

Original Article

## Neuroprotection effects of ethyl acetate and n-butanol fractions of the hydroalcoholic extract of *Tanacetum bodjnordens* on sciatic nerve compression in male rats

Mehri Ghahri<sup>1</sup>, Maryam Tehranipour<sup>2</sup>, Jina Khayatzadeh<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Background and Aims:** When a neuronal axon is damaged, it returns to the neuron cell body and destroys it. *Tanacetum bodjnordens* as antioxidant and anti-apoptotic effects. This study aimed to determine the neuroprotective effects of ethyl acetate and n-butanol and hydroalcoholic extracts of *Tanacetum bodjnordens* on sciatic nerve compression in male rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 36 male Wistar rats weighing 200-250 g were randomly divided into 6 groups (n=6). In the control group, the right thigh muscle of the rats was split after the anesthetization of the rats, while in the compression and treatment groups, the sciatic nerve was compressed for 60 seconds. The plant extract was injected intraperitoneally on the day of compression and seven days later. After 28 days, samples were taken from the lumbar spinal cord subsequent to performing the perfusion method. Afterward, 7- $\mu$ m serial sections were prepared and stained using toluidine blue stain after tissue passage. Eventually, the neuronal density of rats in the six groups was compared.

**Results:** Based on the results, the neuronal density in the compression group decreased significantly compared to controls and showed a significant increase in the hydroalcoholic, n-butanol, and aqueous phase treatment groups compared to that in the compression group ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** According to the results, it seems that *Tanacetum bodjnordens* leaf extract has neuroprotective effects that promote the regeneration process in damaged neurons and these effects are higher in the aqueous phase fraction.

**Keywords:** Degeneration, Neuronal density, Neuroprotective, *Tanacetum bodjnordens*



**Citation:** Ghahri M, Tehranipour M, Khayatzadeh J. [Neuroprotection effects of ethyl acetate and n-butanol fractions of the hydroalcoholic extract of *Tanacetum bodjnordens* on sciatic nerve compression in male rats]. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(2): 120-128. [Persian]

**DOI** <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.2.102>

**Received:** September 21, 2020

**Accepted:** May 15, 2021

<sup>1</sup> Student Research Committee, Department of Biology, Faculty of Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Iran

**Corresponding author:** Department of Biology, Faculty of Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Iran  
Tel: +985138435050 Fax: +985138435050 E-mail: [maryam\\_tehranipour@mshdiau.ac.ir](mailto:maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir)

## اثرات محافظت نورونی فراکسیون‌های اتیل استات و ان بوتانول عصاره هیدروالکلی برگ گیاه مینا بجنوردی (*Tanacetum bodjnordens*) بر کمپرسیون عصب سیاتیک در رت‌های نر

مهری قهری<sup>۱</sup>، مریم طهرانی پور<sup>۲</sup>، جینا خیاط زاده<sup>۲</sup>

### چکیده

زمینه و هدف: زمانی که آکسون نورونی دچار آسیب می‌شود، این آسیب به جسم سلولی نورون بازگشته و باعث تخریب آن می‌گردد. گیاه مینا بجنوردی دارای اثرات آنتی اکسیدانی و ضد آپوپتوزی است، این پژوهش به منظور تعیین اثرات محافظت نورونی فراکسیون‌های اتیل استات و ان بوتانول عصاره هیدروالکلی برگ گیاه مینا بجنوردی (*Tanacetum bodjnordens*) بر کمپرسیون عصب سیاتیک در رت‌های نر انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی ۳۶ راس رت نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم به صورت تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. در گروه کنترل پس از بیهوش کردن رت‌ها، عضله ران پای راست شکافته شد و در گروه‌های کمپرسیون و تیمار، عصب سیاتیک به مدت ۶۰ ثانیه تحت کمپرسیون قرار گرفت. تزریق عصاره به صورت داخل صفاقی در روز کمپرسیون و ۷ روز بعد انجام شد. بعد از ۲۸ روز، پس از اجرای متد پرفیوژن از نخاع ناحیه کمری نمونه برداری گردید و از نمونه‌ها پس از پاساژ بافتی برش‌های سریالی ۷ میکرونی آماده، با آبی تولوئیدین رنگ آمیزی و مقایسه دانسیته نورونی گروه‌ها انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که دانسیته نورونی در گروه کمپرسیون نسبت به کنترل کاهش معناداری یافته و در گروه‌های تیمار هیدروالکلی و ان بوتانول و فاز آبی نسبت به کمپرسیون افزایش معناداری نشان می‌دهد ( $P < 0.001$ ). نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که عصاره برگ مینا بجنوردی دارای اثرات نوروپروتکتیوی بوده که موجب پیشبرد فرآیند رژنراسیون در نورون‌های آسیب دیده شده است و این تأثیرات در فراکسیون فاز آبی بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: دژنراسیون، دانسیته نورونی، محافظت نورونی، گیاه مینا بجنوردی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۰؛ ۲۸(۲): ۱۲۰-۱۲۸.

دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۳۱ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۲۵

<sup>۱</sup> کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران  
<sup>۲</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران

نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران

آدرس: مشهد- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد- دانشکده علوم- گروه زیست شناسی

تلفن: ۳۸۴۳۵۰۵۰ نمابر: ۳۸۴۳۵۰۵۰ پست الکترونیکی: [maryam\\_tehrani pour@mshdiau.ac.ir](mailto:maryam_tehrani pour@mshdiau.ac.ir)

## مقدمه

جسم سلولی یک نورون محل ستر اجزای سیتوپلاسمی و غشای سطحی تمام بخش‌های سلول می‌باشد. هنگام قطع یک آکسون، بخش جدا شده از سلول به سرعت دچار دژنراسیون می‌شود (۱). غلاف میلین نیز با وجود آن که به وسیله نورون تولید نمی‌شود، به قطعات کوچکتری شکسته می‌شود. چگونگی تخریب آکسون‌های صدمه دیده با فرآیند والرین<sup>۱</sup> متفاوت می‌باشد؛ زیرا تخریب و فاگوسیتیه کردن قطعات در سیستم عصبی مرکزی با سرعت بسیار کمتری انجام می‌شود. قطعات تخریب شده آکسون‌های میلینه بعد از گذشت چند ماه از آسیب هم در ناحیه آسیب دیده قابل مشاهده هستند و سلول‌های فاگوسیتی (میکروگلی و اکنشی) که حاوی قطعات متلاشی شده می‌باشد، بعد از چند سال در ناحیه آسیب دیده باقی می‌ماند و محل رشته‌های تخریب شده را نشان می‌دهد (۲). تفاوت اساسی بین پیامدهای صدمه به سیستم عصبی محیطی با سیستم عصبی مرکزی تشکیل دوباره آکسون‌ها می‌باشد. چنانچه میزان تخریب بخش پروگزیمال شدید باشد، اثرات ضایعه رو به عقب به سوی جسم سلولی توسعه یافته و سبب دژنراسیون مرکزی (تخریب جسم سلولی) می‌شود؛ مثلاً اجسام نیسل شکسته شده و در سرتاسر سیتوپلاسم پراکنده می‌شود که این فرآیند را کروماتولیز<sup>۲</sup> گویند، همچنین هسته از موقعیت مرکزی خود به سمت محیط سلول تغییر مکان می‌دهد و جسم سلولی به دلیل تغییرات اسمزی متورم می‌گردد. دژنراسیون با متورم شدن آکسولما و تشکیل قطعات بیضی شکل ادامه می‌یابد (۳). مسیرهای سیگنالینگ که منجر به دژنراسیون آکسولما می‌شود، ناشناخته‌اند و نشان داده شده که آسیب حاد آکسونی پس از دژنراسیون آکسولما، ناپیوستگی گرانولی اسکلت سلولیاکسونی و ارگان‌های داخلی روی داده و اجتماع میتوکندری‌ها در نواحی پارانودال نزدیک نقاط آسیب دیده صورت می‌گیرد. فساد رتیکولوم سارکوپلاسمیک و تورم میتوکندری و ناپیوستگی آن‌ها رخ داده، میکروتوبول‌ها دپلمریزه می‌شوند و فساد نوروفیلانمت‌ها و دیگر ترکیبات اسکلت سلولی صورت می‌گیرد. در این وضعیت اگر

<sup>2</sup> Chromatolysis<sup>1</sup> Valerian

بدن بتواند شرایط را به سمت ترمیم تغییر دهد دژنراسیون تبدیل به رژنراسیون می‌شود (۴). برای ترمیم سیستم عصبی گاهی مواد موجود در گیاهان به دلیل بکر بودن و نداشتن اثرات جانبی می‌تواند مؤثر باشد. در این میان گیاه مینا بجنوردی Tanacetum bodjnordens گیاهی است که در طب سنتی استفاده‌های فراوانی دارد. گیاهی علفی، چند ساله، خیلی کوتاه به بلندی ۲۰-۵ سانتی‌متر است برگ‌های آن پهن، بیضی که قسمت قاعده برگ باریک شده، کمی گوشتی و ریشه‌ای یعنی برگ‌های از ناحیه یقه گیاه به‌طور چتری بیرون آمده‌اند و از وسط برگ‌ها ساقه‌ای بیرون می‌آید که منتهی به یک نهنج گل یا یک طبق گل می‌شود. شیخ الرئیس ابوعلی سینا، رازی و سایر حکمای ایران از عصاره این گیاه در کنترل و درمان انواع ناراحتی‌ها مثل سردرد، افزایش ترشح عرق و ادار، تسکین دردهای قاعدگی استفاده می‌کردند (۵). Discoied پزشک یونانی و Ajrared از آن در درمان مایخولیا، التهابات احتقان ریوی و درمان سرگیجه و سردردهای شدید استفاده می‌کردند. تحقیقات فراوان اتنوفارماکولوژی<sup>۳</sup> در اغلب کشورهای آسیایی و اروپایی نشان از مصارف فراوان این گیاه در درمان سردرد، میگرن، صدای زنگ در گوش، سرگیجه، آرتروز، تب، تنظیم قاعدگی و مسکن دردهای ناشی از آن، کاهش درد زایمان، شکم و دندان درد و گزش حشرات می‌باشد (۶). در قرن دهم میلادی از دمکرده گل‌های آن در درمان خونریزی‌ها، بهبود و التیام زخم استفاده می‌شده است (۷). با توجه به اثرات درمانی این گیاه در طب سنتی این تحقیق با هدف بررسی اثر نوروپروتکتیو فراکسیون‌های اتیل استات و ان بوتانول گیاه Tanacetum bodjnordens بر ترمیم نورون‌های الفای شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت‌های نر انجام شد.

