

دانشور

پزشکی

تشدید تشنجات ناشی از انفوزیون وریدی پنتیلن تترازول توسط عصاره آبی الکلی نیتامنتوئیدس در موش کوچک آزمایشگاهی

نویسندگان: اژدر حیدری^۱، بتول رحمتی^۲، محسن خلیلی^۳، مهرداد
روغنی^۳، فاطمه زائری^{*۱}

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

E-mail: ztaeb@yahoo.com

* نویسنده مسئول: فاطمه زائری

چکیده

مقدمه و هدف: مصرف تکراری اسطوخودوس در طب سنتی ایران برای برخی از اختلالات عصبی، از جمله صرع توصیه شده است. در ایران هم لوندولا افیشینالیس وارداتی و هم نیتامنتوئیدس بومی با نام اسطوخودوس شناخته می‌شوند. علی‌رغم وجود گزارشات مبنی بر اثرات ضد صرعی و آنتی‌اکسیدانی لوندولا افیشینالیس، از این نظر هیچ گزارشی درباره نیتامنتوئیدس در دسترس نیست؛ لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر ضد صرعی و آنتی‌اکسیدانی عصاره نیتامنتوئیدس بر تشنج ناشی از تزریق داخل وریدی زمان‌بند پنتیلن تترازول (PTZ) در موش طرح‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها: مدل تشنجی توسط انفوزیون داخل وریدی زمان‌بند PTZ در نظر گرفته شد و اثر ضد تشنجی و آنتی‌اکسیدانی ده روز پیش درمان با نیتامنتوئیدس مطالعه گردید. PTZ توسط کاتتر وریدی دمی تجویز شد و دوز آستانه PTZ از روی زمان لازم برای ایجاد تشنجات کلونیک، وزن بدن حیوان و میزان حجم انفوزیون PTZ تعیین گردید. دیازپام به عنوان یک داروی ضد صرع به منظور مقایسه تست شد.

نتایج: برخلاف دیازپام، نیتا خصوصیات ضد صرعی نشان نداد؛ زیرا نه تنها دوز آستانه تشنج PTZ را افزایش نداد که در دوزهایی آن را کاهش داد. یعنی نیتا به‌طور معناداری استعداد ابتلا به صرع را افزایش داد ($P < 0.05$). نیتا موجب افزایش معنادار سطح NO مغز نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0.05$)، اما بر میزان MDA بی‌اثر بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه بیان می‌کند نیتامنتوئیدس نه تنها از ایجاد تشنجات جلوگیری نکرد، بلکه استعداد ابتلا به آن را افزایش داد. همچنین باتوجه به افزایش NO توسط نیتا، احتمالاً بتوان نیتراکساید را یک عامل پیش‌برنده صرع معرفی کرد.

واژگان کلیدی: نیتامنتوئیدس، اسطوخودوس، انفوزیون پنتیلن تترازول (PTZ)، تشنج، صرع.

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وسوم-شماره ۱۱۹
آبان ۱۳۹۴

دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۱

آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۴/۰۷/۲۱

پذیرش: ۱۳۹۴/۰۷/۲۹

مقدمه

صرع^۱ شایع‌ترین بیماری نورولوژیکی است که افراد در همه گروه‌های سنی را مبتلا می‌سازد. (۱ و ۲) صرع با شیوع ۳٪ یک اختلال عصبی جدی و شایع است که در ناهنجاری‌های ژنتیکی اولیه و همچنین پیامد انواع بیماری‌های ساختاری و متابولیک مغز دیده می‌شود. (۳) عوارض جانبی و مقاوم‌بودن حملات صرعی نسبت به بعضی از داروهای رایج، مطالعه رویکردهای جدید درمانی را الزامی می‌سازد. داروی ضد صرع ایدئال باید تشنجات را متوقف کند، بدون اینکه اثر جانبی ناخواسته از خود بر جای گذارد. استفاده از گیاهان، عصاره گیاهان یا ترکیب‌های شیمیایی خالص مشتق‌شده از گیاهان برای درمان روش درمانی است که امروزه به خصوص مورد توجه قرار گرفته است. (۴)

در طب سنتی به تأثیرات مفید بعضی از گیاهان دارویی، از جمله مصرف مکرر اسطوخودوس در درمان بعضی از بیماری‌های اعصاب به ویژه صرع اشاره شده است. (۶) نکته قابل توجه اینکه، در ایران هم لوندولا افیشینالیس وارداتی و هم نیتامنتوئیدس بومی با نام اسطوخودوس شناخته می‌شوند و این در حالی است که علی‌رغم وجود گزارشی مبنی بر اثرات ضد صرعی لوندولا افیشینالیس، هیچ گزارشی مبنی بر اثر نیتامنتوئیدس بر شدت تشنجات، چه در ایران و چه در خارج از کشور، در دسترس نیست. گونه (Family nepeta menthoides Boiss. & Buhse (Labiatae یا پونه سای سبلانی که در ایران به‌عنوان اسطوخودوس خراسانی شناخته می‌شود، یکی از گونه‌های انحصاری از تیره نعناع می‌باشد که در شمال غرب کشور و منطقه آذربایجان پراکنده است. در فلور ایران کوه سبلان جزء مناطق پراکنش این گونه ذکر شده است.

پونه سای سبلانی گیاهی است علفی، چندساله، بالارونده و افراشته به ارتفاع ۱۵ تا ۴۰ سانتی‌متر که

