $p<0/001$). در واقع کمپرسیون و آسیب وارده به عصب سیاتیک باعث شده بود که دانسیته نورونی در گروه کمپرسیون به میزان قابل توجهی کاهش یابد.

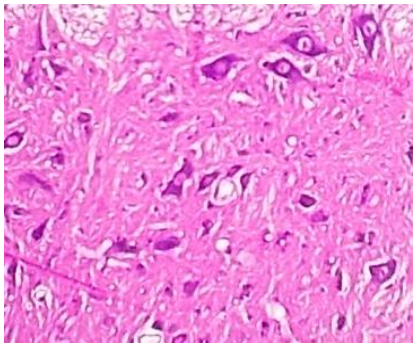
جدول ۱. دانسیته جسم سلولی موتونورونهای آلفا در شاخ شکمی نخاع در موشهای صحرایی در گروههای مختلف مورد آزمایش

شماره موش	کمپرسیون	کنترل	کمپرسیون+دوز ۲۵mg/kg	کمپرسیون+دوز ۵۰mg/kg	کمپرسیون+دوز ۷۵mg/kg
C1	۸۸۸	۱۶۱۱	۱۳۳۳	۱۲۵۰	۱۵۵۵
C2	۱۰۲۷	۱۶۹۴	۹۲۷	۱۳۶۱	۱۵۵۵
C3	۹۱۶	۱۵۸۳	۱۲۵۰	۱۲۷۷	۱۲۵۰
C4	۸۸۸	۱۶۶۳	۹۴۴	۱۲۲۲	۱۲۴۰
C5	۹۴۴	۱۶۱۱	۱۲۷۷	۱۱۱۱	۱۴۴۴
C6	۱۰۰۰	۱۵۵۵	۹۷۲	۱۱۹۴	۱۴۷۲

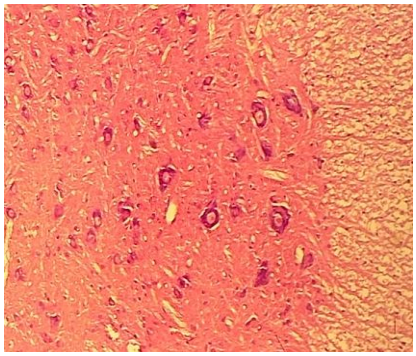


نمودار ۱. مقایسه میانگین دانسیته نورونی بین گروه های کنترل، کمپرسیون و تیمار (n=۶)

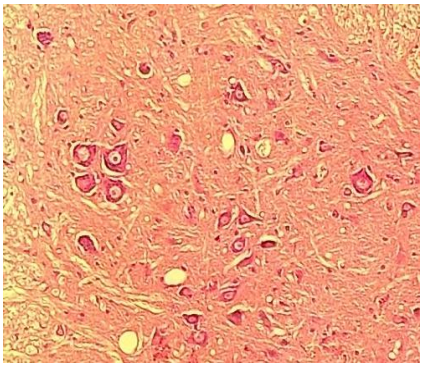
اما در گروههای درمان شده با عصاره آبی گیاه آکیلیا میلیفولیوم نورونها به مقدار زیادی در برابر آسیب و تخریب محافظت شده بودند. به همین دلیل دانسیته نورونی در گروههای دریافت کننده عصاره آبی گیاه نسبت به گروه کمپرسیون افزایش قابل توجهی را نشان داد (شکل های ۵-۱).



شکل ۱. نورون های شاخ قدامی مقطع عرضی نخاع در گروه کنترل، رنگ آمیزی آبی تولوئیدین-اریتروزین، هسته در مرکز پریکاریون قرار دارد (بزرگنمایی ۱۶۰۰x)



شکل ۲. برش شاخ قدامی نخاع در گروه کمپرسیون، هسته به کنار پریکاریون کشیده شده است و در حال محو شدن می باشد، رنگ آمیزی آبی تولوئیدین-اریتروزین (بزرگنمایی ۱۶۰۰x)

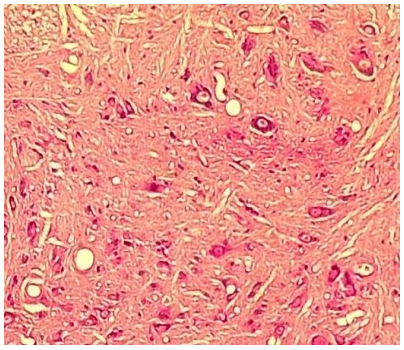


شکل ۳. نورونهای حرکتی آلفا تیمار با دوز ۲۵ mg/kg (بزرگنمایی ۱۶۰۰x)