## روش تحقیق

در این مطالعه تجربی برگ گیاه مینا بجنوردی از اطراف مشهد تهیه شده و توسط مرکز هرباریوم دانشکده علوم پایه دانشگاه

<sup>3</sup> Etnopharmacology

فردوسی مشهد به شماره هرباریومی ۲۵۴۸ تأیید شد. برگ گیاه مینا بجنوردی توسط دستگاه خرد کننده (آسیاب) کاملاً آسیاب گردید. پس از آن عصاره هیدروالکلی با استفاده از دستگاه سوکسله مدل H626 تهیه شد، برای این کار ۵۰ گرم پودر خشک برگ گیاه مینا بجنوردی را داخل کاغذ مخصوص کارتوش ریخته در دستگاه قرار داده و از ۲۵۰ سی سی اتانول خالص و ۲۵۰ سی سی آب مقطر به عنوان حلال استفاده شد. در پایان عصاره گیری با استفاده از کاغذ صافی عصاره فیلتر شده و سپس از عصاره هیدروالکلی حذف حلال صورت گرفت. سپس با استفاده از قیف بوختر به دفعات اتیل استات و آن بوتانول بر روی عصاره هیدروالکلی حل شده در سرم فیزیولوژی ریخته شد تا فراکسیون‌های مختلف جداسازی شد (۸).

این مطالعه از نوع تجربی با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1399.022 بوده است که برای انجام آن ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار با سن تقریبی ۶ هفته و وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم از موسسه سرم سازی رازی خریداری شده و در اتاق حیوانات گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تا زمان آزمایش نگهداری شدند. شرایط نگهداری، درجه حرارت ۲۱ درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۰٪ و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی بود؛ به طوری که همگی امکان دسترسی به آب و غذای کافی داشتند. حیوانات مورد آزمایش به شش گروه A: کنترل، B: کمپرسیون، C: کمپرسیون+ تیمار با دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره هیدروالکلی و D: کمپرسیون+ تیمار با فراکسیون اتیل استات دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم E: کمپرسیون+ تیمار با فراکسیون آن بوتانول دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم F: کمپرسیون+ تیمار با فراکسیون آبی دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم تقسیم شدند؛ به طوری که در هر گروه ۶ رأس موش قرار گرفتند. رت‌های هر گروه با تزریق درون صفاقی ماده بیهوشی زایلازین و کتامین به نسبت (۶۰ و ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش گردیدند (۹). پس از تراشیدن موهای بدن جانور در ناحیه ران پای راست، پوست به اندازه ۳-۲ سانتی‌متر شکافته شده سپس ماهیچه ران جهت مشخص شدن عصب سیاتیک تحت جراحی قرار گرفت. عمل کمپرسیون عصب سیاتیک پای راست با استفاده از قیچی قفل‌دار