واجد گل‌های بنفش‌فام می‌باشد. (۷) گزارش شده است که گونه‌های مختلف جنس نپتا از قدیم به دلیل اثرات ضد تشنج، ضد سرفه و آسم و نیز اثرات ضد عفونی‌کنندگی در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. (۸) همچنین جنس نپتا به‌عنوان اسطوخودوس در طب سنتی ایران (۶) و نیز در مطالعات اخیر (۹) به‌عنوان دارویی مؤثر بر اختلالات سیستم عصبی شناخته شده است. گونه نیتامنتوئیدس به‌عنوان آرام‌بخش، پایین‌آورنده تب و برطرف‌کننده دردهای معده مصرف می‌شود. (۷) اخیراً نیز اثر محافظت عصبی آن در جلوگیری از مرگ برنامه‌ریزی شده ناشی از آکسوتومی در نورون‌های حرکتی نخاعی گزارش گردیده است. (۱۰) همچنین اثر آن در کاهش درد و التهاب بیان شده است. (۷) به علاوه اثر آن در بهبود وضعیت حافظه نیز گزارش شده است. (۱۱) عصاره این گیاه دافع حشرات به ویژه پشه آنوفل نیز می‌باشد. (۱۲) علی‌رغم مطالعات فراوان بر روی گونه نیتامنتوئیدس، درباره اثرات ضد صرعی آن هیچ مطالعه‌ای صورت نگرفته است و این در حالی است که احتمال آن می‌رود که این گونه تحت عنوان اسطوخودوس بومی، به جای لوندولا افیشینالیس (اسطوخودوس) در درمان صرع مورد استفاده قرار گیرد؛ حال آنکه برخلاف لوندولا، هیچ شواهدی مبنی بر اثرات ضد صرعی یا صرع‌زایی نیتامنتوئیدس موجود نیست. بنابراین، این تحقیق به‌منظور بررسی اثر عصاره نیتامنتوئیدس بر شدت تشنجات ناشی از تزریق داخل وریدی زمانبند پنتیلن تترازول (PTZ) در موش کوچک آزمایشگاهی طرح‌ریزی شد تا اثر ضد صرعی یا صرع‌زایی نپتا به اثبات رسیده و از این نظر از لوندولا افیشینالیس تفکیک داده شود.

از طرف دیگر مدارکی مبنی بر دخالت استرس اکسیداتیو در پاتوژنز برخی از اشکال صرع موجود است. رادیکال‌های آزاد می‌توانند موجب تخریب غشا و اختلال عملکرد نورون شوند. رادیکال‌های آزاد اثرشان

1- Epilepsy

محلول شامل ۵۲۰ سی سی آب مقطر و ۱۴۰۰ سی سی الکل (اتانول ۷۰درجه) اضافه کردیم و سپس ۴۸ ساعت در محیط تاریک قرار گرفت. سپس با جدا کردن تفاله‌ها از محلول باقی‌مانده، محلول به دفعات صاف شده، در بن‌ماری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و به این ترتیب، عصاره آبی‌الکلی گیاه با یک قوام عسلی‌شکل به دست آمد. در مرحله بعد دوزهای انتخابی با استفاده از نرمال سالین برای مطالعه تهیه شد.

روش ایجاد تشنج: انفوزیون پنتیلن‌تترازول

در این مدل ابتدا گروه‌ها در ده روز متوالی تحت پیش‌درمان با داروها قرار می‌گیرند که کلیه تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام می‌شود. سپس در روز دهم ماده شیمیایی پنتیلن‌تترازول در یک دوز با غلظت mg/ml ۵ در نرمال سالین و سرعت ۰/۵ ml/min از طریق ورید جانبی دم حیوان تزریق می‌گردد. در شروع کار ابتدا حیوان وزن شده و ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ در گروه‌های کنترل و آزمایشی تزریق داخل صفاقی انجام می‌گیرد. سپس دم حیوان به مدت یک دقیقه در آب گرم با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد تا وریدهای دمی متسع شود. سپس حیوان را در مهارکننده قرار داده و سر سوزن دندان‌پزشکی شماره ۲۷ متصل به لوله رابط پلی اتیلنی که به پمپ تزریق متصل است، وارد ورید می‌شود. در صورت مشاهده خون و تصدیق محل ورود، سوزن با چسب مخصوص به دم فیکس می‌شود و به حیوان اجازه داده می‌شود تا در محفظه مخصوص شیشه‌ای آزادانه حرکت کند. تزریق PTZ توسط پمپ با سرعت ۰/۵ ml/min شروع می‌شود و تا مشاهده تشنج میوکلونیک ادامه می‌یابد. (۱۵)

حیوان در طول مدت تزریق تحت نظر بوده و زمان بین شروع تزریق و شروع تشنج میوکلونیک برحسب دقیقه ثبت می‌شود. زمان ثبت شده برای هر مرحله با استفاده از فرمول زیر به دوز آستانه تشنج (میلی‌گرم) دارو به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تبدیل می‌شود (۱۶)

را روی حملات تشنجی از طریق افزایش سطح گلوتامات مغزی، فعال کردن گیرنده‌های NMDA و نیز تولید NO اعمال می‌کنند. (۱۳) لیپیدها حساس‌ترین بیومولکول شناخته شده‌اند که رادیکال‌های آزاد تولیدشده به آن آسیب می‌رسانند. مالون‌دی‌آلدید (MDA) شاخص پراکسیداسیون لیپیدهاست که اثرات خطرناکی در بافت‌های مختلف دارد. افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در مغز حیوانات صرعی شده با کلرید آهن و کاینات مشاهده شده است. (۱۴) بنابراین در مطالعه حاضر، ضمن بررسی عصاره نپتا بر تشدید یا مهار حملات صرعی، به‌منظور یافتن مکانیسم احتمالی آن در مواجهه با عوامل صرع‌زا، اثرات آن را بر سطح NO و MDA بافت مغز نیز مطالعه می‌کردیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش: موش‌های سوری سفید نر با محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم از مؤسسه رازی تهیه شدند و در حیوان‌خانه دانشگاه شاهد تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و رطوبت ۳۰ تا ۴۰ درصد و حرارت ۲۰-۲۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (در هر قفس حداکثر ۱۰ موش سوری). موش‌ها آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه پیش از شروع آزمایش، حیوان‌ها به آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا با محیط سازش حاصل کنند. حیوانات به‌طور تصادفی به پنج گروه ده‌تایی شامل سه گروه تحت تیمار با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg و گروه نیتامنتوئیدس، گروه PTZ و گروه کنترل مثبت دیازپام ۱ mg/kg تقسیم شدند.

روش تهیه عصاره

بخش‌های هوایی نیتامنتوئیدس که از یک فروشگاه محلی در تهران تهیه گردید، توسط پروفیسور امین، رئیس هرباریم دانشکده داروسازی علوم پزشکی تهران و با voucher number PMP-315 مشخص گردید. بعد از آسیاب کردن ۵۰۰ گرم گیاه نیتامنتوئیدس، حدود ۲ لیتر

که داده‌های ما را شامل می‌گردد.