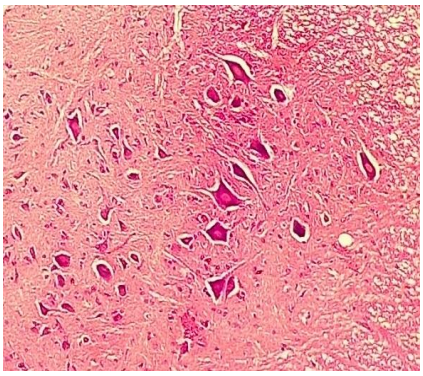
تزریق داخل صفاقی عصاره آبی آکیلیا میلیفولیوم با دوز ۲۵ mg/kg در مقایسه با گروه کمپرسیون به طور معنی داری تراکم نورونی را افزایش داده بود و باعث محافظت نورونها شد (۱۱۱۷±۱۸۸/۱در مقابل ۹۴۳±۵۹، $p<0/05$).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.6.3]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.40]

افزایش دوز مصرفی عصاره آبی گیاه مورد مطالعه به میزان بیشتری منجر به محافظت نورونی شد و در نتیجه تراکم نورونها نسبت به گروه کمپرسیون به میزان قابل ملاحظه‌ای بالاتر بود، بطوریکه اختلاف تراکم نورونی بین گروه کمپرسیون و گروه تیمار با دوز mg/kg ۵۰ افزایش یافت (۸۳/۸±۱۲۳۵ در مقابل ۵۹±۹۴۳، p<۰/۰۱). بیشترین میزان تراکم نورونی با دوز mg/kg ۷۵ عصاره آبی گیاه مورد مطالعه نسبت به گروه کمپرسیون مشاهده شد (۱۳۹/۷±۱۴۲۱در مقابل ۵۹±۹۴۳، p<۰/۰۰۱).



شکل ۴. نورونهای حرکتی آلفا تیمار با دوز mg/kg ۵۰ (بزرگنمایی۱۶۰۰x)



شکل ۵. نورونهای حرکتی آلفا تیمار با دوز mg/kg ۷۵ (بزرگنمایی۱۶۰۰x)

تزریق داخل صفاقی عصاره آبی آکیلیا میلیفولیوم با دوز mg/kg ۲۵ در مقایسه با گروه کمپرسیون به طور معنی داری تراکم نورونی را افزایش داده بود و باعث محافظت نورونها شد (۱۸۸/۱±۱۱۱۷ در مقابل ۵۹±۹۴۳، p<۰/۰۵). افزایش دوز مصرفی عصاره آبی گیاه مورد مطالعه به میزان بیشتری منجر به محافظت نورونی شد و در نتیجه تراکم نورونها نسبت به گروه کمپرسیون به میزان قابل ملاحظه‌ای بالاتر بود، بطوریکه اختلاف تراکم نورونی بین گروه کمپرسیون و گروه تیمار با دوز mg/kg ۵۰ افزایش یافت (۸۳/۸±۱۲۳۵ در مقابل ۵۹±۹۴۳، p<۰/۰۱). بیشترین میزان تراکم نورونی با دوز mg/kg ۷۵ عصاره آبی گیاه مورد مطالعه نسبت به گروه کمپرسیون مشاهده شد (۱۳۹/۷±۱۴۲۱ در مقابل ۵۹±۹۴۳، p<۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق تزریق عصاره آبی گیاه آکیلیا میلیفولیوم با دوزهای ۷۵ و ۵۰ و ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن توانست به طور معنی داری دانسیته نورونهای آلفای شاخ شکمی نخاع را نسبت به گروه کمپرسیون محافظت نماید. در گروه کمپرسیون دانسیته این نورونها نسبت به گروههای تیمار کاهش چشمگیری داشته است. مطالعات نشان داده است که A. millefolium سرشار از ترکیبات فنلی نظیر فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک است (۱۵و۱۴). این ترکیبات آنتی اکسیدانهای طبیعی هستند که اثر آنها بعنوان جارو کننده رادیکالهای آزاد به اثبات رسیده است. به نظر می رسد یکی از مهمترین عواملی که در مطالعه حاضر عصاره آبی گیاه باعث محافظت نورونی معنی داری نسبت به گروه کمپرسیون شده است ناشی از همین اثرات آنتی اکسیدانی ترکیبات این گیاه باشد. رادیکالهای آزاد در شرایط فیزیولوژیک به مقادیر کم تولید می شود و سریعا به مصرف می رسد یا تجزیه می شود. اما در شرایطی که به میزان بیش از حد و برای مدت طولانی تولید شوند ساختارهای بیولوژیکی را تخریب می کنند و باعث آسیب DNA و مرگ سلولی می شوند (۱۶). تولید بیش از حد گونه های واکنش زای اکسیژن و سیتوکین های پیش التهابی باعث استرس اکسیداتیو می شود. مطالعات Candal و همکاران نشان داد که عصاره روغنی A. millefolium در محیط آزمایشگاه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی و فعالیت آنتی میکروبی پایینی می باشد (۱۷). مطالعات Lopes و همکاران مکانیسم عمل عصاره این گیاه را روشنتر ساخت. مطالعات مذکور نشان داد که ماکروفاژهای صفاقی در مجاورت اسانس روغنی A. millefolium میزان H_2O_2، اکسید نیتریک و سیتوکین TNF-α متوسطی تولید می کنند، بدون اینکه منجر به تولید بیش از حد ترکیبات مذکور شوند. آنها نتیجه گیری کردند که ترکیبات این گیاه می تواند فعالیت ماکروفاژها را تنظیم کند (۱۶).