(قفل دوم) به مدت ۶۰ ثانیه صورت گرفت. پس از کمپرسیون عصب، محل ضایعه ضد عفونی و توسط گیره فلزی بخیه زده شد. در گروه‌های تیمار، اولین مرحله تزریق عصاره با دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بلافاصله پس از عمل کمپرسیون انجام شد. پس از به هوش آمدن رت‌ها آن‌ها را به قفس‌های جداگانه انتقال داده و در شرایط استاندارد حیوانخانه نگهداری نمودیم. دومین مرحله تزریق عصاره در گروه‌های تیمار یک هفته پس از اولین تزریق صورت گرفت. پس از ۲۸ روز از تاریخ کمپرسیون، با استفاده از روش پرفیوژن ابتدا بافت‌های بدن حیوان را تا حدی فیکس می‌کنیم. برای این کار پس از بیهوش نمودن حیوان، از انتهای استخوان جناغ به صورت مثلثی برش زده به طوری که قفسه سینه شکافته شده و قلب نمایان گردد؛ سپس سوند متصل به دستگاه پرفیوژن را از انتهای بطن چپ وارد آنورت نموده به دنبال آن برشی در ناحیه دهلیز راست ایجاد شد. ابتدا به وسیله سرم فیزیولوژیک خون موجود در رگ‌ها را شسته سپس فیکساتور (فرمالین ۱۰٪ نمکی) وارد گردش عمومی خون شد و این‌گونه بافت‌های حیوان فیکس شد (۱۰). پس از آن از نخاع ناحیه کمری حیوانات نمونه برداری شد. نخاع تا انتهای مخروط انتهایی، از داخل ستون مهره‌ها خارج شده سپس از انتهای مخروط انتهایی نخاع ۱۸ میلی‌متر بالا رفته و نمونه‌هایی به طول ۸ میلی‌متر تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده به مدت دو هفته درون فیکساتور قرار گرفته و پس از آن وارد مراحل پاساژ بافتی شدند که شامل سه مرحله: آبیگری از بافت (با استفاده از الکل)، شفاف سازی (توسط زایلین) و مرحله آغشتگی با پارافین بود. برش‌گیری با استفاده از دستگاه میکروتوم انجام شد؛ به طوری که برش‌هایی با ضخامت ۷ میکرون ایجاد شد. برش‌گیری به صورت سریالی صورت گرفته و از هر ۳۰ برش ۳ برش متوالی به لام منتقل گشت؛ پس از آن نمونه‌ها با استفاده از رنگ آبی تلوتیدین رنگ آمیزی شدند. در مرحله بعدی با استفاده از دستگاه فتومیکروسکوپ از منطقه شاخ قدامی نخاع در سمت راست در لام‌های تهیه شده، از دو برش متوالی عکس‌هایی تهیه گردید. برای شمارش نورون‌های حرکتی  $\alpha$  شاخ قدامی نخاع در سمت راست از روش Disector استفاده شد. در این روش در یک چهارچوب مرجع نورون‌ها شمارش می‌گردند. اگر نورونی در

### یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی پدیده دژنراسیون مرکزی در طول ۲۸ روز پس از کمپرسیون و همچنین بررسی اثر محافظت نورونی گروه‌های تیمار شده با عصاره‌های هیدروالکلی و فراکسیون‌های اتیل استات و ان بوتانول و فاز آبی برگ گیاه مینا بجنوردی به صورت شمارش نورون‌های حرکتی آلفا در شاخ قدامی نخاع در جدول ارائه گردیده است. در این شمارش‌ها برای یکسان شدن مقایسه‌ها در تمام نمونه‌ها تعداد فرم‌ها ۳۰ در نظر گرفته شد. از آنجایی که ضخامت برش‌ها ۷ میکرون بوده پس در فرمول H مساوی با ۷ می‌شود. مساحت چهارچوب اندازه گیری نیز (۱۵ × ۱۵ × ۱۰<sup>۶</sup>) می‌شود.

چهارچوب مرجع باشد؛ ولی در چهارچوب بعدی (در برش متوالی بعدی) نباشد در شمارش به حساب می‌آید؛ ولی اگر نورونی در هر دو چهارچوب باشد در شمارش محسوب نمی‌شود (۱۱). پس از شمارش نورون‌ها دانسیته نورونی این‌گونه محاسبه گردید:  $ND = \frac{\Sigma Q}{\Sigma frame} \times V$  dissector که در آن:  $\Sigma Q$ : مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه است.  $\Sigma frame$ : مجموع دفعات نمونه برداری شده در یک نمونه است.  $V$  dissector: حجم چهارچوب نمونه برداری است که برابر است با:  $V = H \times A \times A$  مساحت چهارچوب:  $dissector = A \times H \times A$  مساحت چهارچوب نمونه برداری است.  $H$ : فاصله بین دو برش متوالی یا ضخامت هر برش می‌باشد. پس از به دست آوردن ND با استفاده از نرم افزار Minitab 13 و آزمون آماری ANOVA داده‌ها آنالیز شده و نتایج در سطح معناداری  $P < 0.05$  بررسی شدند.

گروه‌ها	کنترل	کمپرسیون	هیدروالکلی	اتیل استات	ان بوتانول	فاز آبی
دانسیته نورونی (انحراف معیار ± میانگین)	۸۴۲ ± ۲۷	۵۰۰ ± ۱۱	۵۸۵ ± ۳۷	۴۶۵ ± ۲۳	۶۱۳ ± ۳۲	۷۴۲ ± ۱۶

جدول ۱- تعداد نورون‌های شمارش شده در گروه‌های مختلف

و کمپرسیون تفاوت معنی داری در دانسیته تعداد نورون‌ها وجود دارد (نمودار ۱)، به صورتی که گروه کمپرسیون کاهش معناداری را نشان می‌دهد.