دوز آستانه تشنج = زمان ثبت شده (min) * سرعت تزریق (ml/min) * غلظت دارو (mg/ml) / وزن (kg)

چیمنی تست

برای بررسی اثر عوارض جانبی حاد و مزمن برخی از داروها بر روی عملکرد حرکتی موش به کار می‌رود. در این تست حیوانات باید از یک لوله پلاستیکی با قطر داخلی ۳ سانتیمتر و طول ۲۵-۳۰ سانتیمتر به صورت عقب‌گرد بالا بروند. اختلال حرکتی با ناتوانی موش در بالا رفتن به صورت عقب‌گرد در طی ۶۰ ثانیه نشان داده می‌شود. داده ما را درصد موش‌هایی که قادر به بالا رفتن از این لوله پلاستیکی نیستند، تشکیل می‌دهد. (۱۷)

اندازه‌گیری برخی فاکتورهای بیوشیمیایی بافت مغزی

به منظور سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی بعد از بررسی‌های رفتاری، باید سر موش‌ها راقطع کرده و مغز آن‌ها را درآورد. این کار به این صورت انجام شد که پس از ثبت مشاهدات رفتاری، تمامی حیوانات در همه گروه‌ها را ابتدا با اتر بیهوش کرده، سرشان را بریده و مغز آن‌ها را به سرعت خارج نمودیم. بعد از خارج کردن، مغز دو بار در سالین سرد شسته شد. سپس حجم مغز را به دست آورده و چهار برابر آن بافر تریس (pH= ۷/۴ و ۵۰ mM) اضافه شد. سپس مغزها به همراه بافر ذکر شده به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر با دور ۵۰۰۰ rpm (دور در دقیقه) هموژنیزه شدند. ترکیب حاصل برای مدت ۲ هفته در فریزر $^{\circ}\text{C} -70$ نگهداری شد. پس از این مدت نمونه‌ها در دستگاه سانتریفوژ سرد در ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از محلول سانتریفوژ شده جدا شده، بخش زیرین رسوب کرده را دور ریخته و محلول شفاف رویی برای سنجش‌های آنزیمی و پروتئینی مورد استفاده قرار گرفت. (۱۸)

سنجش میزان مالون‌دی‌آلدهید

اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بر پایه روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBA) است که در دمای ۹۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انجام می‌گیرد. در این آزمایش، مالون‌دی‌آلدهید با باربیتوریک اسید واکنش داده و رنگ صورتی ایجاد می‌کند که حداکثر جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر است. واکنش در $\text{PH} = 2-3$ و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. (۱۹) بعد از سرد کردن، جذب نوری خوانده شد. برای این منظور ابتدا رقت‌های استاندارد تهیه گردید. تهیه رقت‌های استاندارد به این صورت بود که ۱ میکرولیتر از استاندارد تتراآتوکسی پروپان به ۳ میلی‌لیتر از محلول کاری در یک لوله آزمایش اضافه شد. محلول کاری شامل ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۲۰٪ و ۱/۵ میلی‌لیتر مواد واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید ۱٪ بود که در دی‌متیل سولفوکسید حل شد. برای لوله دوم ۰/۳ میلی‌لیتر از محلول اول و ۲/۷ میلی‌لیتر از آب مقطر استفاده کردیم. در لوله سوم ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول لوله دوم و ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. تا لوله هشتم این کار را انجام دادیم. غلظت‌های به دست آمده شامل (۰/۰۲۸۱۲۷۵، ۰/۰۰۵۶۲۵، ۰/۰۱۱۲۵، ۰/۰۲۲۵، ۰/۰۴۵، ۰/۰۹ و ۰/۰۹) بود. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید (جهت جداسدن پروتئین‌ها) و ۱/۵ میلی‌لیتر از مواد واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید (به منظور واکنش با تیوباربیتوریک اسید و ایجاد رنگ برای شناسایی MDA) برداشته و به ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های مغزی سانتریفوژ شده، اضافه شد. تمامی نمونه‌های در رقت‌های مختلف را به مدت ۸۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه قرار داده تا واکنش‌ها صورت گیرد. سپس محلول‌ها در دور ۳۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شده و جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای تهیه بلانک، ۱/۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید و ۱/۵

سنجش میزان نیتریک اکساید بافت مغزی (NO)

باتوجه به امکانات موجود و اینکه اندازه گیری NO بافت مغز به تنهایی نیز پارامتر باارزشی است. (۱۳) سنجش غلظت نیتریک اکساید بافت مغزی که بر اساس واکنش گریس صورت می گیرد، مورد مطالعه قرار گرفت. به علت اینکه سنجش مستقیم نیتریک اکساید در نمونه های بیولوژیکی مشکل است، مقدار نیتريت (-NO₂) و نیترات (-NO₃) به عنوان شاخصی برای تولید نیتریک اکساید محسوب می شود. (۱۸ تا ۲۱)

محلول کاری حاوی سولفانیل آمید ۱٪، نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلرید ۰/۱٪ و ارتوفسفوریک اسید ۲/۵٪ است. برای سنجش نیتریک اکساید، ۱ میلی لیتر از بافت هموژنیزه مغز و ۱ میلی لیتر از محلول گریس مورد نیاز است که به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق نگهداری می شود و در طول موج ۵۴۰ نانومتر جذب نوری آن خوانده می شود که با غلظت شناخته شده ای از سدیم نیتريت مقایسه می شود. جهت تهیه استاندارد ۳/۴۵ میلی گرم سدیم نیتريت را در ۵ میلی لیتر محلول کاری حل کردیم. برای لوله دوم ۰/۵ میلی لیتر از محلول لوله اول به همراه ۴/۵ میلی لیتر محلول کاری اضافه می کنیم و این کار را تا لوله ششم انجام می دهیم. (غلظت های به دست آمده mg/ml ۰/۰۰۰۰۳۴۵، ۰/۰۰۰۳۴۵، ۰/۰۰۳۴۵، ۰/۰۳۴۵ و ۳/۴۵ است.) در ضمن بلانک با محلول کاری صفر می شود. بدین ترتیب دستگاه، جذب نوری و غلظت نیتريت تمام نمونه ها و غلظت های استاندارد را نشان خواهد داد. در نهایت غلظت نیتريت بافت مغزی در نمونه های گروه های آزمایشی با استفاده از انطباق مقادیر جذب نوری به دست آمده از نمونه ها بر روی منحنی غلظت استاندارد به دست آمد. نتایج نشان دهنده میلی گرم نیتريت در گرم پروتئین بافت مغزی بود. (۲۱)

