مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هفدهم، شماره ۳، اسفند ۱۳۹۳، صفحه ۲۷-۲۰

اثر عصاره هیدروالکلی گیاه پنج انگشت (vitex agnus custes) بر پیامد سکته مغزی در موش های سوری اوارکتومی شده

راحله علی محمدی (MSc)[۱]، سودابه نادری (MSc)[۱]، اسماعیل ایمانی (MSc)[۱]، علی شمسی زاده (PhD)[۱]، مسعود مبینی (MSc)[۱]، حسین رضازاده (MSc)[۱]، فاطمه امین (MSc)[۱]، محمد الله توکلی (PhD)[۱*]

۱- مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دریافت: ۹۳/۴/۲ ، اصلاح:۹۳/۷/۲ ، پذیرش:۹۳/۹/۵

خلاصه

سابقه و هدف: شیوع سکته مغزی در زنان قبل از یائسگی کمتر از مردان است که استروژن به عنوان یک عامل محافظ نورونی قوی در ایسکمی مغزی در سال های پیش از یائسگی شناخته شده است. فیتواستروژن ها خطرات کمتری نسبت به استروژن های شیمیایی دارند. از آنجائیکه گیاه پنج انگشت (vitex agnus custes) دارای خاصیت فیتواستروژنی می باشد در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی این گیاه بر پیامد سکته مغزی در مدل انسداد دائم شریان مغزی میانی در موش های سوری اوارکتومی شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش سوری ماده در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۵ گرم به طور تصادفی به ۴ گروه (۸ تایی) شم، کنترل (اوارکتومی، یک ماه گاواژ سالین بادوز ml/kg ۱ و سپس القاء سکته)، عصاره گیاه (اوارکتومی، گاواژ عصاره گیاه پنج انگشت با دوز mg/kg ۸۰ (در یک میلی لیتر سالین) به مدت یک ماه هر روز) و گروه استروژن (اوارکتومی، گاواژ استرادیول والرات μg/kg۴۰ (در یک میلی لیتر سالین) به مدت یک ماه هر روز) تقسیم شدند. حیوانات اوارکتومی شده و بعد از گذشت یک ماه سکته مغزی به وسیله سوزاندن شریان مغزی میانی القاء شد. حجم انفارکتوس و اختلالات نورولوژیک یک هفته بعد از القاء سکته مغزی اندازه گیری شد.

یافته‌ها: حجم سکته در گروه کنترل، استروژن و عصاره گیاه پنج انگشت در یک هفته پس از ایجاد سکته مغزی به ترتیب ۲/۳۳±۱۱/۹۸، ۱/۰۱±۳/۴۱و ۱/۱۰±۵ درصد بود. هر دو عصاره گیاه پنج انگشت و استروژن، حجم سکته مغزی را نسبت به گروه کنترل کاهش دادند (p<۰/۰۵). همچنین عصاره گیاه و استروژن اختلالات نورولوژیک را نسبت به گروه کنترل کاهش دادند (p<۰/۰۰۱). اختلالات حسی حرکتی در گروه های کنترل، استروژن و عصاره گیاه پنج انگشت در یک هفته بعد از سکته مغزی به ترتیب برابر با ۷± ۵۰، ۲±۱۵ و ۴/۰۹±۲۱ بود و یک اختلاف معنی داری را بین گروه کنترل و دیگر گروه ها نشان داد (p<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره گیاه پنج انگشت مشابه با استروژن اثرات محافظت نورونی را به دنبال انسداد دائم شریان مغزی میانی در موش های سوری اوارکتومی شده دارد.

واژه های کلیدی: گیاه پنج انگشت، اوارکتومی، شریان مغزی میانی، سکته مغزی مدل دائم، عصاره گیری.

مقدمه

سکته مغزی سومین علت مرگ و میر واولین عامل ناتوانی بزرگسالان در جهان می باشد (۱). سکته یک انسداد جریان خون در عروق مغزی بزرگ است که می‌تواند آسیب های نورولوژیک دائم ایجاد کند، که اگر به سرعت مدیریت نشود اختلالات عملکردی شدید و مرگ ایجادمی کند (۲). سکته مغزی در انسان‌ها در نتیجه عواملی از قبیل دیابت، فشار خون، سن بالا، بیماری‌های قلبی (مثل فیبریلاسیون دهلیزی) و استفاده مداوم برخی از داروها بوجود می‌آید. علاوه بر عوامل ذکر شده، اختلاف جنسیت (مونث و مذکر بودن) هم ممکن است بر مکانیسم سکته و پاسخ به درمان آن تاثیر بسزایی داشته باشد (۳). به طوریکه خطر سکته مغزی در زنان پیش از یائسگی نسبت به مردان هم سن خود کمتر است (۴). اما بروز حوادث عروق مغزی در زنان بعد از یائسگی، به سرعت افزایش می‌یابد (۵). مطالعات نشان داده اند که کاهش استروژن توسط عوامل مختلف مانند مداخله جراحی (اوارکتومی)، عوامل فارماکولوژیکی (آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن) یا پیری (پیری باروری) باعث حذف این اثر محافظتی در زنان می‌شود (۷و۶). علاوه بر این استروژن در دو دهه اخیر به عنوان یک عامل

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۹/۲۳۳۰ دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر محمد الله توکلی
آدرس: رفسنجان، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی. تلفن: ۰۳۹۱-۵۲۳۴۰۰۳
E-mail:allahtavakoli@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.17.3.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.3.20]

محافظ نورونی در مغز شناخته شده است (۸). هر چند که درمان با هورمون استروژن برای سلامتی در مرکز توجه قرار گرفته است و زنان یائسه از استروژن استفاده می‌کنند، اما استفاده طولانی مدت از استروژن در زنان یائسه خطر آندومتریوز و سرطان سینه را افزایش می‌دهد (۹).