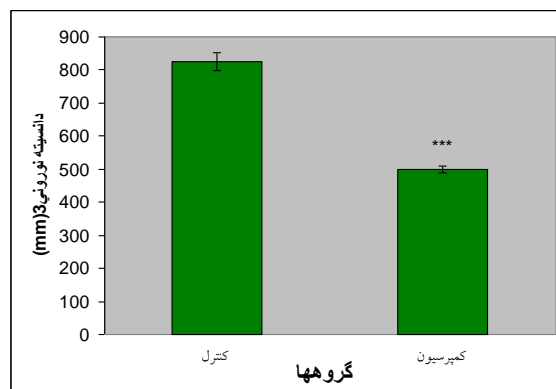


نمودار ۲- مقایسه دانسیته تعداد نورون‌های حرکتی آلفا شاخ

قدامی نخاع در گروه کمپرسیون و گروه‌های تیمار (تعداد=۶).

در هر گروه اعداد نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

\*\*\* نشان دهنده سطح معنی داری ( $P < 0.001$ ).



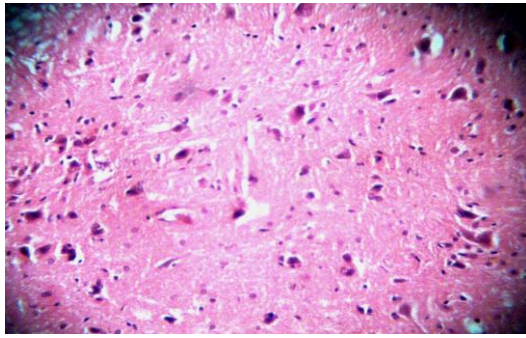
نمودار ۱- مقایسه دانسیته تعداد نورون‌های حرکتی آلفا شاخ

قدامی نخاع در گروه کنترل و کمپرسیون (تعداد=۶).

در هر گروه اعداد نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

\*\*\* نشان دهنده سطح معنی داری ( $P < 0.001$ ).

با توجه به  $P < 0.001$  مشخص می‌شود که بین دو گروه کنترل



شکل ۳- برش عرض نخاع در گروه (کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵ میلی گرم/کیلوگرم فاز آبی) (درشت نمایی 200x). رنگ آمیزی آبی تولیدین

جهت بررسی نتایج حاصل از تحقیق انجام شده تصاویر تهیه شده از برش‌های بافتی نخاع برای بررسی آلفا موتونورون‌های نخاع در نیمه راست شاخ قدامی مورد بررسی قرار گرفت. این تصاویر در اشکال (۱) الی (۳) خلاصه شده است.

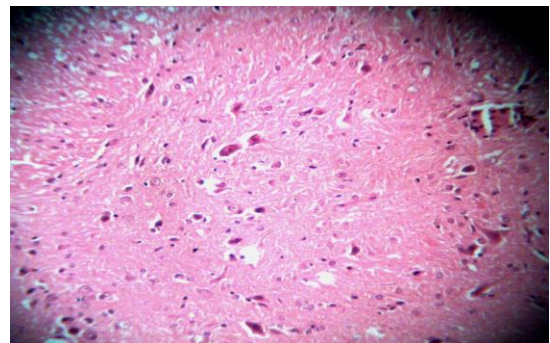
شکل‌ها نشان می‌دهند تزریق عصاره‌ها با (دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) پس از کمپرسیون عصب سیاتیک موجب تغییرات رژنراسیون در آکسون می‌شود. به دنبال تغییرات رژنراسیون در آکسون، در بعضی گروه‌ها جسم سلولی به حالت طبیعی در آمده و تورم سلولی کم می‌شود. این تغییرات در فاز آبی مشهودتر است.

## بحث

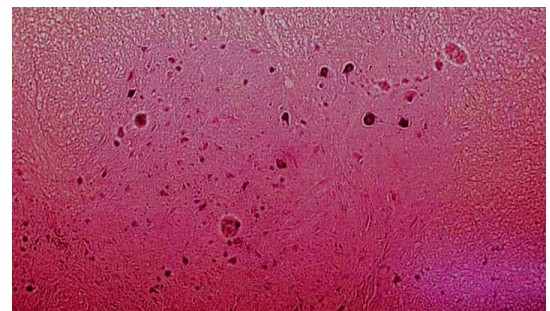
همان‌طور که در قسمت نتایج مشاهده می‌شود، دانسیته تعداد نورون‌ها در گروه کمپرسیون نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری دارد؛ به طوری که تعداد آلفا موتونورون‌های شاخ قدامی نخاع در گروه کمپرسیون کاهش قابل توجهی داشته است و این بدان معناست که اثرات کمپرسیون عصب سیاتیک به صورت رتروگراد بر جسم سلولی نورون‌های حرکتی در شاخ قدامی نخاع تأثیرگذار بوده و سبب پدید آمدن دژنراسیون مرکزی شده است.

