دانشور پزشکی

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

دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۱
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۴/۰۷/۲۱
پذیرش: ۱۳۹۴/۰۷/۲۹

تشـدید تشـنجات ناشـی از انفوزیـون وریـدی پنتـیلن‌تتـرازول توسـط عصـارهٔ آبـی‌الکلـی نپتامنتوئیدس در موش کوچک آزمایشگاهی

نویسندگان: اژدر حیدری[1]، بتول رحمتی[2و3]، محسن خلیلی[2و3]، مهرداد روغنی[2و3]، فاطمه زائری[1*]

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

* نویسنده مسئول: فاطمه زائری **E-mail: ztaeb @yahoo.com**

چکیده

مقدمه و هدف: مصرف تکراری اسطوخودوس در طب سنتی ایران بـرای برخـی از اخـتلالات عصـبی، ازجمله صرع توصیه شده است. در ایران هم لوندولا افیشینالیس وارداتی و هم نپتامنتوئیدس بومی بـا نام اسـطوخودوس شـناخته مـی‌شـوند. علـی‌رغـم وجـود گزارشـاتی مبنـی بـر اثـرات ضـد صـرعی و آنتی‌اکسیدانی لوندولا افیشینالیس، از این نظر هیچ گزارشی دربارهٔ نپتامنتوئیدس در دسترس نیسـت؛ لذا این مطالعه به‌منظور بررسی اثر ضد صرعی و آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ نپتامنتوئیدس بر تشنج ناشی از تزریق داخل وریدی زمان‌بند پنتیلن‌تترازول (PTZ) در موش طرح‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها: مدل تشنجی توسط انفوزیون داخل وریدی زمان‌بند PTZ در نظر گرفته شد و اثـر ضـد تشنجی و آنتی‌اکسیدانی ده روز پیش درمان با نپتامنتوئیدس مطالعه گردید. PTZ توسـط کـاتتر وریـد دمی تجویز شد و دوز آستانهٔ PTZ از روی زمان لازم برای ایجاد تشنجات کلونیـک، وزن بـدن حیـوان و میزان حجم انفوزیون PTZ تعیین گردید. دیازپام به‌عنوان یک داروی ضد صرع به‌منظور مقایسـه تسـت شد.

نتایج: برخلاف دیازپام، نپتا خصوصیات ضد صرعی نشان نداد؛ زیرا نه‌تنها دوز آستانهٔ تشـنج PTZ را افزایش نداد که در دوزهایی آن را کاهش داد. یعنی نپتـا بـه‌طـور معنـاداری اسـتعداد ابـتلا بـه صـرع را افزایش داد ($P<0.05$). نپتا موجب افزایش معنادار سطح NO مغز نسبت به گروه کنترل شد ($P<0.05$)، امـا بر میزان MDA بی‌اثر بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه بیان می‌کند نپتامنتوئیدس نـه‌تنهـا از ایجـاد تشـنجات جلـوگیری نکـرد، بلکـه اسـتعداد ابـتلا بـه آن را افـزایش داد. همچنـین باتوجـه‌بـه افـزایش NO توسـط نپتـا، احتمـالاً بتـوان نیتریک‌اکساید را یک عامل پیش‌برندهٔ صرع معرفی کرد.

واژگان کلیدی: نپتامنتوئیدس، اسطوخودوس، انفوزیون پنتیلن‌تترازول (PTZ)، تشنج، صرع.

مقدمه

صرع[1] شایع‌ترین بیماری نورولوژیکی است که افراد در همهٔ 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، مطالعهٔ رویکردهای جدید درمانی را الزامی می‌سازد. داروی ضد صرع ایدئال باید تشنج‌ها را متوقف کند، بدون اینکه اثر جانبی ناخواسته از خود بر جای گذارد. استفاده از گیاهان، عصارهٔ گیاهان یا ترکیب‌های شیمیایی خالص مشتق‌شده از گیاهان برای درمان روش درمانی است که امروزه به خصوص موردتوجه قرار گرفته است. (٤)