بنابراین باید به دنبال راهکاری بود که زنان بعد از یائسگی علاوه بر استفاده از اثرات محافظتی استروژن های خوراکی، از عوارض آن در امان باشند. یکی از این راهکارها استفاده از استروژن های گیاهی (فیتواستروژن ها) است. فیتواستروژن‌ها غیراستروئیدهای گیاهی می‌باشند که ساختار و عملکرد مشابه استروژن دارند، به طوریکه ساختار شیمیایی آن‌ها از دو فنیل فتائلین تشکیل شده که به رسپتور استروژن در شرایط داخلی و خارجی باند می‌شوند (۱۱و۱۰).

در یک مطالعه گزارش شده که عصاره سویا به عنوان یک فیتواستروژن دارای نقش محافظت نورونی به دنبال رپرفیوژن بعد از ایسکمی مغزی می باشد (۱۲). همچنین Castello-Ruiz و همکارانش، در مطالعه خود دریافتند که فیتواستروژن ها باعث کاهش حجم سکته مغزی در مدل سکته مغزی فوکال گذرا در موش های صحرایی می‌شوند (۱۳). Vitex agnus از خانواده Verbenaceae گیاهی با خاصیت فیتواستروژنی می باشد (۱۴). گیاهی بوته گسترده است که بومی اروپا می‌باشد اما در بسیاری از نقاط دنیا به خصوص جنوب آمریکا نیز می‌روید (۱۵).

این گیاه در ایران نیز می‌روید که با نام پنج انگشت یا فلفل بیابانی شناخته شده است و از آن به عنوان یک گیاه دارویی استفاده می شود . ترکیبات مختلف این گیاه شامل: آلکالوئیدی به نام ویتی سین، مشتقاتی از ایزوفلاون ها (ماده عمده آن کاستی سین) سایر فلاونوئیدها مانند پندولتین و کریزو فانول می باشند. میوه رسیده و خشک آن شامل دو گلیکوزید ایریدوئید آگنوساید و آکوبین می باشد که حاوی فلاونوئیدها و برخی روغن های ضروری است. فلاونوئید این گیاه خاصیت فیتواستروژنی گیاه را اثبات می کند (۱۵).

همچنین ترکیبات شیمیایی متفاوتی در عصاره این گیاه وجود دارد همانند آپیگنین و پندولتین که بیشتر اثر روی زیر واحد بتای گیرنده استروژن دارد (۱۶) و نیز لینولئیک اسید که روی هر دو زیر واحد α و β گیرنده استروژن اثر دارد (۱۷).

با توجه به اینکه سکته مغزی در زنان یائسه شایع و پیامدهای وخیم‌تری نسبت به مردان هم سن خود دارند و با توجه به اینکه استفاده از هورمون های استروژنی عوارض جبران ناپذیری را برای این زنان به دنبال دارد، بنابراین باید به دنبال جایگزینی مناسب برای هورمون های استروژنی باشیم که فیتواستروژن ها احتمالا بتوانند جایگزین مناسبی در این زمینه باشند.

لذا در این این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی گیاه پنج انگشت (vitex agnus custes) بر پیامدهای ناشی از سکته مغزی در موشهای سوری اوارکتومی شده، انجام شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش سوری ماده در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۵ گرم استفاده گردید. نمونه ها به طور تصادفی به ۴ گروه آزمایشی ۸تایی تقسیم شدند. موشها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شده و دسترسی به آب و غذا داشتند. پس از کسب مجوز کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام و تلاش در جهت کاهش سطح درد و استرس و نیز تعداد جانوران مطالعه انجام شد.

گروه بندی حیوانات:

۱- گروه کنترل: اوارکتومی + گاواژ سالین با دوز ۱ml/kg به مدت ۴ هفته+ سکته (به روش دائمی)

۲- اوارکتومی + گاواژ عصاره گیاه پنج انگشت (vitex) با دوز ۸۰mg/kg (در یک میلی لیتر سالین) به مدت ۴ هفته +سکته (به روش دائمی)

۳- اوارکتومی+ گاواژ آگونیست استروژن (استرادیول والترات) با دوز ۴۰µg/kg (در یک میلی لیتر سالین) به مدت ۴ هفته + سکته (به روش دائمی) (۱۴).