در ارتباط با مکانیزم احتمالی دژنراسیون مرکزی نورون‌های آلفا می‌توان بیان کرد که اطلاعات عصبی ورودی به جسم سلولی نورون‌های آلفا که به طور طبیعی از طریق فیبرهای حسی دریافت می‌شوند پس از تخریب حذف می‌شوند. عصب سیاتیک که عصب مختلط است و دارای فیبرهای حسی و حرکتی قطور میلین دار است

با توجه به مقدار  $P < 0.001$  تست آماری نشان می‌دهد که بین گروه کمپرسیون و گروه‌های تیمار ان بوتانول و فاز آبی (کمپرسیون+تیمار با دوزهای ۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم) تفاوت معنی‌داری در دانسیته تعداد نورون‌ها وجود دارد (نمودار ۲) و این معناداری به صورت افزایش دانسیته تعداد نورون‌ها در گروه‌های تیمار می‌باشد. مقدار  $(P < 0.001)$  در مقایسه گروه کمپرسیون با تیمار هیدروالکلی نیز افزایش دانسیته نورونی مشاهده می‌شود؛ ولی معنی‌دار نیست. مقایسه گروه کمپرسیون با اتیل استات نشان داد که دانسیته نورونی در گروه اتیل استات نسبت به کمپرسیون کاهش داشته است؛ ولی این کاهش معنی‌دار نیست  $(P = 0.09)$ .



شکل ۱- برش عرض نخاع در گروه‌های کنترل (درشت نمایی 200x). رنگ آمیزی آبی تولیدین



شکل ۲- برش عرض نخاع در گروه کمپرسیون (درشت نمایی 200x). رنگ آمیزی آبی تولیدین

گزارش شده است. فلاونوئیدهای مهم موجود در مینا بجنوردی دارای ویژگی مهار رادیکال‌های آزاد هستند. این فلاونوئیدها از طریق شلاته کردن یون‌های فلزی فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌کنند (۱۵). بر اساس نتایج تحقیقات فوق، احتمال می‌رود یکی از مکانیسم‌هایی که عصاره گیاه به لحاظ اعمال حفاظت نورونی از آن بهره می‌برد، ویژگی آنتی‌اکسیدانی این گیاه باشد.

در این پژوهش آنالیز داده‌های مربوط به آزمون بررسی اثرات محافظت نورونی عصاره‌های هیدروالکلی (دوز ۷۵ mg/kg)، فراکسیون آن بوتانول (دوز ۷۵ mg/kg) و فراکسیون آبی (دوز ۷۵mg/kg) از گیاه مینای بجنوردی بر رژنراسیون ناشی از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت نشان داد که دانسیته نورونی گروه‌های تیمار شده با عصاره‌های فوق افزایش چشمگیری نسبت به گروه کمپرسیون داشته است؛ به طوری که این افزایش در گروه آن بوتانول و فاز آبی معنادار است.

مشاهدات فوق بیانگر آن است که احتمالاً این عصاره‌ها حاوی موادی با اثر نوروپروتکتیوی بر آلفا موتونورون‌های شاخ قدامی نخاع هستند و این اثر حفاظتی در گروه تیمار فاز آبی بیشتر از دو گروه دیگر می‌باشد. لذا می‌توان این گونه توجیه نمود که اجزای مؤثر گیاه مینای بجنوردی در فاز آبی نسبت به فراکسیون آن بوتانول و فراکسیون هیدروالکلی، به میزان بیشتری وجود دارد. در گل مینا ترکیبات ساپونین، تانن، مالیک اسید، وینیک اسید، استیک اسید، اکسالیک اسید، اسانس، یک ماده رنگی زرد، لعاب فراوان مشخص شده است (۱۶). یکی از ترکیبات فلاونوئیدی مهم موجود در این گیاهان ترکیبی به نام Quercetin می‌باشد که اثرات ضد التهابی، ضد تورمی و آنتی‌اکسیدانی آن به اثبات رسیده است. اثر ضد التهابی آن با مهار کردن تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی و پروستاگلاندین‌ها اعمال می‌شود. اثرات محافظت‌کننده نورونی Quercetin در مطالعات حیوانی دارای ضایعات مغزی و نخاعی به اثبات رسیده است. این ترکیب باعث کاهش ماکروفاژها در محل آسیب می‌گردد و اثرات التهاب را کاهش می‌دهد؛ همچنین آزادسازی میانجی‌های شیمیایی نظیر هیستامین را در موضع کاهش می‌دهد و از طریق کاهش میلوپراکسیداز در ناحیه آسیب‌دیده، آپوپتوز سلول‌های عصبی

تحت کمپرسیون که قرار می‌گیرد، فیبر حسی Aα نیز آسیب می‌بیند و نورون حرکتی آلفا اطلاعات ورودی کافی دریافت نخواهد کرد. دوم اینکه قطع فیزیولوژیک آکسون نورون‌های حرکتی آلفا موجب عدم دریافت عوامل تروفیک (به عنوان سیگنال‌های شیمیایی) به جسم سلولی نورون‌های حرکتی آلفا می‌شود و عدم دریافت عوامل تروفیک خود می‌تواند منتهی به مرگ نورونی شود (۱۲).