در طب سنتی به تأثیرات مفید بعضی از گیاهان دارویی، ازجمله مصرف مکرر اسطوخودوس در درمان بعضی از بیماری‌های اعصاب به ویژه صرع اشاره شده است. (٦) نکتهٔ قابل‌توجه اینکه، در ایران هم لوندولا افیشینالیس وارداتی و هم نپتامنتوئیدس بومی با نام اسطوخودوس شناخته می‌شوند و این در حالی است که علی‌رغم وجود گزارشاتی مبنی بر اثرات ضد صرعی لوندولا افیشینالیس، هیچ گزارشی مبنی بر اثر نپتامنتوئیدس بر شدت تشنجات، چه در ایران و چه در خارج از کشور، در دسترس نیست. گونهٔ(Family Labiatae) nepeta menthoides Boiss. & Buhse یا پونه سای سبلانی که در ایران به‌عنوان اسطوخودوس خراسانی شناخته می‌شود، یکی از گونه‌های انحصاری از تیرهٔ نعناع می‌باشد که در شمال غرب کشور و منطقهٔ 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 ٤۰ سانتی‌متر که واجد گل‌های بنفش‌فام می‌باشد. (۷) گزارش شده است که گونه‌های مختلف جنس نپتا از قدیم به دلیل اثرات ضدتشنج، ضد سرفه و آسم و نیز اثرات ضدعفونی‌کنندگی در طب سنتی مورداستفاده قرار گرفته‌اند. (۸) همچنین جنس نپتا به‌عنوان اسطوخودوس در طب سنتی ایران (٦) و نیز در مطالعات اخیر (۹) به‌عنوان دارویی مؤثر بر اختلالات سیستم عصبی شناخته شده است. گونهٔ نپتامنتوئیدس به‌عنوان آرام‌بخش، پایین‌آورندهٔ تب و برطرف‌کنندهٔ دردهای معده مصرف می‌شود. (۷) اخیراً نیز اثر محافظت عصبی آن در جلوگیری از مرگ برنامه‌ریزی‌شده 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) عصارهٔ این گیاه دافع حشرات به ویژه پشهٔ آنوفل نیز می‌باشد. (۱۲) علی‌رغم مطالعات فراوان بر روی گونهٔ نپتامنتوئیدس، دربارهٔ 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 مورداستفاده قرار گیرد؛ حال‌آنکه برخلاف لوندولا، هیچ شواهدی مبنی بر اثرات ضد صرعی یا صرع‌زایی نپتامنتوئیدس موجود نیست. بنابراین، این تحقیق به‌منظور بررسی اثر عصارهٔ نپتامنتوئیدس بر شدت تشنجات ناشی از تزریق داخل وریدی زمانبند پنتیلن‌تترازول (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.

ازطرف 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

را روی حملات تشنجی ازطریق افزایش سطح گلوتامات مغزی، فعال‌کردن گیرنده‌های NMDA و نیز تولید NO اعمال می‌کنند. (۱۳) لیپیدها حساس‌ترین بیومولکول شناخته شده‌اند که رادیکال‌های آزاد تولیدشده به آن آسیب می‌رسانند. مالون‌دی‌آلدهید (MDA) شاخص پراکسیداسیون لیپیدهاست که اثرات خطرناکی در بافت‌های مختلف دارد. افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در مغز حیوانات صرعی‌شده با کلرید آهن و کاینات مشاهده شده است. (۱٤) بنابراین در مطالعهٔ حاضر، ضمن بررسی عصارهٔ 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 روش ها

حیوانات موردآزمایش: موش‌های سوری سفید نر با محدودهٔ وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم از مؤسسه رازی تهیه شدند و در حیوان‌خانهٔ دانشگاه شاهد تحت چرخهٔ نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و رطوبت ۳۰ تا ٤۰درصد و حرارت ۲۰-۲۱ درجهٔ 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 mg/kg ۱۰۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ از نپتامنتوئیدس، گروه PTZ و گروه کنترل مثبت دیازپام mg/kg ۱ تقسیم شدند.

روش تهیهٔ عصاره

بخش‌های هوایی نپتامنتوئیدس که از یک فروشگاه محلی در تهران تهیه گردید، توسط پروفسور امین، رئیس هرباریم دانشکدهٔ داروسازی علوم پزشکی تهران و با voucher number PMP-315 مشخص گردید. بعد از آسیاب‌کردن ۵۰۰ گرم گیاه نپتامنتوئیدس، حدود ۲ لیتر محلول شامل ۵۲۰ سی‌سی آب مقطر و ۱٤۰۰ سی‌سی الکل (اتانول ۷۰درجه) اضافه کردیم و سپس ٤۸ ساعت در محیط تاریک قرار گرفت. سپس با جداکردن تفاله‌ها از محلول باقی‌مانده، محلول به دفعات صاف شده، در بن‌ماری در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت و به این ترتیب، عصارهٔ آبی‌الکلی گیاه با یک قوام عسلی‌شکل به دست آمد. در مرحلهٔ بعد دوزهای انتخابی با استفاده از نرمال سالین برای مطالعه تهیه شد.