روش های آماری

در این مطالعه نتایج به دست آمده به صورت میانگین

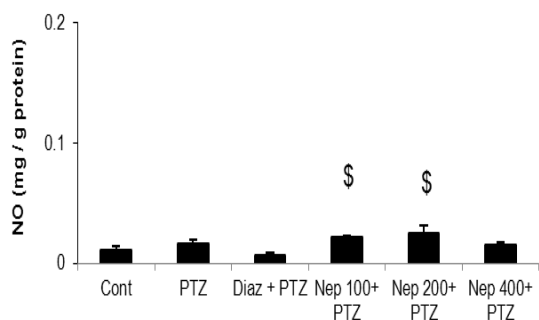
میلی لیتر از مواد واکنش دهنده با تیوباریتوریک اسید را باهم مخلوط کرده و در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۸۰ دقیقه تحت حرارت قرار گرفت. منحنی استاندارد بر اساس رقت های تتراتوکسی پروپان تهیه شد و جذب های نوری به دست آمده از نمونه ها در منحنی استاندارد تطبیق داده شده و غلظت مالون دی آلدید در نمونه ها که مربوط به گروه های آزمایشی بود، به دست آمد. غلظت MDA به صورت میکروگرم در گرم پروتئین بافت مغزی به دست آمد. (۱۸ و ۱۹)

سنجش میزان پروتئین بافت مغزی

سنجش پروتئین بافت مغزی با روش برادفورد انجام می گیرد. در این روش ابتدا معرف کوماسی بلو تهیه شد. برای این منظور ۵۰ میلی گرم کوماسی بلو را با ترازو وزن کرده و در ۲۵ میلی لیتر اتانول ۹۵٪ درصد حل کرده و سپس ۵۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵٪ اضافه شد. هنگامی که رنگ حل شد، با ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر رقیق کرده و سپس با کاغذ صافی، صاف شد. برای سنجش غلظت پروتئین در نمونه های بافت مغزی، از هر نمونه بافت مغز موش ها ۶۰ میکرو لیتر برداشته و به ۳ میلی لیتر از محلول کاری اضافه شد. همچنین غلظت های استاندارد تهیه شد. برای این منظور ۵ میلی گرم آلومین را در ۵ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و در لوله دوم ۴ میلی لیتر از محلول اول و ۱ میلی لیتر آب مقطر و در لوله سوم ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی لیتر از لوله دوم اضافه می کنیم و به این ترتیب غلظت های استاندارد تهیه شد ($\mu\text{g/ml}$ ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰). تمامی محلول ها ۵ دقیقه انکوبه شدند و سپس جذب نوری آن ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. در نهایت، غلظت پروتئین بافت مغزی در نمونه های گروه های آزمایشی با استفاده از انطباق مقادیر جذب نوری به دست آمده از نمونه های بر روی منحنی غلظت استاندارد به دست آمد. نتایج بر حسب میکروگرم در میلی لیتر می باشد. (۲۰)

اثر دوزهای مختلف عصاره آبی الکی گیاه نپتامنتوئیدس بر میزان نیتریک اکساید بافت مغز در مدل انفوزیون حاد PTZ

میانگین میزان NO در گروه PTZ (0.165 ± 0.003) میلی گرم در گرم پروتئین بود که در گروه کنترل به (0.11 ± 0.003) میلی گرم در گرم پروتئین افزایش یافت. در حالی که در گروه دیازپام 1 mg/kg به (0.002 ± 0.0067) کاهش یافت، گرچه این تغییرات معنادار نبود. میزان NO در گروه درمانی نپتا با دوز 100 mg/kg (0.214 ± 0.001)، در گروه درمانی نپتا با دوز 200 mg/kg (0.253 ± 0.005) و در گروه درمانی نپتا با دوز 400 mg/kg (0.15 ± 0.002) میلی گرم در گرم پروتئین بود. در گروه‌های نپتا با دوز 200 mg/kg و 400 mg/kg به طور معناداری نسبت به گروه دیازپام افزایش یافت، اما در هیچ گروهی نسبت به گروه PTZ تغییر معناداری نداشت.



نمودار ۲. اثر دوزهای مختلف عصاره آبی الکی گیاه نپتامنتوئیدس بر میزان نیتریک اکساید (NO) بافت مغز در مدل انفوزیون حاد PTZ

ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین \pm SEM میزان نیتریک اکساید (NO) بافت مغز می‌باشد.

\$ P < 0.05 نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه دیازپام می‌باشد.

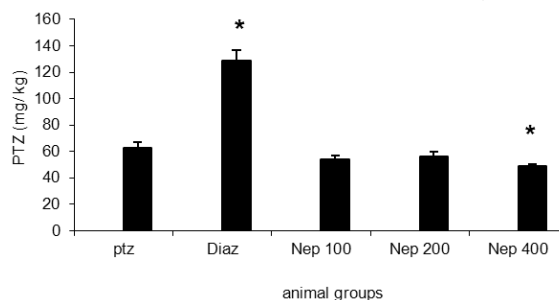
PTZ: پنتیلن تترازول، Diaz: دیازپام 1 mg/kg، Nep: نپتامنتوئیدس. n=10

و انحراف معیار بیان شد. مقایسه آماری بین گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه بین تک تک گروه‌های آزمایشی با آزمون تکمیلی مربوطه (Holm-Sidak) انجام گرفت و اختلاف با 0.05 < P پاسخ معنادار در نظر گرفته شد. در صورت غیر پارامتریک بودن داده‌ها آزمون کورسکال والیس و آزمون تکمیلی تست متعاقب Dunn انجام خواهد گرفت.

نتایج

اثر دوزهای مختلف عصاره آبی الکی گیاه نپتامنتوئیدس بر دوز آستانه تشنج

با نگاه کلی به نمودار ۱ مشخص می‌شود که پس از تزریق PTZ و آشکار شدن اثر تحریکی آن، دیازپام با دوز 1 mg/kg با دوز آستانه تشنج ($128/9 \pm 8/08$) به طور معناداری موجب افزایش میزان PTZ مورد نیاز برای شروع تشنج در مقایسه با گروه PTZ با دوز آستانه تشنج ($62/3 \pm 4/6$) شد ($P < 0.05$). عصاره نپتا با دوز 100 mg/kg و 200 از نظر اثر بر میزان PTZ مورد نیاز برای شروع تشنج با گروه کنترل PTZ اختلاف معناداری نداشت. در حالی که عصاره نپتا با دوز 400 mg/kg، با دوز آستانه تشنج ($48/64 \pm 1/87$) به طور معناداری موجب کاهش میزان PTZ مورد نیاز برای شروع تشنج در مقایسه با گروه کنترل PTZ با دوز آستانه تشنج ($62/3 \pm 4/6$) شد ($P < 0.05$).