۴- گروه شم: در این گروه موش ها اوارکتومی شدند و پس از ۴ هفته تمام مراحل جراحی سکته مغزی انجام شد. ولی شریان مغزی میانی سوزانده نشد و در نتیجه سکته مغزی القاء نشد و فقط موش ها تحت استرس جراحی قرار گرفتند. لازم به یاد آوری است که در گروه شم، موش ها هیچ یک از عوارض ناشی از القاء سکته مغزی از قبیل انفارکتوس، اختلالات نورولوژیک و اختلالات حسی حرکتی را نشان ندادند و به عبارت دیگر سالم بودند.

داروها: داروهای مورد استفاده شامل عصاره آبی الکلی گیاه پنج انگشت (مورد تایید کارشناسان هرباریوم اصفهان)، استرادیول والرات (تولید شده شرکت داروسازی ابوریحان ایران) و تاموکسیفن (تولید شده شرکت داروسازی ایران آلفا) بودند.

روش تهیه عصاره گیری: این گیاه در اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ در استان اصفهان شهرستان خورو بیابانک، روستای بازیاب، در ارتفاع ۱۳۵۰ متری از سطح دریا جمع آوری و توسط کارشناسان هرباریوم مرکزی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت (شماره ثبت ۹۲۵۲). میوه خشک گیاه آسیاب شد، ۵۰۰ گرم از آن با اتانول ۵۰ درصد در دستگاه سوکسله عصاره گیری شد و سپس با دستگاه روتاری تبخیر حلال انجام گرفت و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد در آون خشک شد. در پایان، از پودر حاصله دوز های مورد نظر در نرمال سالین تهیه گردید (۱۴).

روش ایجاد اوارکتومی (القاء یائسگی): ابتدا موش را وزن کرده و ۹۰mg/kg داروی بیهوشی کتامین سولفات به همراه ۴/۵ mg/kg دارو زایلازین به صورت داخل صفاقی تزریق کرده و بعد از بیهوشی کامل، ناحیه شکمی حیوان تراشیده شد. سپس محل جراحی با بتادین استریل و طرفین بخش شکمی بین پستان های ۲ و ۳ کنار عضله ران موش شکاف داده شد. بعد از مشاهده تخمدانها، با دستگاه کوتر لوله رحمی را سوزانده و تخمدان (بافت فولیکولی و قرمز رنگ متصل به لوله اویداکت) به آهستگی جدا کرده و خارج شد. بعد از آن لایه های داخلی و خارجی پوست جداگانه بخیه و در آخر ۲۲۰۰۰ µ.i/kg پنی‌سیلین به عضله ران موش تزریق گردید و حیوان به قفس بر گردانده شد تا به هوش آید (۱۹و۱۸)

روش ارزیابی صحت انجام اوارکتومی: بعد از گذشت ۳ روز از جراحی به مدت ۶ روز اسمیر واژن حیوان را گرفته (بوسیله بالب چند قطره نرمال سالین به واژن موش اضافه کرده و آن را خارج نموده و بر روی لام قرار داده به حالت اسمیر آن را پخش و بوسیله میکروسکوپ را مشاهده شد) در صورت مشاهده نشدن طرح سرخسی جراحی اوارکتومی صحیح انجام شد (۸).

روش ایجاد سکته مغزی: برای ایجاد سکته مغزی، پس از بیهوش کردن حیوان با تزریق داخل صفاقی داروی کتامین سولفات (۹۰ mg/kg) به همراه mg/kg ۴/۵ دارو زایلازین، حیوان به پهلو قرار داده شد و یک برش مورب عمودی ۱

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.17.3.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.3.20]

سانتی‌متری در پوست ناحیه وسط، بین اوربیت چپ و کانال شنوایی خارجی، زده شد. مراحل بعدی با تکنیک های جراحی انجام گرفت. بدین ترتیب که پوست اطراف شکاف کنار زده شد و غده پاروتید در یک چهارم پشتی-تحتانی میدان دید مشاهده شد. منبع عروقی آن را با کوتر سوزاندیم و در قطب قدامی-فوقانی خود تقسیم شده و غده را به جهت پشتی حرکت دادیم. سپس یک برش در اطراف لبه های فوقانی و پشتی عضله تمپورالیس زده شد و با یک بالا برنده، عضله را از سمت کناری جمجمه کنار زدیم و به سمت جلو برگرداندیم. سپس بخش اصلی عضله با یک برش عمودی رو به لبه قدامی آن و از ناحیه اتصال آن به نوک زائده کورونوئیدی بریده شد. این استخوان و نیمه پشتی استخوان گونه را برداشتیم و پس از نمایان شدن شریان مغزی میانی آن را سوزاندیم. بافت‌های نرم به سمت عقب به جای خود برگردانده شدند و سپس پوست بخیه زده شد (۲۰).

تعیین حجم انفارکتوس: حجم انفارکتوس، یک هفته بعد از سکته مغزی تعیین شدند. برای تعیین حجم انفارکتوس پس از خارج کردن مغز، برش داده شد (برش‌های ۱ میلی متری کرونال) و با TTC رنگ آمیزی شدند. برای این منظور پس از تهیه محلول ۲ درصد تریفنیل تترازولیوم کلراید برش‌های مغز هر حیوان در محلول فوق قرار داده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید.