عامل مهم دیگر برای محافظت نورونی بیشتر عصاره آبی گیاه A. millefolium اثرات ضد التهابی این گیاه می باشد. در طب سنتی برزیل این گیاه برای درمان عفونت های تنفسی، تب و درد های روماتیسمی استفاده شده است. ترکیبات عمده این گیاه آزولن، سینئول، بورنئول، پینین و کامفور بوده است (۱۶). اثرات ضد التهابی گیاه عمدتا به دلیل وجود ترکیباتی نظیر آزولن می باشد. تحقیقات Chou و همکاران نشان داد که فعالیت ضد التهابی A. millefolium به دلیل کاهش بیان آنزیم های سیکلو اکسیژناز-۲، هم اکسیژناز-۱ و کاهش فاکتور نکروز توموری –α و اینترلوکین-۶ بوده است (۱۸). بورنئول یک ترکیب ترپن می باشد که به راحتی از سد مغزی خونی عبور می کند و به جذب بسیاری از ترکیبات از طریق سد مغزی خونی در مغز کمک می کند. اثرات محافظت نورونی آن از طریق کاهش درون سلولی عوامل التهابی تنظیم مسیر iNOS/NO، کاهش آزادسازی فاکتور NF-κBP65 و کاهش کاسپاز مرتبط با اپوپتوز می باشد (۱۹). فلاونوئیدها با مهار فسفودی استراز مانع تخریب cAMP می شوند و به این ترتیب می توانند از چسبیدن، تجمع و ترشح پلاکتها جلوگیری کنند. پلاکتها علاوه بر تاثیر در انعقاد خون در فرآیند التهاب نیز تاثیر دارند به طوریکه تعدادی از واسطه های موثر در التهاب مثل ترومبوکسان A2 و فاکتور فعال کننده پلاکتی، از پلاکتها آزاد می شود. بسیاری از اثرات ضد ترومبوز، ضد التهاب و ضد اسپاسم گیاه بومادران را می توان احتمالا ناشی از فلاونوئیدها دانست. البته کامازولن موجود در این گیاه نیز دارای خواص ضد التهابی می باشد. از طرفی سزکوئی ترپن‌ها لاکتونهایی که به شدت اکسیژنه هستند در اثر تقطیر به آزولن تبدیل نمی گردند و از نظر ضد التهاب موثرتر از پروآزولنهای مربوطه می باشند (۲۱و۲۰). عامل سوم اثرات محافظت کننده نورونی A. millefolium ممکن است اثرات استروژنیک آن باشد. در طب سنتی این

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.6.3]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.40]