روش ایجاد تشنج: انفوزیون پنتیلن‌تترازول

دراین مدل ابتدا گروه‌ها در ده روز متوالی تحت پیش‌درمان با داروها قرار می‌گیرند که کلیهٔ تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام می‌شود. سپس در روز دهم مادهٔ شیمیایی پنتیلن‌تترازول در یک دوز با غلظت mg/ml ۵ در نرمال سالین و سرعت ml/min ۰/۵ ازطریق 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 ٤۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار می‌گیرد تا وریدهای دمی متسع شود. سپس حیوان را در مهارکننده قرار داده و سر سوزن دندان‌پزشکی شمارهٔ ۲۷ متصل به لولهٔ رابط پلی اتیلنی که به پمپ تزریق متصل است، وارد ورید می‌شود. در صورت مشاهدهٔ خون و تصدیق محل ورود، سوزن با چسب مخصوص به دم فیکس می‌شود و به حیوان اجازه داده می‌شود تا در محفظهٔ مخصوص شیشه‌ای آزادانه حرکت کند. تزریق PTZ توسط پمپ با سرعت ml/min ۰/۵ شروع می‌شود و تا مشاهدهٔ 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 ثبت‌شده برای هر مرحله با استفاده از فرمول زیر به دوز آستانهٔ تشنج (میلی‌گرم دارو به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تبدیل می‌شود (۱٦)

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 لولهٔ پلاستیکی با قطر داخلی ۳ سانتیمتر و طول ۲۵-۳۰ سانتیمتر به صورت عقب‌گرد بالا بروند. اختلال حرکتی با ناتوانی موش در بالارفتن به صورت عقب‌گرد در طی ٦٠ ثانیه نشان داده می‌شود. دادهٔ ما را درصد موش‌هایی که قادر به بالارفتن از این لولهٔ 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 همهٔ گروه‌ها را ابتدا با اتر بیهوش کرده، سرشان را بریده و مغز آن‌ها را به سرعت خارج نمودیم. بعد از خارج‌کردن، مغز دو بار در سالین سرد شسته شد. سپس حجم مغز را به دست آورده و چهار برابر آن بافر تریس (۵۰ mM و pH= ۷/٤) اضافه شد. سپس مغزها به همراه بافر ذکرشده به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر با دور ۵۰۰۰ rpm (دور در دقیقه) هموژنیزه شدند. ترکیب حاصل برای مدت ۲ هفته در فریزر ^{o}C ۷۰- نگهداری شد. پس از این مدت نمونه‌ها در دستگاه سانتریفوژ سرد در ٤ درجهٔ سانتی‌گراد و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از محلول سانتریفوژشده جدا شده، بخش زیرین رسوب‌کرده را دور ریخته و محلول شفاف رویی برای سنجش‌های آنزیمی و پروتئینی مورداستفاده قرار گرفت. (۱۸)

سنجش میزان مالون‌دی‌آلدهید

اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بر پایهٔ روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBA)است که در دمای ۹۰ تا ۱۰۰ درجهٔ 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 PH =۲-۳ و در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. (۱۹) بعد از سردکردن، جذب نوری خوانده شد. برای این منظور ابتدا رقت‌های استاندارد تهیه گردید. تهیهٔ رقت‌های استاندارد به این صورت بود که ۱ میکرولیتر از استاندارد تترااتوکسی پروپان به ۳ میلی‌لیتر از محلول کاری در یک لولهٔ 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 دی‌متیل‌سولفوکسید حل شد. برای لولهٔ دوم ۰/۳ میلی‌لیتر از محلول اول و ۲/۷ میلی‌لیتر از آب مقطر استفاده کردیم. در لولهٔ سوم ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول لولهٔ دوم و ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. تا لولهٔ هشتم این کار را انجام دادیم. غلظت‌های به‌دست‌آمده شامل (µg/ml ۰/۰۲۸۱۲۷۵، ۰/۰۰۵٦۲۵، ۰/۰۱۱۲۵، ۰/۰۲۲۵، ۰/۰٤۵، ۰/۰۹ و ۰/۹) بود. سپس ۱/۵میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید (جهت جداشدن پروتئین‌ها) و ۱/۵میلی‌لیتر 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 سانتریفوژشده، 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 تهیهٔ بلانک، ۱/۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید و ۱/۵