TTC با آنزیم‌های دهیدروژناز داخل سلول‌های زنده واکنش نشان داده و به رنگ قرمز در می‌آید. لذا، سلول‌های زنده به رنگ قرمز در آمده اما نورون‌های مرده تغییر رنگ نمی‌دهند (به دلیل نبودن دهیدروژنازها). پس از فیکس کردن برش‌ها با فرمالین ۱۰ درصد، از آن‌ها توسط اسکنر تصویر برداری شد و با یک نرم افزار پردازشگر تصویر اندازه گیری شدند. سطوح بدست آمده از هر برش در ضخامت آن ضرب شده و از مجموع ۶ برش حجم نیمکره چپ و راست، حجم انفارکتوس با فرمول مربوطه تعیین شدند. حجم انفارکتوس با استفاده از فرمول [حجم نیمکره چپ-(حجم نیمکره راست-حجم انفارکتوس اندازه گیری شده با TTC)]×۱۰۰/حجم نیمکره چپ محاسبه شد (۲۲و۲۱).

بررسی اختلالات نورولوژیک: اختلالات نورولوژیک با سیستم رتبه بندی بدرسون در ساعات ۲۴ و ۴۸ و یک هفته پس از القاء سکته مغزی نمره داده شدند که شامل، عدم هرگونه اختلالی (نمره صفر)، خم شدن اندام جلویی (نمره ۱)، خم شدن اندام جلویی به اضافه کنترل مقاومت در هل دادن جانبی (نمره۲)، چرخیدن به یک طرف (نمره ۳)، چرخیدن به یک طرف به اضافه کاهش سطح هوشیاری (نمره ۴)، مردن و یا عدم هوشیاری و تحرک (نمره ۵)(۲۳). این داده های کیفی بصورت میانه و صدک های ۲۵ام و ۷۵ام نمایش داده شدند.

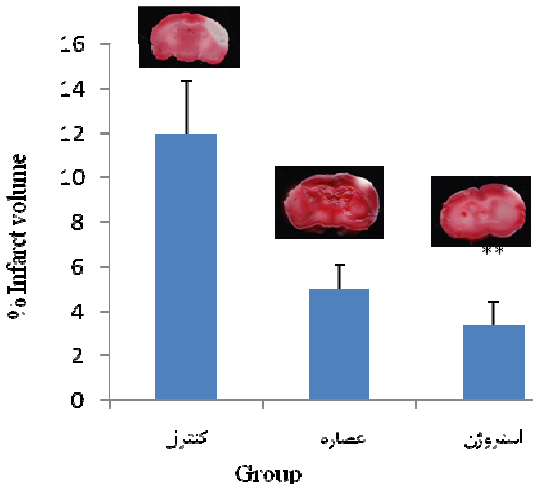
بررسی اختلالات حسی_حرکتی: به منظور بررسی عملکرد حسی-حرکتی ناشی از القای سکته مغزی، موشها روزی دو بار و به مدت سه روز قبل از سکته، برای انجام آزمون جدا کردن بر چسب کاغذی (Sticky test)، آموزش داده شدند. قبل از جراحی، ۲۴، ۴۸ ساعت و یک هفته پس از سکته مغزی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این تست یک تکه چسب به کف دست راست موش چسبانده شد. مدت زمانی که طول می کشد تا حیوان برچسب را لمس نموده و جدا نماید بعنوان میزان فعالیت حسی حرکتی در نظر گرفته می شود که هرچه مدت زمان لازم برای جدا کردن برچسب بیشتر باشد اختلال حسی حرکتی بیشتر است (۲۴).

آنالیز آماری: در مطالعه حاضر از نرم افزار SPSS22 و Excell برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. تفاوت‌های حجم انفارکتوس، اختلال حسی حرکتی، پارزی، با آزمون ANOVA یک طرفه و پس-آزمون Tukey مقایسه شد. اختلالات نورولوژیک با آزمون نان پارامتریک Kruskal–Wallis مقایسه شد و به صورت میانه و صدک‌های 25^{th} و 75^{th} گزارش شدند و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

اثر عصاره گیاه پنج انگشت برحجم انفارکتوس در یک هفته بعد از سکته مغزی مورد بررسی قرار گرفت. میانگین حجم سکته در گروه کنترل و عصاره گیاه پنج انگشت در یک هفته پس از ایجاد سکته مغزی به ترتیب۲/۳۳±۱۱/۹۸ و ۱/۱۰±۵ بوده که یک کاهش معنی داری در حجم سکته در گروه عصاره گیاه پنج انگشت ایجاد کرد، به عبارت دیگر عصاره گیاه پنج انگشت در ۱ هفته پس از ایجاد سکته مغزی، حجم سکته را به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش داده است ($p<0/05$) (نمودار ۱).

همچنین استروژن حجم انفارکتوس را در یک هفته بعد از سکته مغزی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش داد. میانگین حجم انفارکتوس در گروه استروژن در یک هفته بعد از سکته مغزی ۱/۰۱±۳/۴۱ بود که یک کاهش معنی داری در حجم سکته ایجاد کرده است ($p<0/01$) (نمودار ۱). در مجموع استروژن به میزان ۸۰ درصد و گیاه پنج انگشت به میزان ۶۰ درصد حجم انفارکتوس را در مقایسه با گروه کنترل در یک هفته بعد از سکته مغزی کاهش دادند. بین گروه استروژن و گیاه پنج انگشت اختلاف معنی داری مشاهده نشد.