نمودار ۱. اثر دوزهای مختلف عصاره آبی الکی گیاه نپتامنتوئیدس بر دوز آستانه تشنج در مدل تزریق داخل وریدی پنتیلن تترازول (PTZ)

ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین \pm SEM میزان PTZ مورد نیاز برای شروع تشنج است.

* P < 0.05 نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه PTZ می‌باشد. PTZ: پنتیلن تترازول، Diaz: دیازپام 1 mg/kg، Nep: نپتامنتوئیدس.

n=10

بحث

در این مطالعه، عصاره نپتامنتوئیدس در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg تغییر معناداری بر میزان PTZ موردنیاز برای شروع تشنج نداشته است و اثر ضد صرعی نشان نداده است. عصاره نپتا با دوز ۴۰۰ mg/kg به طور معناداری موجب کاهش میزان PTZ موردنیاز برای شروع تشنج در مقایسه با گروه کنترل PTZ شده است و موجب افزایش استعداد ابتلا به صرع و تشدید تشنجات گردیده است. دیازپام استعداد ابتلا به تشنج را در گروه صرعی شده با پنتیلن ترازول کاهش داد و اثر ضد صرعی داشته است.

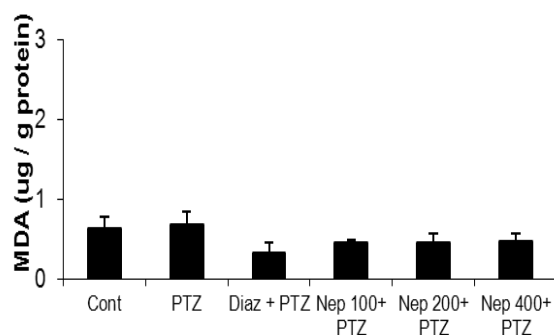
تابه حال اثر عصاره نپتامنتوئیدس بر حملات صرعی مطالعه نشده است، اما گزارش‌هایی مبنی بر اثرات ضد صرعی گونه‌هایی از نپتا موجود است که هم‌راستا با مطالعه حاضر نمی‌باشد.

مطالعه جلال^۱ و همکارانش مؤید اثر ضد صرعی عصاره آبی‌متانولی گل‌های گیاه *Nepeta bracteaeta* بر تشنجات ایجادشده از طریق تزریق پنتیلن ترازول و افزایش جریان الکتریکی است. (۲۲) در این مطالعه دوزهای ۷۰، ۱۹۰، ۲۱۰، ۵۶۰ mg/kg عصاره نپتا استفاده شده است. عصاره نپتا اثرات ضد تشنجی در هر دو مدل القای صرع به ویژه در دوزهای بالاتر ایجاد نموده است که مخالف نتایج تحقیق ما می‌باشد. دوزهای نپتا در این مطالعه نزدیک به دوزهای انتخابی ما می‌باشد، گرچه دوزهای ما بر مبنای مطالعه‌ای در آزمایشگاه ما که به چاپ نرسیده است، انتخاب شده است.

شواهدی مبنی بر اثرات تحریکی سایر گونه‌های نپتا بر حملات صرعی وجود دارد که در اینجا به آن می‌پردازیم.

اثر دوزهای مختلف عصاره آبی‌الکلی گیاه نپتامنتوئیدس بر میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بافت مغز در مدل انفوزیون حاد PTZ

میانگین میزان MDA در گروه PTZ ($0/685 \pm 0/166$) میکروگرم در گرم پروتئین و در گروه دیازپام با دوز ۱ mg/kg ($0/331 \pm 0/136$)، در گروه درمانی نپتا با دوز ۱۰۰ mg/kg ($0/452 \pm 0/042$)، در گروه درمانی دوز ۲۰۰ mg/kg ($0/457 \pm 0/11$) و در گروه درمانی نپتا با دوز ۴۰۰ mg/kg ($0/48 \pm 0/09$) میکروگرم در گرم پروتئین بود. این مقادیر در مقایسه با گروه کنترل با میزان MDA ($0/633 \pm 0/15$) میکروگرم در گرم پروتئین تغییر معناداری نداشت.



نمودار ۳. اثر دوزهای مختلف عصاره آبی‌الکلی گیاه نپتامنتوئیدس بر میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت مغز در مدل انفوزیون حاد PTZ

ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین \pm SEM میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بافت مغز است.

* $P < 0/005$ نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه PTZ می‌باشد. PTZ: پنتیلن ترازول، Diaz: دیازپام ۱ mg/kg، Nep: نپتامنتوئیدس. $n = 10$

¹ - Jalal

غلامی و همکارانش در دانشگاه ارومیه، اثرات تشنج‌زایی دو داروی ترامادول و مورفین بر روی تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول را بررسی کرده‌اند. (۲۷) این دو دارو معمولاً برای کنترل درد مورد استفاده قرار می‌گیرند. در مطالعه مذکور، هر دو داروی مورفین و ترامادول هم در تجویز حاد و هم در تجویز طولانی‌مدت موجب تقویت اثر تشنج‌زایی پنتیلن تترازول شدند که این اثر را مربوط به تأثیر این دو دارو روی مسیره‌های گابائوژیک معرفی کرده‌اند. لازم به توضیح است که مورفین از آلکالوئیدها می‌باشد.

طبق مطالعه مینائیان، ترکیبات ترپنوئید، که گروهی از آلکالوئیدها می‌باشند، مانند سالوینورین با تحریک گیرنده‌های کاپا و D2 اپیوئیدی موجب اثرات شدید توهم‌زایی، افزایش حرکات، سرعت کشیده‌شدن و درهم‌پیچیدن می‌شود. (۲۸) بنابراین می‌توان اثر تحریکی نیتامنتوئیدس در مطالعه ما را به ترپنوئیدهای موجود در آن نسبت داد. ترپنوئیدها در اکثر گیاهان موجودند.

ماده ۱-۸ سینثول از عمده‌ترین ترکیبات موجود در روغن گیاه رزماری می‌باشد. یکی از موارد منع مصرف گیاه رزماری در بیماران مبتلا به صرع است و یکی از عوارض آن تحریک فعالیت لوکوموتور و حملات تشنجی است که طبق تحقیقات ضیائی این اثرات مربوط به ۱-۸ سینثول می‌باشد. (۲۹) از آنجایی که ۱-۸ سینثول از ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده نیتامنتوئیدس نیز می‌باشد، می‌توان گفت که احتمالاً ۱-۸ سینثول موجب اثرات تحریکی نیتا در مطالعه ما شده است.