میلی‌لیتر از مواد واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید را باهم مخلوط کرده و در بن‌ماری ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۸۰ دقیقه تحت حرارت قرار گرفت. منحنی استاندارد بر اساس رقت‌های تتراتوکسی‌پروپان تهیه شد و جذب‌های نوری به‌دست‌آمده از نمونه‌ها در منحنی استاندارد تطبیق داده شده و غلظت مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌ها که مربوط به گروه‌های آزمایشی بود، به‌دست آمد. غلظت MDA به صورت میکروگرم در گرم پروتئین بافت مغزی به دست آمد. (۱۸و۱۹)

سنجش میزان پروتئین بافت مغزی

سنجش پروتئین بافت مغزی با روش برادفورد انجام می‌گیرد. در این روش ابتدا معرف کوماسی‌بلو تهیه شد. برای این منظور ۵۰ میلی‌گرم کوماسی‌بلو را با ترازو وزن کرده و در ۲۵ میلی‌لیتر اتانول ٪۹۵ درصد حل کرده و سپس ۵۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٪۸۵ اضافه شد. هنگامی که رنگ حل شد، با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق کرده و سپس با کاغذ صافی، صاف شد. برای سنجش غلظت پروتئین در نمونه‌های بافت مغزی، از هر نمونه بافت مغز موش‌ها ٦۰ میکرولیتر برداشته و به ۳ میلی‌لیتر از محلول کاری اضافه شد. همچنین غلظت‌های استاندارد تهیه شد. برای این منظور ۵ میلی‌گرم آلبومین را در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و در لولهٔ دوم ٤ میلی‌لیتر از محلول اول و ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و در لولهٔ سوم ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر از لولهٔ دوم اضافه می‌کنیم و به این ترتیب غلظت‌های استاندارد تهیه شد (۱/۲۵ μg/ml، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ٤۰، ۸۰ و ۱۰۰) . تمامی محلول‌ها ۵ دقیقه انکوبه شدند و سپس جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. درنهایت، غلظت پروتئین بافت مغزی در نمونه‌های گروه‌های آزمایشی با استفاده از انطباق مقادیر جذب‌های نوری به‌دست‌آمده از نمونه‌های بر روی منحنی غلظت استاندارد به دست آمد. نتایج برحسب میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. (۲۰)

سنجش میزان نیتریک‌اکساید بافت مغزی (NO)

باتوجه‌به امکانات موجود و اینکه اندازه‌گیری NO بافت مغز به تنهایی نیز پارامتر باارزشی است. (۱۳) سنجش غلظت نیتریک‌اکساید بافت مغزی که بر اساس واکنش گریس صورت می‌گیرد، موردمطالعه قرار گرفت. به علت اینکه سنجش مستقیم نیتریک‌اکساید در نمونه‌های بیولوژیکی مشکل است، مقدار نیتریت (NO2-) و نیترات (NO3-)) به‌عنوان شاخصی برای تولید نیتریک اکساید محسوب می‌شود. (۱۸تا۲۱)

محلول کاری حاوی سولفائیل‌آمید ۱٪، نفتیل‌اتیلن‌دی‌آمین‌دی‌هیدروکلرید ۰/۱٪ و ارتوفسفوریک اسید ۲/۵٪ است. برای سنجش نیتریک‌اکساید، ۱ میلی‌لیتر از بافت هموژنیزهٔ مغز و ۱ میلی‌لیتر از محلول گریس موردنیاز است که به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق نگهداری می‌شود و در طول موج ٥٤۰ نانومتر جذب نوری آن خوانده می‌شود که با غلظت شناخته‌شده‌ای از سدیم‌نیتریت مقایسه می‌شود. جهت تهیهٔ استاندارد ۳/٤٥ میلی‌گرم سدیم‌نیتریت را در ۵ میلی‌لیتر محلول کاری حل کردیم. برای لولهٔ دوم ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول لولهٔ اول به همراه ٤/۵ میلی‌لیتر محلول کاری اضافه می‌کنیم و این کار را تا لولهٔ ششم انجام می‌دهیم. (غلظت‌های به‌دست‌آمده mg/ml ۰/۰۰۰۰۳٤٥، ۰/۰۰۰۳٤٥، ۰/۰۰۳٤٥، ۰/۰۳٤٥، ۰/۳٤٥ و ۳/٤٥ است.) درضمن بلانک با محلول کاری صفر می‌شود. بدین ترتیب دستگاه، جذب نوری و غلظت نیتریت تمام نمونه‌ها و غلظت‌های استاندارد را نشان خواهد داد. درنهایت غلظت نیتریت بافت مغزی در نمونه‌های گروه‌های آزمایشی با استفاده از انطباق مقادیر جذب نوری به‌دست‌آمده از نمونه‌ها بر روی منحنی غلظت استاندارد به دست آمد. نتایج نشان‌دهندهٔ میلی گرم نیتریت در گرم پروتئین بافت مغزی بود. (۲۱)