نمودار۱. اثر عصاره گیاه پنج‌انگشت و استروژن بر حجم انفارکتوس بعد از سکته مغزی

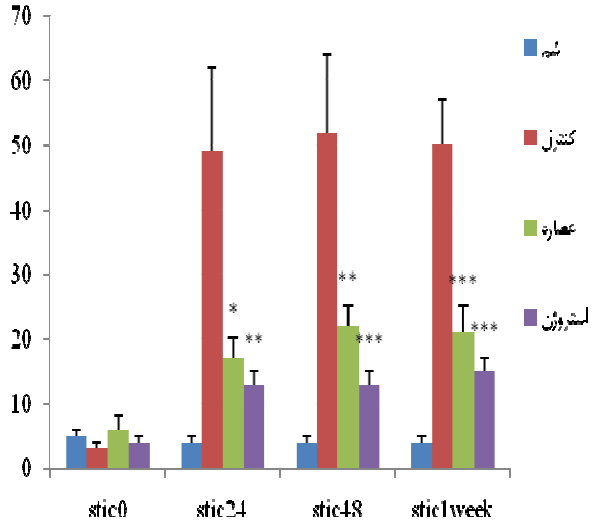
*** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل($p<0/05$)**

**** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ($p<0/01$)**

زمان تاخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیه سکته مغزی در ۲۴ ساعت بعد از سکته در گروه تحت درمان با گیاه پنج انگشت کمتر از گروه کنترل بود ($p<0/05$). این ارقام در گروه های کنترل و عصاره گیاه پنج انگشت در ۲۴ ساعت بعد از سکته مغزی به ترتیب برابر با ۱۳± ۴۹ و۳/۰۲۴±۱۷ بود. زمان تاخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیه سکته

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.17.3.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.3.20]

مغزی در ۴۸ ساعت بعد از سکته در گروه تحت درمان باعصاره گیاه پنج انگشت کمتر از گروه کنترل بود (p<۰/۰۱). این ارقام در گروه های کنترل و عصاره گیاه پنج انگشت در ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی به ترتیب برابر با ۱۲±۵۲ و ۳±۲۲ بود. زمان تاخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیه سکته مغزی در یک هفته بعد از سکته در گروه تحت درمان با عصاره گیاه پنج انگشت کمتر از گروه کنترل بود (p<۰/۰۰۱). این ارقام در گروه های کنترل و عصاره گیاه پنج انگشت در یک هفته بعد از سکته مغزی به ترتیب برابر با ۷±۵۰ و ۴/۰۹±۲۱ بود (نمودار ۲). زمان تاخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیه سکته مغزی در ۲۴ ساعت بعد از سکته در گروه تحت درمان با استروژن کمتر از گروه کنترل است (p<۰/۰۱). این ارقام در گروه های کنترل و استروزن در ۲۴ ساعت بعد از سکته مغزی به ترتیب برابر با ۱۳±۴۹ و ۲±۱۳ بود. زمان تاخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیه سکته مغزی در ۴۸ ساعت بعد از سکته در گروه تحت درمان با استروژن کمتر از گروه کنترل است (p<۰/۰۰۱). این ارقام در گروه های کنترل و استروژن در ۴۸ ساعت بعد از سکته مغزی به ترتیب برابر با ۱۲±۵۲ و ۲±۱۳ بود. زمان تاخیر لمس و برداشتن چسب از کف دست سمت مقابل ناحیه سکته مغزی دریک هفته بعد از سکته در گروه تحت درمان با استروژن کمتر از گروه کنترل است (p<۰/۰۰۱). این ارقام در گروه های کنترل و استروژن در یک هفته بعد از سکته مغزی به ترتیب برابر با ۷±۵۰ و ۲±۱۵ بود (نمودار ۲).



نمودار۲. اثر عصاره گیاه پنج‌انگشت و استروژن بر اختلالات حسی_حرکتی در ساعات ۲۴، ۴۸ و یک هفته پس از ایجاد سکته مغزی

*** در مقایسه با گروه کنترل (p<۰/۰۵).**

**** در مقایسه گروه کنترل (p<۰/۰۱).**

***** در مقایسه با گروه کنترل (p<۰/۰۰۱)**

همچنین اثر عصاره گیاه پنج انگشت بر اختلالات نورولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. عصاره گیاه پنج انگشت اختلالات نورولوژیک را در ۴۸ ساعت (p<۰/۰۵) و یک هفته (p<۰/۰۱) بعد از سکته مغزی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش داده است (جدول ۱). استروژن اختلالات نورولوژیک را در ۴۸ ساعت (p<۰/۰۵) و یک هفته (p<۰/۰۰۱) بعد از سکته مغزی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش داده است. (جدول ۱).