لیما^۲ و همکارانش در برزیل، درباره اثرات نیتا افولیوس و ترکیب اصلی آن یعنی ۸۱ سینثول روی عصب سیاتیک رت نتایج متضادی گزارش کرده‌اند. از یک طرف سینثول موجب افزایش دامنه پتانسیل مرکب عصب سیاتیک شد که بیانگر اثر تحریکی آن است و از طرف دیگر موجب مهار عصب سیاتیک گردید که متضاد با نتیجه قبلی می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که

در مطالعه ماسوکو و همکارانش، اثر افزایش استعداد ابتلا به صرع توسط نیتا کاتاریا، یکی دیگر از اعضای خانواده نیتا، گزارش شده است که هم‌راستا با نتایج مطالعه ما می‌باشد. (۲۳) در این مطالعه، تجویز حاد عصاره موجب افزایش حرکات یکنواخت و کلیشه‌ای و افزایش استعداد ابتلا به صرع ناشی از پیکروتوکسین و استریکنین و کاهش خواب ناشی از پنتوباریتال سدیم شده است. تجویز طولانی‌مدت عصاره موجب کاهش حساسیت به آن و کاهش حرکات و افزایش میزان خواب شده، ولی کماکان موجب افزایش استعداد صرع شده است. این مطالعه یک اثر مشابه آمفتامینی برای تجویز حاد کاتاریا را محتمل می‌داند که در تجویز طولانی‌مدت، آدپتیشن موجب کاهش این اثرات می‌شود.

طی تحقیقات ناظمیه و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی تبریز، اسانس گیاه نیتامنتوئیدس در روش تقطیر با آب تهیه شده و سپس اجزای آن مورد بررسی قرار گرفته است. از بین ۱۸ ترکیب شناسایی شده نیتالاکتون، سینثول، ترپینن، ترپینول، ژرانیل استات، نریل استات و بتا-پینن از ترکیبات عمده اسانس بودند. (۲۴)

در تحقیق زمردیان و همکارانش، ماده نیتا لاکتون ترکیب اصلی نیتا کاتازیا نیز می‌باشد. (۲۵)

بر طبق مطالعات نیکولا^۱، نیتا لاکتون که ساختار مولکولی اپیوئیدی شکل دارد، به‌طور قابل توجهی دارای عملکرد مشابه اپیوم‌ها می‌باشد و موجب تحریک رسپتورهای اپیوئیدی مغز در دوزهای مشابه مورفین می‌شود. تحریک این گیرنده‌ها موجب بروز اثرات آمفتامین‌مانند در برخی حیوانات مانند گربه و اسب برای نیتا لاکتون می‌شود. (۲۶) با توجه به اثرات تحریکی نیتامنتوئیدس بر مغز در مطالعه ما، می‌توان گفت که احتمالاً ترکیبات نیتا لاکتون از موادی بوده‌اند که موجب اثرات تحریکی شده است.

² - Lima

¹ - Nichola

بافت مغزی نسبت به گروه کنترل نداشته است که این نتیجه هم‌راستا با نتایج تحقیق کیاسالاری و همکارانش بر روی اثر ضد صرعی و آنتی‌اکسیدانی *Brassica nigra* در مدل کیندلینگ می‌باشد. نتیجه تحقیق مذکور به‌طور مشابه با تحقیق ما حاکی از آن است که پنتیلن‌ترازول از طریق افزایش میزان نیتریک‌اکساید موجب ایجاد تشنج نمی‌شود. (۳۵) همچنین اثر پنتیلن‌ترازول بر میزان MDA نیز در مطالعه ما و مطالعه مذکور مشابه است و در هر دو تحقیق PTZ تأثیر معناداری بر میزان MDA بافت مغز نداشته است.

در مطالعه ما همچنین نشان داده شده است که داروی دیازپام بر روی غلظت NO و MDA مغز بی‌تأثیر بوده است. در تحقیق موسوی^۱ و همکارانش در زمینه اثر دیازپام بر روی پروسه‌های پرو آنتی‌اکسیدانی در مغز رت نیز نتایج مشابه مطالعه ما به دست آمده است. (۳۶) عصاره نپتامنتوئیدس در مطالعه ما بر میزان MDA بی‌تأثیر بود و این در حالی است که موجب افزایش معنادار غلظت NO شد. در این زمینه تحقیق دیگری صورت نگرفته است که در اینجا ضمن اینکه بررسی بیشتر پیشنهاد می‌شود، به بحث درباره اثر NO بر حملات صرعی می‌پردازیم.

لازم به توضیح است که مدارکی مبنی بر دخالت رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز صرع موجود است. رادیکال‌های آزاد می‌توانند موجب تخریب غشا و اختلال عملکرد نورون شوند. رادیکال‌های آزاد اثرشان را روی حملات تشنجی از طریق افزایش سطح گلوتامات مغزی، فعال کردن گیرنده‌های NMDA و نیز تولید NO اعمال می‌کنند. (۱۴) NO یک مولکول متحرک، قابل‌انتشار و نفوذپذیر در غشا می‌باشد که می‌تواند تعدادی اعمال بیولوژیکی را تحت تأثیر قرار دهد. NO در سیناپتیک پلاستیسیته، تنظیم تحریک‌پذیری نورونی و فعالیت صرعی نقش دارد. نیتریک‌اکساید در نورون‌ها

سینثول بسته به شرایط آزمایش می‌تواند اثرات متفاوتی نشان دهد. نتایج ما هم‌راستا با اثر تحریکی سینثول بر روی اعصاب می‌باشد. (۳۰)

به‌رحال در مطالعه ما، برآیند اثرات ترکیبات موجود در عصاره آبی‌الکلی بخش‌های هوایی نپتامنتوئیدس تحریکی بود که در اینجا به مکانیسم احتمالی آن می‌پردازیم.