به طور کلی مطالعات انجام شده نشان داده است که بعضی از ترکیبات موجود در این گیاه مانند تیموکینون، نیژلون، کارواکرول، ساپونین‌ها، آلفا لینولینیک اسید، گاما لینولینیک و لیمونن دارای اثرات ضدالتهابی می‌باشند. اثرات ضد التهاب این ترکیبات با ادم ایجاد شده در پنجه پای رت توسط ماده کاراژینان<sup>۱</sup> و با آزمون صفحه داغ و زمان واکنش به آن، به اثبات رسیده است. مکانیسم احتمالی اثر آن بدین صورت است که تیموکینون اثر مهاری بر ایکوزانوئیدها<sup>۲</sup> به خصوص ترومبوکسان B2 و لکوترین B4 ایجاد می‌کند (۱۳).

ساپونین‌ها گروهی از گلیکوزیدهای قابل حل در الکل هستند که در بسیاری از گیاهان از جمله مینا بجنوردی یافت می‌شوند. گزارش‌های زیادی در ارتباط با اثرات ضد التهابی آن‌ها وجود دارد. ساپونین‌ها میانجی‌های التهابی نیتریک اکسید، پروستاگلاندین E2 و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا را مهار می‌کنند (۱۴)؛ بنابراین چنانچه در گروه‌های تیمار مرگ نورونی کاهش یافته است، شاید یکی از مکانیسم‌های احتمالی آن اثرات ضد التهابی ترکیبات این گیاه است.

متعاقب کمپرسیون عصب، در محل ضایعه سوپراکسیدها (مولکول‌های اکسیژن با یک الکترون اضافه) و نیتریک اکساید تولید شده و آسیب‌های اکسیداتیو را موجب می‌شوند. سوپر اکسیدها به پراکسید هیدروژن متصل شده و رادیکال‌های هیدروکسیل را به وجود می‌آورند. تجمع این رادیکال‌ها سبب آسیب‌های ثانویه بافت آسیب دیده شده و در نهایت می‌توانند منجر به مرگ نورون‌ها شوند. آنتی اکسیدان‌ها نقش ارزنده‌ای در حفاظت نورونی بر عهده دارند. گیاه مینا بجنوردی دارای آثار بارز آنتی‌اکسیدانی است و در پژوهش‌های متعدد اثرات ضد اکسایشی عصاره و ترکیبات تشکیل دهنده آن

<sup>1</sup> Karajinan

حالت طبیعی برمی گردد. به خصوص در فاز آبی که شکل سلول بسیار شبیه سلول نرمال شده است. هسته در وسط و کروی شدن جسم سلولی حکایت از کاهش دژنراسیون و یا افزایش روند ترمیم دارد که این نتایج همسو با نتایج دانسیته نورونی است که در فاز آبی بیشترین افزایش در دانسیته نورونی مشاهده شده است.

### نتیجه گیری

آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد که دانسیته نورونی در تمام گروه‌های تیمار نسبت به گروه کمپرسیون افزایش یافته است. در این میان فاز آبی بیشترین افزایش را داشته است. به‌طور کلی این گیاه احتمالاً با داشتن اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی اثرات ترمیمی خود را اعمال می‌کند.

### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه با کد ۲۰۷۳۵ برای دریافت درجه کارشناسی ارشد بود. به این وسیله از همه همکاران گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مدیر گروه خانم دکتر بالانژاد و ریاست دانشکده علوم آقای دکتر جاوید برای همکاری‌های بی‌دریغ‌شان تشکر و قدردانی می‌شود.

### تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

را کاهش داده و باعث محافظت آن‌ها می‌گردد (۱۷). در میان تمام فراکسیون‌ها فاز آبی دارای بیشترین اثر نوروپروتکتیوی بوده است. دانسیته نورونی در این گروه به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. شاید بتوان گفت ویتامین C موجود در این گیاه با داشتن اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی به خوبی توانسته از تخریب سیستم عصبی جلوگیری نموده و یا باعث افزایش سرعت ترمیم آن می‌گردد.

در این پژوهش آنالیز داده‌های مربوط به آزمون بررسی اثرات نوروپروتکتیوی فراکسیون اتیل استات بر رژنراسیون ناشی از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت نشان داد که تفاوت معناداری بین دانسیته نورونی گروه کمپرسیون و گروه تیمار فراکسیون اتیل استات با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وجود ندارد. پس می‌توان این‌گونه بیان نمود که احتمالاً مواد مؤثر بر ترمیم آلفا موتونورون‌های شاخ قدامی نخاع، در فراکسیون اتیل استات وجود نداشته‌اند، یا مقدار آن‌ها با توجه به دوز و دفعات تزریق شده (دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، دو بار تزریق در دوره درمان) به میزانی نبوده که در جلوگیری از دژنراسیون مؤثر واقع گردد. در فراکسیون اتیل استات حاصل از عصاره هیدروالکلی، اجزای بینابینی موجود در عصاره، مانند فسفولیپیدها یافت می‌شود که البته برای شناسایی دقیق‌تر مواد قابل حل در اتیل استات، نیاز به انجام آزمایش‌های تخصصی می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی‌های بافت‌شناسی گروه‌ها نیز این مطلب را تأیید می‌کند که در برش‌های گروه کمپرسیون آثار تخریب سلولی با جابجایی هسته به کنار سلول و تغییر شکل سلول از کروی به مثلثی مشهود است. در حالی‌که در گروه‌های تیمار شکل سلول به