جدول ۱. اثر عصاره گیاه پنج‌انگشت واستروژن براختلالات نورولوژیک (سیستم رتبه بندی بدرسون)

گروه	شم	کنترل	ویتکس	استروژن
۲۴ ساعت	(۰-۰)۰	(۲۵/۱-۳)۲	(۱-۲)۱	(۱-۱/۷۵)۱
۴۸ ساعت	(۰-۰)۰	(۲-۳)۲	*(۱-۲)۱	*(۱-۱/۷۵)۱
۱ هفته	(۰-۰)۰	(۲-۴/۲۵)۲	**(۱-۲)۱	***(۱-۱)۱

داده ها به صورت میانه و صدک‌های ۲۵م و ۷۵م (صدک‌ها داخل پرانتز) بیان شده اند

*** در مقایسه با گروه کنترل (p<۰/۰۵)**

**** در مقایسه گروه کنترل (p<۰/۰۱)**

***** در مقایسه با گروه کنترل (p<۰/۰۰۱)**

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه نشان داد که گیاه پنج انگشت حجم انفارکتوس, اختلالات نورولوژیک و اختلالات حسی حرکتی را به طور معنی داری کاهش داد. در مطالعه Yang و همکارانش نشان داده شد که استروژن دارای اثر محافظتی بر روی سلولهای مغزی می باشد (۲۵). بعد از آن Fiocchetti و همکارانش اثرات محافظت نورونی متعددی را برای استروژن بیان کردند (۲۶). علاوه بر این Hurn و همکارانش اثرات محافظتی استروژن را در ایسکمی مغزی نشان دادند (۲۷). نتایج حاصل از مطالعه ما همچنین نشان داد که استروژن حجم انفارکتوس و اختلالات نورولوژیک ناشی از القاء سکته مغزی را کاهش داده که این نتایج با نتایج حاصل از این مطالعات همخوانی داشت. در مطالعه ای که Huang و همکارانش انجام دادند، دریافتند که رژیم های حاوی ایزوفلاون ها در موش های صحرایی حجم انفارکتوس و اختلالات نورولوژیک را بعد از ایسکمی مغزی فوکال گذرا بهبود می بخشد. همچنین نشان دادند که ایزوفلاون های سویا می توانند ظرفیت تکثیر سلول های بنیادی نورون ها (Neural Stem Cell) را حفظ کرده و در نتیجه حجم سکته مغزی و اختلالات عملکردی بعد از سکته را کاهش دهند (۲۸). Schreihofer و همکارانش نشان دادند، حیواناتی که تنها دو هفته از رژیم غذایی پر سویا استفاده کردند در مقایسه با حیواناتی که رژیم غذایی کم سویا مصرف می‌کردند اندازه انفارکتوس آنها در مدل سکته مغزی موضعی کاهش چشم گیری پیدا کرد (۲۹).

همچنین Lovekamp-Swan و همکارانش بیان کردند که رژیم غذایی سویا باعث کاهش اندازه انفارکتوس بعد از بستن شریان مغزی میانی (MCAO) در رت‌های اوارکتومی شده می‌شود (۳۰). با توجه به مطالعات انجام گرفته پنج انگشت گیاهی با خواص درمانی و فیتواستروژنی بسیار است و با توجه به تحقیقاتی که Wuttke و همکارانش انجام دادند، آپیگنین (apigenin)، یک فلاونوئید، ترکیبی با فعالیت آگونیستی برای گیرنده استروژن در این گیاه می‌باشد (۱۶). فلاونوئید این گیاه خاصیت فیتواستروژنی گیاه را اثبات می‌کند (۱۴). بعد از آن Liu و همکارانش نشان دادند که لینولئیک اسید در عصاره گیاه پنج انگشت قادر به اتصال به هر دو نوع گیرنده استروژن (α و β) و اعمال اثرات مشابه

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.17.3.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.3.20]

استروژن می باشد (۱۷). همچنین مطالعه ای که توسط Choudhary و همکارانش انجام شد نیز نشان داد که عصاره این گیاه دارای اثرات ضد التهابی نیز می‌باشد. علاوه بر این مواد موثره گیاه پنج انگشت را جدا کرده و اثرات ضدالتهابی آنها در تست cell-based contemporary مورد بررسی قرار دادند که مشخص شد از میان آنها p– هیدروکسی بنزوئیک اسید، ۴و۳ دی هیدروکسی بنزوات و ۴و۳ دی هیدروکسی بنزوئیک، فعالیت ضدالتهابی معنی داری دارند (۳۱). همچنین بررسی های ما نیز نشان داد که گیاه پنج انگشت می تواند مشابه با استروژن حجم انفارکتوس را در مدل سکته دائم کاهش دهد و متعاقب آن میزان اختلالات نورولوژیکی و حسی_حرکتی که بعد از سکته ایجاد می شود را نیز کاهش دهد. در مجموع با توجه به خواص شبه استروژنی و ضدالتهابی گیاه پنج انگشت، یافته های این مطالعه نشان داد که عصاره این گیاه باعث کاهش حجم انفارکتوس شده و در نتیجه باعث کاهش نقایص نورولوژیک ناشی از سکته مغزی می شود که این اثرات با استروژن قابل مقایسه است. نظر به اینکه داروهای گیاهی نیز ممکن است دارای عوارضی باشند و همچنین درمانهای جایگزین با گیاهان فیتواستروژنی در طولانی مدت ممکن است عوارض جانبی به دنبال داشته باشند، لذا لازم است مطالعات بیشتر و در مدت طولانی تری در خصوص بررسی اثرات جانبی این گیاهان انجام شود و بهتر است بررسی تغییرات هیستولوژیک در بافت های هدف استروژن، نظیر رحم و پستان ها باشد تا بتوان این نتایج را در مطالعات کلینیکال بکار برد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به جهت تصویب و تامین هزینه های مالی این تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.17.3.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.3.20]