روش‌های آماری

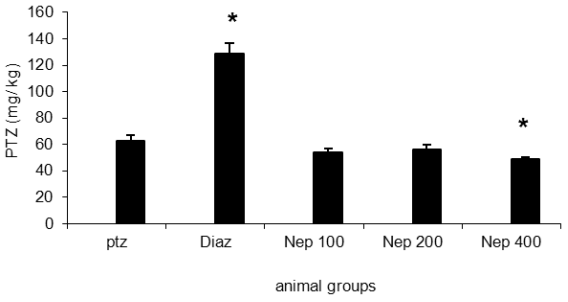
در این مطالعه نتایج به‌دست‌آمده به صورت میانگین

و انحراف معیار بیان شد. مقایسهٔ آماری بین گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه بین تک‌تک گروه‌های آزمایشی با آزمون تکمیلی مربوطه (Holm-Sidak) انجام گرفت و اختلاف با ۰/۰۵ >Pپاسخ معنیادار در نظر گرفته شد. در صورت غیرپارامتریک‌بودن داده‌ها آزمون کوریسکال‌والیس و آزمون تکمیلی تست متعاقب Dunn انجام خواهد گرفت.

نتایج

اثر دوزهای مختلف عصارهٔ آبی‌الکلی گیاه نپتامنتوئیدس بر دوز آستانهٔ تشنج

با نگاه کلی به نمودار ۱ مشخص می‌شود که پس از تزریق PTZ و آشکارشدن اثر تحریکی آن، دیازپام با دوز ۱mg/kg با دوز آستانهٔ تشنج (۸/۰۸± ۱۲۸/۹) به‌طور معناداری موجب افزایش میزان PTZ موردنیاز برای شروع تشنج در مقایسه با گروه PTZ با دوز آستانهٔ تشنج (٤/٦± ٦٢/٣) شد (P<۰/۰۵). عصارهٔ نپتا با دوز100mg/kg و 200 ازنظر اثر بر میزان PTZ موردنیاز برای شروع تشنج با گروه کنترل PTZ اختلاف معناداری نداشت. درحالی‌که عصارهٔ نپتا با دوز ٤۰۰ mg/kg، با دوز آستانهٔ تشنج (۱/۸۷± ٤٨/٦٤) به‌طور معناداری موجب کاهش میزان PTZ موردنیاز برای شروع تشنج درمقایسه با گروه کنترل PTZ با دوز آستانهٔ تشنج (٤/٦١± ٦٢/٣) شد (P<۰/۰۵).



نمودار ۱. اثر دوزهای مختلف عصارهٔ آبی‌الکلی گیاه نپتامنتوئیدس بر دوز آستانهٔ تشنج در مدل تزریق داخل وریدی پنتیلن‌تترازول (PTZ)

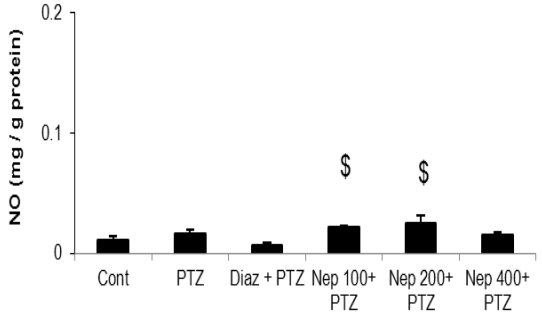
ستون‌ها نشان‌دهندهٔ میانگین ±SEM میزان PTZ موردنیاز برای شروع تشنج است.

* ۰/۰۵ >P نشان‌دهنده تفاوت معنادار با گروه PTZ می‌باشد.

PTZ: پنتیلن‌تترازول، Diaz:دیازپام ۱mg/kg، Nep: نپتامنتوئیدس. n=۱۰

اثر دوزهای مختلف عصارهٔ آبی‌الکلی گیاه نپتامنتوئیدس بر میزان نیتریک‌اکساید بافت مغز در مدل انفوزیون حاد PTZ

میانگین میزان NO در گروه PTZ (۰/۰۰۳±۰/۰۱٦٥) میلی‌گرم در گرم پروتئین بود که در گروه کنترل به (۰/۰۰۳±۰/۰۱) میلی‌گرم در گرم پروتئین افزایش یافت. درحالی‌که در گروه دیازپام ۱ mg/kg به (۰/۰۰۲± ۰/۰۰٦٧) کاهش یافت، گرچه این تغییرات معنادار نبود. میزان NO در گروه درمانی نپتا با دوز ۱۰۰ mg/kg (۰/۰۰۱± ۰/۰۲۱٤)، در گروه درمانی نپتا با دوز mg/kg ۲۰۰ (۰/۰۰۵± ۰/۰۲۵۳) و در گروه درمانی نپتا با دوز mg/kg ٤۰۰ (۰/۰۰۲± ۰/۰۱۵) میلی‌گرم در گرم پروتئین بود. NO در گروه‌های نپتا با دوز mg/kg ۲۰۰ و ۱۰۰ به‌طور معناداری نسبت به گروه دیازپام افزایش یافت، اما در هیچ گروهی نسبت به گروه PTZ تغییر معناداری نداشت.