گیاه بعنوان ترکیب ایجادکننده قاعدگی استفاده می‌شود. این اثرات می‌تواند ناشی از اثرات استروژنیک گیاه باشد بخصوص که مطالعات نشان داد عصاره خالص بخشهای هوایی گیاه دارای فعالیت استروژنیک می‌باشد (۲۲). خالص سازی ترکیبات عصاره گیاه نشان داد که ترکیبات لوتئولین ۵ و اپی گینن ۶ مهمترین ترکیبات استروژنیک در بین ترکیبات مختلف تست شده این گیاه بوده است. اپی گینن می تواند هر دو گیرنده های α و β استروژن را تحریک کند اما اثر آن کمتر از استروژن داخلی بدن می باشد. لوتئولین اصلا گیرنده های α را تحریک نمی کند و اثر کمی روی گیرنده های β دارد (۲۲). مطالعات Ali mohammadi و همکاران نشان داد که ترکیبات فیتواستروژنی گیاه دارای اثرات محافظت نورونی بعد از انسداد دائم شریان مغز میانی در موش های سوری شده است که تحت عمل برداشتن تخمدان قرار گرفته اند (۲۳). عصاره آبی A. millefolium احتمالا به دلیل خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و استروژنیک مانع پیشرفت التهاب حاصل از آسیب اعصاب محیطی در اثر کمپرسیون و واکنش برگشتی این ضایعات به موتور نورونهای آلفا شاخ شکمی طناب نخاعی می گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه سیستان و بلوچستان برای حمایت مالی از این تحقیق و همکاری آقای مهدی قاسمی و خانم مهتاب ملاشاهی تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.6.3]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.40]

Neuroprotective Effect of Aqueous Extract of *Achillea millifolium* Against Retrograde Destruction of Neurons of Ventral Horn of the Spinal Cord After Sciatic Nerve Compression in Rats

A. Shahraki (PhD)[*1], A.R. Rezazehi (MSc)[2]

1.Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(6); Jun 2015; PP: 40-7

Received: Sep 14th 2014, Revised: Dec 6th 2014, Accepted: Feb 4th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: damage to peripheral nerves stimulates a series of morphological and biochemical changes in neurons, which are not concentrated only in the injured region, but are also observed in the cell body of neurons of the spinal cord and in the nerve ganglion. The aim of this study was evaluation of the protective effects of aqueous extract of Achillea millifolium on neuron density of ventral horn of the spinal cord after sciatic nerve compression.

METHODS: In this experimental study, 30 Wistar rats were divided randomly into 5 groups: group I (control), group II (compression), group III (compression + injection of the aqueous extract at a dose of 25 mg/kg), Group IV (compression+injection aqueous extract at a dose of 50 mg/kg), and group V (compression+aqueous plant extract at a dose of 75 mg/kg). Mice were anesthetized and the skin of the right thigh was incised, then the muscles were parted to expose the sciatic nerve. Using forceps, the sciatic nerve cord blood was severely compressed, then the muscles and skin were sutured. Administration of the aqueous extract with group specific doses was performed for three weeks, with one injection per week. 28 days after the surgery, the rats were fixed and the lumbar spinal cord (L4, L5) was removed. Tissue sections were prepared from the spinal cord sample and through toluidine blue staining and photography, the density of alpha motor neurons of the spinal ventral horn was investigated.

FINDINGS: The neuronal density in the compression group compared to the control group showed a significant decrease (943±59 vs. 1620±51.1, $p<0.001$). Neuronal density in the treatment groups showed a significant increase compared to the compression group. The 75 mg/kg dose showed the highest neuroprotective effect compared to the compression group (1421±139.7 vs. 943±59, $p<0.001$).

CONCLUSION: The aqueous extract of Achillea millifolium effectively protects motoneurons of the anterior horn of the spinal cord against retrograde injury during sciatic nerve compression.

KEY WORDS: *Sciatic nerve, Aqueous extract, Achillea millifolium, neuroprotection.*

Please cite this article as follows:

Shahraki A, Rezazehi A. Neuroprotective Effect of Aqueous Extract of Achillea millifolium Against Retrograde Destruction of Neurons of Ventral Horn of the Spinal Cord After Sciatic Nerve Compression in Rats. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(6):40-7.

[*] **Corresponding Author; A. Shahraki (PhD)**
Address: Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, I.R. Iran
Tel: +98 54 33446565
E-mail: ashahraki@science.usb.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.6.3]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.40]

References

1. Stoll G, Jander S, Myers RR. Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: from Augustus Waller's observations to neuroinflammation. J Peripher Nerv Syst. 2002; 7(1):13-27.

2.Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: A brief review. Neurosurg Focus. 2004;16(5):7-13.

3.Weerasuriya A, Mizisin AP. The blood-nerve barrier: structure and functional significance. Methods Mol Biol. 2011; 686:149-73.