The Effects of the Ethanolic Extract of Vitex Agnus Castus on Stroke Outcomes in Ovariectomized Mice

R. Alimohammadi (MSc)[1], S. Naderi (MSc)[1], E. Imani (MSc)[1], A. Shamsizadeh (PhD)[1], M. Mobini (MSc)[1], M.H. Razazadeh (MSc)[1], F. Amin (MSc)[1], M. Allahtavakoli (PhD)[*1]

1. Physiology and Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 17(3); Mar 2015; PP:20-7

Received: Jun 23th 2014, Revised: Sep 24th 2014, Accepted: Nov 26th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: The prevalence of stroke in premenopausal women is lower than men. In fact, estrogen is known as a potent neuroprotective agent in cerebral ischemia before menopause. Phytoestrogens are considered to be less risky than chemical estrogens. In this study, considering the phytoestrogenic properties of Vitex agnus custus, the effects of the ethanolic extract of this plant on stroke outcomes in a model of middle cerebral artery occlusion were investigated in ovariectomized mice.

METHODS: In this experimental study, 32 mice, weighing 25-35 g, were randomly divided into 4 groups (8 mice per group): 1) sham group, 2) control group (ovariectomized, treated with 1 ml/kg saline for one month, followed by stroke induction), 3) Vitex group (ovariectomized, treated with 80 mg/kg of Vitex extracts in 1 mL saline every day for a month), and 4) estrogen group (ovariectomized, treated with 40 µg/kg of estradiol valerate in 1 mL saline every day for a month). After one month, stroke was induced in ovariectomized mice by cauterizing the middle cerebral artery. Infarct volume and neurological disorders were evaluated one week after stroke induction.

FINDINGS: A week after stroke induction, infarct volume in the control, estrogen, and Vitex groups was 11.98±2.33, 3.41±1.01, and 5±1.10, respectively. Vitex extracts and estrogen could decrease infarct volume, compared to the control group ($p<0.05$). Also, estrogen and Vitex extracts reduced neurological deficits, compared to the control group ($p<0.001$). A week after stroke induction, sensorimotor disorders in the control, estrogen, and Vitex groups were 50±7, 15±2, and 21±4.09, respectively. In fact, a significant difference was observed between the control and other groups ($p<0.001$).

CONCLUSION: The findings of the present study showed that Vitex extracts, similar to estrogen, have neuroprotective effects, following middle cerebral artery occlusion in ovariectomized mice.

KEY WORDS: *Vitex, Ovariectomized, Model of Middle Cerebral Artery Occlusion, Extract.*

Please cite this article as follows:

Alimohammadi R, Naderi S, Imani E, Shamsizadeh A, Mobini M, Razazadeh MH, Amin F, Allahtavakoli M. The Effects of the Ethanolic Extract of Vitex Agnus Castus on Stroke Outcomes in Ovariectomized Mice. J Babol Univ Med Sci. 2015; 17(3):20-7.

[*] Corresponding Author; M. Allahtavakoli (PhD)

Address: Physiology and Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, I.R. Iran

Tel: +98 391 5234003

E-mail: allahtavakoli@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.17.3.3.0]

[DOI: 10.22088/jbums.17.3.20]

References

1. Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. Trends Neurosci. 1999;22(9):391-7.

2. Ishrat T, Sayeed I, Atif F, Stein DG. Effects of progesterone administration on infarct volume and functional deficits following permanent focal cerebral ischemia in rats. Brain Res. 2009;1257:94-101.

3. Fisher M, Feuerstein G, Howells DW, Hurn PD, Kent TA, Savitz SI, et al. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. Stroke. 2009;40(6):2244-50.

4. Rosamond WD, Chambless LE, Folsom AR, Cooper LS, Conwill DE, Clegg L, et al. Trends in the incidence of myocardial infarction and in mortality due to coronary heart disease, 1987 to 1994. N Engl J Med. 1998;339(13):861-7.

5. Wenger NK, Speroff L, Packard B. Cardiovascular health and disease in women. N Engl J Med. 1993;329(4):247-56.

6. Alkayed NJ, Harukuni I, Kimes AS, London ED, Traystman RJ, Hurn PD. Gender-linked brain injury in experimental stroke. Stroke. 1998;29(1):159-66.

7. Alkayed NJ, Murphy SJ, Traystman RJ, Hurn PD, Miller VM. Neuroprotective effects of female gonadal steroids in reproductively senescent female rats. Stroke. 2000;31(1):161-8.

8. Rezazadeh H, Hosseini Kahnouei MH, Fatemi I, Shamsizadeh A, Hakimizadeh E, Allahtavakoli M. The Effect of Mechanical Control of Brain Blood Flow on the Embolic Model of Stroke after Delayed Tissue Plasminogen Activator Therapy in Ovariectomized Rat. J Babol Univ Med Sci. 2014;16(6):43-9. [In Persian]

9. Hammond CB. Women's concerns with hormone replacement therapy--compliance issues. Fertil Steril. 1994;62(6 Suppl 2):157S-60S.