نمودار ۲. اثر دوزهای مختلف عصارهٔ آبی‌الکلی گیاه نپتامنتوئیدس بر میزان نیتریک‌اکساید (NO) بافت مغز در مدل انفوزیون حادPTZ

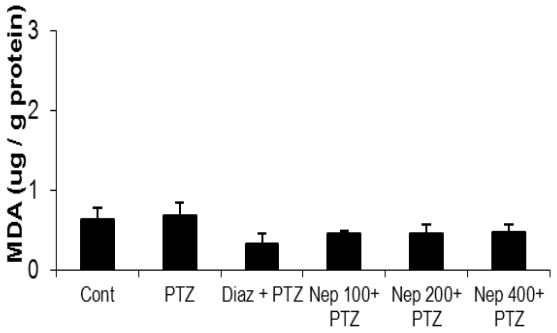
ستون‌ها نشان‌دهندهٔ میانگین ± SEM میزان نیتریک‌اکساید (NO) بافت مغز می‌باشد.

$ P<۰/۰۵ نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار با گروه دیازپام می‌باشد.

PTZ: پنتیلن‌تترازول، Diaz: دیازپام ۱ mg/kg، Nep: نپتامنتوئیدس. n=۱۰

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

میانگین میزان MDA در گروه PTZ (۰/۶۸۵±۰/۱۶۶) میکروگرم در گرم پروتئین و در گروه دیازپام با دوز ۱ mg/kg (۰/۳۳۱ ±۰/۱۳۶)، در گروه درمانی نپتا با دوز ۱۰۰ mg/kg (۰/۴۵۲ ±۰/۰۴۲)، در گروه درمانی نپتا با دوز ۲۰۰ mg/kg (۰/۴۵۷ ±۰/۱۱) و در گروه درمانی نپتا با دوز ۴۰۰ mg/kg (۰/۴۸ ±۰/۰۹) میکروگرم در گرم پروتئین بود. این مقادیر در مقایسه با گروه کنترل با میزان MDA (۰/۶۳۳ ±۰/۱۵) میکروگرم در گرم پروتئین تغییر معناداری نداشت.



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

ستون‌ها نشان‌دهندهٔ میانگین ±SEM میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بافت مغز است.

* P<۰/۰۰۵ نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار با گروه PTZ می‌باشد. PTZ: پنتیلن‌تترازول، Diaz: دیازپام ۱ mg/kg، Nep: نپتامنتوئیدس. n= ۱۰

بحث

در این مطالعه، عصارهٔ نپتامنتوئیدس در دوزهای ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ تغییر معناداری بر میزان PTZ موردنیاز برای شروع تشنج نداشته است و اثر ضد صرعی نشان نداده است. عصارهٔ نپتا با دوز ۴۰۰ mg/kg به‌طور 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 صرعی‌شده با پنتیلن‌تترازول کاهش داد و اثر ضد صرعی داشته است.

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

مطالعهٔ *جلال*[1] و همکارانش مؤید اثر ضد صرعی عصارهٔ آبی‌متانولی گل‌های گیاه Nepeta bractaeta بر تشنجات ایجادشده ازطریق تزریق پنتیلن‌تترازول و افزایش جریان الکتریکی است. (۲۲) در این مطالعه دوزهای ۷۰ mg/kg، ۱۹۰، ۲۱۰، ۵۶۰ عصارهٔ نپتا استفاده شده است.عصارهٔ 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.

[1] - Jalal

در مطالعهٔ *ماسوکو* و همکارانش، اثر افزایش استعداد ابتلا به صرع توسط نپتا کاتاریا، یکی دیگر از اعضای خانوادهٔ نپتا، گزارش شده است که هم‌راستا با نتایج مطالعهٔ 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 پنتوباربیتال سدیم شده است. تجویز طولانی‌مدت عصاره موجب کاهش حساسیت به آن و کاهش تحرکات 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، آداپتیشن موجب کاهش این اثرات می‌شود.