دیازپام مانند سایر بنزودیازپین‌ها آگونیست گیرنده‌های بنزودیازپینی بوده که با اثر بر روی گیرنده‌های گابا و در نهایت ورود یون کلر به نورون‌ها اثرات خود را اعمال می‌کند. (۳۱)

لازم به توضیح است که ساختار عمل پنتیلن‌ترازول در ایجاد تشنج‌های صرعی شکل شامل مهار رقابتی گیرنده‌های گابا و عدم فعال شدن کانال‌های کلری (۳۲) و مهار پمپ سدیم‌پتاسیم و دپولاریزاسیون غشایی است. (۳۳) همچنین گزارش شده است که در مدل کیندلینگ شیمیایی پنتیلن‌ترازول علاوه بر اتصال رقابتی به گیرنده‌های گابا موجب تحریک زیرمجموعه‌هایی از گیرنده‌های گلوتامات نیز می‌شود. (۳ و ۴) بنابراین به نظرمی رسد که دیازپام با افزایش عملکرد گابا اثرات تشنجی ناشی از پنتیلن‌ترازول را مهار می‌کند. طبق نتایج تحقیق ما مبنی بر عدم تأثیر عصاره نپتامنتوئیدس بر تشنج آنچه مسلم می‌باشد، این است که عصاره در مواجهه با پنتیلن‌ترازول از مکانیسم فوق‌تبعیت نمی‌کند و مطالعه حاضر، این ساختار را برای نپتامنتوئیدس محتمل نمی‌داند و مطالعات بیشتری را پیشنهاد می‌کند.

از آنجا که مکانیسم عمل عصاره در مواجهه با صرع متفاوت با دیازپام می‌باشد و با توجه به مدارکی مبنی بر دخالت فاکتورهای استرس اکسیداتیو در صرع (۱۳ و ۱۴)، به‌منظور دستیابی به مکانیسم عمل عصاره نپتامنتوئیدس بر حملات تشنجی اثرات آن بر پاره‌ای از فاکتورهای استرس اکسیداتیو بررسی شد. مطالعه ما نشان داد که پنتیلن‌ترازول تأثیر معناداری بر غلظت NO

¹ - Mussavi

صرع معرفی کند.

نتیجه گیری

در نهایت از مطالعه فوق می توان نتیجه گرفت که دوزهای مختلف عصاره نپتامنتوئیدس نه تنها نتوانستند شدت بروز تشنجات را کاهش دهند، بلکه دوز mg/kg ۴۰۰ آن اثر تحریکی داشته و موجب افزایش بروز تشنجات میوکلونیک به ویژه در حضور دوزهای پایین تر PTZ شده است. به عبارت دیگر عصاره آبی الکلی گیاه نپتامنتوئیدس در هیچ یک از دوزها نه تنها نتوانست مانع از پیشرفت فاکتورهای تشنجی شود، بلکه استعداد ابتلا به صرع را افزایش داد.

همچنین در بخش آزمایشات بیوشیمیایی نشان داده شد که عصاره آبی الکلی گیاه نپتامنتوئیدس نه تنها نتوانست فاکتورهای ناشی از رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو را کاهش دهد، بلکه موجب افزایش غلظت نیتریک اکساید مغز نیز شد. به نظر می رسد که نپتا با دخالت در مسیر سنتز یا عمل نیتریک اکساید موجب افزایش شدت تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول شده است. بنابراین مطالعه ما احتمالاً می تواند نیتریک اکساید را یک عامل پیش برنده صرع معرفی کند.

منابع

1. Oliver CV, Starke Reed PE, Stadtman ER, Liku GJ, Carney JK, Floyd RA. Oxidative damage to proteins, loss of glutamine synthetase activity and production of free radicals during ischemia: Reperfusion induced injury to gerbil brain. *Proceedings of The National Academy of Science* 1990; 87: 5144-5147.
2. Banerjee PN, Filippi D, Hauser WA. The descriptive epidemiology of epilepsy. *Epilepsy Research* 2009; 85: 31-45.
3. Reid CA, Jackson GD, Berkovic SF, Petrou S. New therapeutic oppertunities in epilepsy: A genetic perspective. *Pharmacology & Therapeutics* 2010; 128: 274-280.
4. Vyawahare NS, khandelwal AR, Batra VR, Nikam AP. Herbal anticonvulsant. *Journal Of Herbal Medicine And Toxicology* 2007; 1(1): 9-14.
5. Anwarul HG, Attamur R. Trends in ethnopharmacology. *Journal Of Ethnopharmacology* 2000; 76: 59-64.
6. Sharafkandi AB. Translation of canon in medicine, Avesina. fifth ed., Tehran, Soroosh pub 1991; 66.
7. Asadi S, Nasri S, Amin Gh, Bidaran S. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Nepeta menthoides* on pain in aerial parts in male mice. *Journal Of Jahrom University Of Mecical Siences* 2013; 11(3): 1-9.