### منابع:

- 1- Bechmann I. Failed central nervous system regeneration. *Neuromolecular Med.* 2005; 7(3): 217-28. DOI: [10.1385/NMM:7:3:217](https://doi.org/10.1385/NMM:7:3:217)
- 2- Dahlin LB. and Brandt J. Basic science of peripheral nerve repair: Wallerian degeneration/growth cones. *Oper Tech Orthop.* 2004; 14(3): 138-45. DOI: [10.1053/j.oto.2004.06.004](https://doi.org/10.1053/j.oto.2004.06.004)
- 3- Fenrich K. and Gordon T. Axonal regeneration in the peripheral and central nervous systems-current issues and advances. *Can J Neurol Sci.* 2004; 31: 142-56. [Link](#)
- 4- Cimino-Mathews AM. Peripheral nerve sheath tumors. *Surg Pathol Clin.* 2011; 4(3): 761-82. DOI: [10.1016/j.path.2011.08.004](https://doi.org/10.1016/j.path.2011.08.004)



- 5- Jaimand K, Rezaee MB. Chemical constituents of essential oils from *Tanacetum balsamita* L.J Essent Oil Res. 2005; 17(5): 565-566. DOI: [10.1080/10412905.2005.9698996](https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698996)
- 6- Susrurluk H, Caliskan Z, Gurkan O, Kırmızıgül S, Goren NB. Antifeedant activity of some *Tanacetum* species and bioassay guided isolation secondary metabolites of *Tanacetum cadmeum* ssp. *cadmeum* (Compositae). Ind Crops Prod. 2007; 26(2): 220- 8. DOI: [10.1016/j.indcrop.2007.04.002](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.04.002)
- 7- Tiunan TS, Ueda-Nakamura T, Garcia Cortez DA, Dias Filho BP, Morgado-Díaz JA, de Souza W, et al. Antileishmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from *Tanacetum parthenium*. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(1): 176- 82. DOI: [10.1128/AAC.49.11.176-182.2005](https://doi.org/10.1128/AAC.49.11.176-182.2005)
- 8- Cicchetti E, Chaintreau A. Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural vanilla flavors. J Sep Sci. 2009; 32(11): 1957-64. DOI: [10.1002/jssc.200800650](https://doi.org/10.1002/jssc.200800650)
- 9- Behnam-Rasouli M, Nikravesh MR, Mahdavi-Shahri N, Tehranipour M. Post-Operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alpha motoneurons ,using a stereological (Disector). Iran Biomed J. 2000; 4(1): 45-9. [Link](#)
- 10- 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 rat. J Biol Sci. 2010; 10(1): 48-52. [Link](#)
- 11- Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. J Microsc. 1984; 134(Pt 2): 127-36. DOI: [10.1111/j.1365-2818.1984.tb02501.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1984.tb02501.x)
- 12- Johnson EO, Charchant A, Soucacos PN. (2008). Nerve repair: Experimental and clinical evaluation of neurotrophic factors in peripheral nerve regeneration. Injury. 2008; 39(3): 37-42. DOI: [10.1016/j.injury.2008.06.015](https://doi.org/10.1016/j.injury.2008.06.015)
- 13- Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H. Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. Phytother Res. 2004; 18(3): 195- 9. DOI: [10.1002/ptr.1390](https://doi.org/10.1002/ptr.1390)
- 14- Yuan G, Wahlqvist ML, He G, Yang M Li D. Natural products and anti-inflammatory activity. Asia Pac J Clin Nutr. 2006; 15(2): 143-52. [Link](#)
- 15- Merfort I, WaryV, Barakat HH, Hussein SAM, Nawwar MAM, Wiuhn G. Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. Phytochemistry. 1997; 46(2): 359-63. DOI: [10.1016/S0031-9422\(97\)00296-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00296-3)
- 16- Malekpoor F; Pirbalouti AG; Salimi A; Shabani L; Sharifi M; Hamed B. Antimicrobial and antioxidant activities and total phenolic content of *Tanacetum polycephalum* Schutz. Bip. as a folkloric herb in South western Iran. Indian J Tradit Knowl. 2015; 14(30): 370–75. [Link](#)
- 17- Misra UK Kalita J. Toxic neuropathies. Neurol India. 2009; 75(6): 697-705. DOI: [10.4103/0028-3886.59463](https://doi.org/10.4103/0028-3886.59463)