طی تحقیقات ناظمیه و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی تبریز، اسانس گیاه نپتامنتوئیدس در روش تقطیر با آب تهیه شده و سپس اجزای آن موردبررسی قرار گرفته است. از بین ۱۸ ترکیب شناسایی‌شده نپتالاکتون، سینئول، ترپینن، ترپینئول، ژرانیل‌استات، نریل‌استات و بتا-پینن از ترکیبات عمدهٔ اسانس بودند. (۲٤)

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

بر طبق مطالعات *نیکولا*[1]، نپتا لاکتون که ساختار مولکولی اپیوئیدی شکل دارد، به‌طور قابل‌توجهی 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 نپتا لاکتون می‌شود. (۲٦) باتوجه‌به اثرات تحریکی نپتامنتوئیدس بر مغز در مطالعهٔ ما، می‌توان گفت که احتمالاً ترکیبات نپتا لاکتون از موادی بوده‌اند که موجب اثرات تحریکی شده است.

غلامی و همکارانش در دانشگاه ارومیه، اثرات تشنج‌زایی دو داروی ترامادول و مورفین بر روی تشنجات ناشی از پنتیلن‌تترازول را بررسی کرده اند. (۲۷) این دو دارو معمولاً برای کنترل درد مورداستفاده قرار می‌گیرند. در مطالعهٔ مذکور، هر دو داروی مورفین و ترامادول هم در تجویز حاد و هم در تجویز طولانی‌مدت موجب تقویت اثر تشنج‌زایی پنتیلن‌تترازول شدند که این اثر را مربوط به تأثیر این دو دارو روی مسیرهای گابائرژیک معرفی کرده‌اند. لازم به توضیح است که مورفین از آلکالوئیدها می‌باشد.

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

ماده ۱-۸ سینئول 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 سینئول می‌باشد. (۲۹) ازآنجایی‌که ۱-۸ سینئول از ترکیبات اصلی تشکیل‌دهندهٔ نپتامنتوئیدس نیز می‌باشد، می‌توان گفت که احتمالاً ۱-۸ سینئول موجب اثرات تحریکی نپتا در مطالعهٔ ما شده است.

لیما[2] و همکارانش در برزیل، دربارهٔ اثرات نپتا افولیوس و ترکیب اصلی آن یعنی ۱و۸ سینئول روی عصب سیاتیک رت نتایج متضادی گزارش کرده‌اند. از یک طرف سینئول موجب افزایش دامنهٔ پتانسیل مرکب عصب سیاتیک شد که بیانگر اثر تحریکی آن است و ازطرف دیگر موجب مهار عصب سیاتیک گردید که متضاد با نتیجهٔ قبلی می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که

[1] - Nichola

[2] - Lima

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

به‌هرحال در مطالعهٔ ما، برایند اثرات ترکیبات موجود در عصارأ 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 درنهایت ورود یون کلر به نورون‌ها اثرات خود را اعمال می‌کند. (۳۱)

لازم به توضیح است که ساختار عمل پنتیلن‌ترازول در ایجاد تشنج‌های صرعی‌شکل شامل مهار رقابتی گیرنده‌های گابا و عدم‌فعال‌شدن 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 ٤) 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 عصارهٔ نپتامنتوئیدس بر تشنج آنچه مسلم می‌باشد، این است که عصاره در مواجهه با پنتیلن‌ترازول از مکانیسم فوق تبعیت نمی‌کند و مطالعهٔ حاضر، این ساختار را برای نپتامنتوئیدس محتمل نمی‌داند و مطالعات بیشتری را پیشنهاد می‌کند.

ازآنجاکه مکانیسم عمل عصاره در مواجهه با صرع متفاوت با دیازپام می‌باشد و باتوجه‌به مدارکی مبنی بر دخالت فاکتورهای استرس اکسیداتیو در صرع (۱۳و۱٤)، به‌منظور دستیابی به مکانیسم عمل عصارهٔ نپتامنتوئیدس بر حملات تشنجی اثرات آن بر پاره‌ای از فاکتورهای استرس اکسیداتیو بررسی شد. مطالعهٔ ما نشان داد که پنتیلن‌ترازول تأثیر معناداری بر غلظت NO بافت مغزی نسبت به گروه کنترل نداشته است که این نتیجه هم‌راستا بانتایج تحقیق کیاسالاری و همکارانش بر روی اثر ضد صرعی و آنتی‌اکسیدانی Brassica nigra در مدل کیندلینگ می‌باشد. نتیجهٔ تحقیق مذکور به‌طور مشابه با تحقیق ما حاکی از آن است که پنتیلن‌ترازول ازطریق افزایش میزان نیتریک‌اکساید موجب ایجاد تشنج نمی‌شود. (۳۵) همچنین اثر پنتیلن‌ترازول بر میزان MDA نیز در مطالعهٔ ما و مطالعهٔ مذکور مشابه است و در هر دو تحقیق PTZ تأثیر معناداری بر میزان MDA بافت مغز نداشته است.