8. Javidnia K, Miri R, Safavi F, Azarpira A, Shafiee A. Composition of the essential oil of *Nepeta persica* Boiss from Iran. *Flavour Fragr Journal* 2002; 17: 20-22.
9. Mozaffarian V. *A Dictionary of Iranian Plant Names*. Tehran: Farhang Moaser 1996: 360-4. (Persian)
10. Delshad AA, Naseri M, Parvizi M, Fattah N, Sharayeli M. The Iranian traditional herbal medicine *ostokhodus* can prevent axotomy-induced apoptosis in spinal motoneurons in neonate rats. *Journal Of Medicinal Plants Research* 2011; 5(18): 51-4446.
11. Mohammad M, Abolhassan. Chronic cold-water-induced hypothermia impairs memory retrieval and *nepeta menthoides* as a traditional "hot" herb reverses the impairment. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2014; 13: 185-193.
12. Birkett, M.A., et al. Repellent activity of catmint, *Nepeta cataria*, and iridoid nepetalactone isomers against afro-tropical mosquitoes, ixodid ticks and red poultry mites. *Phytochemistry* 2011; 72(1): 14-109.
13. Rahmati B, Khalili M, Roghani M, Aghari P. Anti-epileptogenic and antioxidant effect of *Lavandula officinalis* aerial part extract against pentylenetetrazol-induced kindling in male mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013; 148: 152-157.
14. Arhan E, Serdaroglu A, Ozturk B. Effects of epilepsy and antiepileptic drugs on nitric oxide, lipid peroxidant and xanthine oxidase system in children with idiopathic epilepsy- Seizure 2010; 1703: 1-5.
15. Nielsen SE, Freese R, Kleemola P, Mutanen M. Flavonoids in human urine as biomarkers for intake of fruits and vegetables. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2002 ; 11(5): 66-459.
16. Chen HH, Chan MH. Developmental lead exposure differentially alters the susceptibility to chemocunvulsants in rat. *Toxicology* 2002 ; 173(3): 57-249.
17. Luszczki JJ, Wojda E, Mach MA, Cisowski W, Glensk M, Glowniak K. Anticonvulsant and acute neurotoxic effects of imperatorin, osthole and Valproate in the maximal electroshock seizure and chimney test in mice : A Comparative study . *Epilepsy Research* 2009; 85: 293-299.
18. Ilhan A, Iraz M, Kamisli S, Yigitoglu R. Pentylene tetrazole induced kindling Seizure attenuated by *Ginkgo biloba* extract (EGb761) in mice. *Progress in Neuro psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2006; 30: 1504-1510.
19. Esterbauer H, Chessman KH. Termination of aldehydic lipid peroxidation Products: Academic Press 1990: 407-421
20. Kruger NJ. The Bradford method for protein quantitation. *Biomedical and life Sciences* 1996; 1: 15-20
21. Corats NK, Wakid NW, Determination of inorganic nitrate in serum and urine By a kinetic cadmium reduction method. *Chinical Chemistry* 1990; 36: 1440-1443.
22. Jalal U B, Shabir A, Mohammad A, Shahid A, Qudsia N, Razia Kh, Aisha S, Mohd A. Anti- seizure activity of flower extracts of *Nepeta Bractaeta* in Swiss albino mice. *Excli Journal* 2012; 11: 531-537.
23. Massoco CO, Silva MR, Gorniak SL, Spinosa MS, Bernardi MM. Behavioral effects of acute and long-term administration of Catnip (*Nepeta cataria*) in mice. *Veterinary And Human Toxicology* 1995; 37(6): 3-530.
24. Nazemieh H., et al. Chemical composition of the essential oil of *Nepeta menthoides* Boiss & Buhse. *Pharmaceutical Sciences* 2009; 14(4): 283-289.
25. Kamiar Z, Mohammad S, Samaneh S. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils from *Nepeta cataria* L. against common causes of food-borne Infections. *Journal Of Dentistry of Tehran University of Medical Sciences* 2013; 10(4): 329-337.
26. Nicholas D. *Catnip...and How it affect your cats beahvior*. Pet Place. 2014.
27. Morteza G, Ehsan S. Proconvulsant effects of tramadol and morphine on pentylenetetrazol-induced seizures in adult rats using different routes of administration. *Epilepsy & Behavior* 2014; 36: 90-96.
28. Minaiyan M. *Scientific And Medical Research Site* 2014 (In persion)
29. Ziaee A, Mesgarpoor B. Evidence based drug interactions and caution of medicinal plants. *Tehran. Teimoor Zadeh pub* 1384: 221 (In persion)
30. Lima A, Lavor P. Essential oil of *croton Nepeta efolius* and its main constituent, 1,8-cineole, block excitability of rat sciatic nerve in vitro. *Clinical Experimental Pharmacology And Physiology* 2006; 33: 63-1158.
31. Piotr C, Barbara B. Mechanisms of Action of Antiepileptic Drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2005; 5: 3-14.
32. Huang R, Bell Horner CL, Dibs MI, Covey DF, Drewe JA, Dillon GH. Pentylene tetrazole-induced inhibition of recombinant γ -Amino butyric acid A(GABAA) receptor: mechanism and site of action. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2001; 298(3): 298-995.
34. Dubberke R, Vasilets LA, Schwarz W. Inhibition of the Na⁺-K⁺ pump by the epileptogenic pentylene tetrazole. *European Journal Of Physiology* 1998; 437: 79-85.

35. Ilhan A, Iraz M, Kamisli S, Yigitoglu R. Pentylene tetrazole induced kindling Seizure attenuated by Ginkgo biloba extract (EGb761) in mice. *Progress in Neuro psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2006; 30: 1504-1510.
36. Kiasalari Z, Khalili M. Antiepileptic and Antioxidant Effect of Hydroalcoholic Extract of *Ferula Assa Foetida* Gum on Pentylentetrazole- induced Kindling in Male Mice. *Basic and Clinical Neuroscience* 2013; 4: 299-306.
37. Musavi S, Kakkar P. Effect of diazepam treatment and its withdrawal on pro/antioxidative processes in rat brain. *Molecular and Cellular Biochem* 2003; 245: 6-51.
38. Carmeli E, Beiker R, Morad M. Nitric oxide and interleukin-6 levels in intellectual disability adults with epilepsy. *Research In Developmental Disabilities* 2009; 30: 567-571.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
23th Year, No.119
October- November,
2015*

Received: 02/09/2015

Last revised: 13/10/2015

Accepted: 21/10/2015

Intensified convulsions induced through intravenous infusion of PTZ by *Nepeta menthoides* hydroalcoholic extract in mice

Azhdar Heydari¹, Batool Rahmati^{2,3}, Mohsen Khalili^{2,3}, Mehrdad Roghani^{2,3}, Fatemeh Zaeri^{1*}

1. Department of Physiology, School of Medicine, Kashan University, Tehran, Iran.
2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.
3. Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

* E-mail: ztaeb@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Repeated application of *Ustukhuddoos* has been recommended for a long time in Iranian traditional medicine for some of nervous disorders like epilepsy. In Iran, both imported *Lavandula officinalis* and endemic *Nepeta menthoides* are commonly known as *Ustukhuddoos*. Despite of some reports about antiepileptic and antioxidant effects of *Lavandula officinalis*, there is no available report for this effect of *Nepeta menthoides*. Therefore, this study was designed to investigate the anti-epileptic and antioxidant activity of *Nepeta menthoides* extract on timed intravenous pentylenetetrazol infusion seizure in mice model.

Materials and Methods: A convulsive model that utilizes timed intravenous infusions of pentylenetetrazol (PTZ) was developed to study anticonvulsant and antioxidant effect of ten days *Nepeta menthoides* pretreatment in mice. PTZ was infused through an indwelling tail vein catheter, and the threshold dose of PTZ was determined from the time needed to produce clonic convulsions, the body weight of the animal, and the rate of infusion of PTZ. Diazepam (Diaz), a major antiepileptic drug, was also tested for comparison.

Results: Versus diazepam, *Nepeta menthoides* did not show antiepileptic properties because of not only it did not increase threshold dose of PTZ but also significantly decreased it at some doses ($p < 0.05$). It means *Nepeta menthoides* significantly increased susceptibility to seizures. *Nepeta menthoides* also significantly increased brain nitric oxide (NO) level in comparison with control group ($p < 0.05$) and it was ineffective on MDA level.

Conclusion: This study reported that *Nepeta menthoides* not only did not prevent seizures, but also increased susceptibility to seizures. Also, due to an increase in NO by *Nepeta*, nitric oxide may be a progenitor agent for epilepsy.

Keywords: *Nepeta menthoides*, *Ustukhuddoos*; Pentylenetetrazole Infusion, Convulsion, seizure