10. Duncan AM, Phipps WR, Kurzer MS. Phyto-oestrogens. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2003;17(2):253-71.

11. Welshons WV, Murphy CS, Koch R, Calaf G, Jordan VC. Stimulation of breast cancer cells in vitro by the environmental estrogen enterolactone and the phytoestrogen equol. Breast Cancer Res Treat. 1987;10(2):169-75.

12. Yaman M, Eser O, Cosar M, Bas O, Sahin O, Mollaoglu H, et al. Oral administration of avocado soybean unsaponifiables (ASU) reduces ischemic damage in the rat hippocampus. Arch Med Res. 2007;38(5):489-94.

13. Castelló-Ruiz M, Torregrosa G, Burguete MC, Salom JB, Gil JV, Miranda FJ, et al. Soy-derived phytoestrogens as preventive and acute neuroprotectors in experimental ischemic stroke: influence of rat strain. Phytomedicine. 2011;18(6):513-5.

14. Honari N, Pourabolli I, Hakimizadeh E, Roohbakhsh A, Shamsizadeh A, Vazirinejad R, et al .Effect of vitex agnus castus extraction on anxiety-like behaviors in ovariectomized rats. J Babol Univ Med Sci(JBUMS). 2012;14(5)29-35.

15. Chen SN, Friesen JB, Webster D, Nikolic D, van Breemen RB, Wang ZJ, et al. Phytoconstituents from Vitex agnus-castus fruits. Fitoterapia. 2011;82(4):528-33.

16. Wuttke W, Jarry H, Christoffel V, Spengler B, Seidlova-Wuttke D. Chaste tree (Vitex agnus-castus)–Pharmacology and clinical indications. Phytomedicine. 2003;10(4):348-57.

17. Liu J, Burdette JE, Sun Y, Deng S, Schlecht SM, Zheng W, et al. Isolation of linoleic acid as an estrogenic compound from the fruits of Vitex agnus-castus L.(chaste-berry). Phytomedicine. 2004;11(1):18-23.

18. Clouthier S, Wicha M. Ketamine/Xylazine Containing Anesthesiafor Mouse Surgery, Preparation. Univ Michigan Health Sys. 2012; 2(1):1-2. Available at: http://www.med.umich.edu/wicha-lab/SOP/SOP%206.3-%20Ketamine%20Xylazine%20Anesthesia.pdf.

19. Emerton KB, Hu B, Woo AA, Sinofsky A, Hernandez C, Majeska RJ, et al. Osteocyte apoptosis and control of bone resorption following ovariectomy in mice. Bone. 2010;46(3):577-83.

20. Bogaert-Buchmann A, Poittevin M, Po C, Dupont D, Sebrié C, Tomita Y, et al. Spatial and Temporal MRI Profile of Ischemic Tissue after the Acute Stages of a Permanent Mouse Model of Stroke. Open Neuroimag J. 2013;7:4-14.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.17.3.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.3.20]

21. Ren C, Gao X, Niu G, Yan Z, Chen X, Zhao H. Delayed postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats. PLoS One. 2008;3(12):e3851.
22. Xing B, Chen H, Zhang M, Zhao D, Jiang R, Liu X, et al. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after focal cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat. Stroke. 2008;39(8):2362-9.
23. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura M, Davis R, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. Stroke. 1986;17(3):472-6.
24. Balkaya M, Kröber JM, Rex A, Endres M. Assessing post-stroke behavior in mouse models of focal ischemia. J Cereb Blood Flow Metab. 2013;33(3),:330–8.
25. Yang SH, Liu R, Perez EJ, Wang X, Simpkins JW. Estrogens as protectants of the neurovascular unit against ischemic stroke. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord. 2005;4(2):169-77.
26. Fiocchetti M, Ascenzi P, Marino M. Neuroprotective effects of 17β-estradiol rely on estrogen receptor membrane initiated signals. Front Physiol. 2012;3:73.
27. Hurn PD, Macrae IM. Estrogen as a Neuroprotectant in Stroke. J Cereb Blood Flow Metab. 2000;20(4):631-52.
28. Huang G, Cao X, Zhang X, Chang H, Yang Y, Du W, et al. Effects of soybean isoflavone on the notch signal pathway of the brain in rats with cerebral ischemia. J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo). 2009;55(4):326-31.
29. Schreihofer DA, Do KD, Schreihofer AM. High-soy diet decreases infarct size after permanent middle cerebral artery occlusion in female rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2005;289(1):R103-8.
30. Lovekamp-Swan T, Glendenning M, Schreihofer DA. A high soy diet reduces programmed cell death and enhances bcl-xL expression in experimental stroke. Neuroscience. 2007;148(3):644-52.
31. Choudhary MI; Azizuddin, Jalil S, Nawaz SA, Khan KM, Tareen RB, et al. Antiinflammatory and lipoxygenase inhibitory compounds from vitex agnus-castus. Phytother Res. 2009;23(9):1336-9.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.17.3.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.3.20]