4.Gaudet AD, Popovich PG, Ramer MS. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury. J Neuroinflammation. 2011; 8(110):1-13.

5.Rotshenker S. Wallerian degeneration: the innate-immune response to traumatic nerve injury. J Neuroinflammation. 2011;8(109):1-14.

6.Campana WM. Schwan cells: activated peripheral glia and their role in neuropatheic pain. Brain Behav Immun. 2007; 21(5):522-7.

7.Saeidinia S, Gohari A, Mokhber-Dezfuli N, Kiuchi F. A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus Achillea. Daru. 2011;19(3):173-86.

8.Sezik E, Yesilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey X. folk medicine in central Anatolia. J Ethnopharmacol. 2001;75(2-3):95-115.

9.Benedek B, Kopp B, Melzig MF. Achillea millefolium L.s.L. is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? J Ethnopharmacol. 2007;113(2):312-7.

10.Moradi MT, Rafieian-koupaei M, Imani-Rastabi R, Nasiri J, Shahrani M, Rabiei Z, et al. Antispasmodic effects of yarrow (achillea millefolium L.) extract in the isolated ileum of rat. Afr J Tradit Compement Altern Med. 2013;10(6):499-503.

11.Shahraki A, Ravandeh M. Comparative survey on the essential oil composition and antioxidant activity of aquous extracts from flower and stem of Achillea willhelmsii from Taftan (southeast of Iran). Health Scope. 2013;1(4):174-9.

12.Khan AU, Gilani AH. Blood pressure lowering, cardiovascular inhibitory and bronchodilatory actions of Achillea millefolium. Phytoter Res. 2011;25(4):577-83.

13.Behnam-Rasouli M, Nikraves MR, Mahdavi-Shahri N, Tehranipour M. Post-operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alpha motoneurons, using a stereological counting method (dissector). Iran Biomed J. 2000;4(1):45-9.

14.Vitalini S, Beretta G, Iriti M, Orsenigo S, Basilico N, Dall'Acqua S, et al. Phenolic compounds from Achillea millefolium L. and their bioactivity. Acta Biochim Pol. 2011;58(2):203-9.

15.Konyalioglu S, Karamenderes C. The protective effects of Achillea L. species native in Turkey against H2O2-induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. J Ethnopharmacol. 2005;102(2):221-7.

16.Lopes FCM, Benzatti FP, Junior CMJ, Moreira RRD, Carlos IZ. Effect of the essential oil of Achillea millefolium L. in the production of hydrogen peroxide and tumor necrosis factor-α in murine macrophages. Braz J Pharmac Sci. 2005;41(3):401-5.

17.Candal F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A, et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of Achillea millefolium subsp. Millefolium afan. (asteraceae). J Ethnopharmacol. 2003;87(2-3):215-20.

18.Chou ST, Peng HY, Hsu JC, Lin CC, Shih Y. Achillea millefolium L. essential oil inhibit LPS-induced oxidative stress and nitric oxide production in raw 264.7 macrophages. Int J Mol Sci. 2013;14(7):12978-93.

19.Zhang N, Liu P, He X. Effect of borneol, moschus, storax and acorus tatarinowii on expression levels of four amino acid neurotransmitters in the rat corpus striatum. Neural Regen Res. 2012; 7(6): 440-4.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.6.3]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.40]

20.Saluk-Juszczak J, Pawlaczyk I, Olas B, Kołodziejczyk J, Ponczek M, Nowak P, et al. The effect of polyphenolic-polysaccharide conjugates from selected medicinal plants of Asteraceae family on the peroxynitrite-induced changes in blood platelet proteins. Int J Biol Macromol. 2010; 47 (5): 700-705.

21.Ghosh PK, Gaba A. Phyto-extracts in wound healing. J Pharm Pharm Sci. 2013; 16 (5): 760-820.

22.Innocenti G, Vegeto E, Dall-Acqua S, Ciana P, Giorgetti M, Agradi E,et al. In vitro estrogenic activity of Achillea millefolium L. Phytomedicine. 2007;14(2-3):147-52.

23.Ali mohammadi R, Naderi S, Imani E, Shamsizade A, Mobini M, Rezazadeh MH, et al. The effect of the ethanolic extract of Vitex agnus castus on stroke outocomes in ovariectomized mice. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(3):20-7. [In Persian]

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.6.3]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.40]