در مطالعهٔ ما همچنین نشان داده شده است که داروی دیازپام بر روی غلظت NO و MDA مغز بی‌تأثیر بوده است. در تحقیق *موسوی*[1] و همکارانش در زمینهٔ اثر دیازپام بر روی پروسه‌های پرو آنتی‌اکسیدانی در مغز رت نیز نتایج مشابه مطالعهٔ ما به دست آمده است. (۳٦)

عصارهٔ نپتامنتوئیدس در مطالعهٔ 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 دربارهٔ 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 ازطریق افزایش سطح گلوتامات مغزی، فعال‌کردن گیرنده‌های NMDA و نیز تولیدNO اعمال می‌کنند. (۱٤) NO یک مولکول متحرک، قابل‌انتشار و نفوذپذیر در غشا می‌باشد که می‌تواند تعدادی اعمال بیولوژیکی را تحت تأثیر قرار دهد. NO در سیناپتیک پلاستی‌سیتی، تنظیم تحریک‌پذیری نورونی و فعالیت صرعی نقش دارد. نیتریک‌اکساید در نورون‌ها

[1] - Mussavi

به وسیلهٔ آنزیم نیتریک‌اکساید سینتاز نورونی (nNOS) سنتز می‌شود. در سیستم‌های بیولوژیکی نیتریک‌اکسید به نیتریت و نیترات تجزیه می‌شود. در سیستم عصبی مرکزی مقادیر زیاد نیتریک‌اکساید تولیدشده به وسیلهٔ نرون‌ها تشنجات لیمبیک ایجاد می‌کند. آسیب نورونی هیپوکامپ مربوط به افزایش آزادسازی گلوتامات و به وسیلهٔ نیتریک‌اکساید در نورون‌ها گزارش شده است. (۳۷) اگرچه نقش نیتریک‌اکساید در پاتوفیزیولوژی صرع نامشخص است ولی مشاهدات نشان میدهد که نیتریک‌اکسید سبب از بین رفتن نرونها شده و سبب تکثیر گلیاها به‌طور واکنشی می‌گردد که می‌تواند در پاتوژنز صرع دخیل باشد. (۱٤) همچنین در مطالعهٔ رحمتی و همکاران نشان داده شده است که لوندولا فیشینالیس ضمن اعمال اثرات ضد صرعی، سطح NO پایهٔ مغز را نیز کاهش داد. مطالعهٔ مذکور پیشنهاد کرده است که احتمالاً بخشی از اثرا ت ضد صرعی لوندولا مربوط به نقش مهاری آن بر NO باشد. (۱۳) بنابراین در مطالعهٔ ما مبنی بر تقویت اثرات PTZ در ایجاد صرع توسط عصاره نپتامنتوئیدس، و نیز اثر آن در افزایش NO مغزی، به نظر می‌رسد که نپتا با دخالت در مسیر سنتز یا عمل نیتریک‌اکساید موجب افزایش شدت تشنجات ناشی از پنتیلن‌ترازول شده است. بنابراین مطالعهٔ ما احتمالاً می‌تواند نیتریک‌اکساید را یک عامل پیش‌برندهٔ صرع معرفی کند.

نتیجه‌گیری

درنهایت از مطالعهٔ فوق می‌توان نتیجه گرفت که دوزهای مختلف عصارهٔ نپتامنتوئیدس نه‌تنها نتوانستند شدت بروز تشنجات را کاهش دهند، بلکه دوز mg/kg ٤۰۰ آن اثر تحریکی داشته و موجب افزایش بروز تشنجات میوکلونیک به ویژه در حضور دوزهای پایین‌تر PTZ شده است. به عبارت دیگر عصارهٔ آبی‌الکلی گیاه نپتامنتوئیدس در هیچ‌یک از دوزها نه‌تنها نتوانست مانع از پیشرفت فاکتورهای تشنجی شود، بلکه استعداد ابتلا به صرع را افزایش داد.

همچنین در بخش آزمایشات بیوشیمیایی نشان داده شد که عصارهٔ آبی‌الکلی گیاه نپتامنتوئیدس نه‌تنها نتوانست فاکتورهای ناشی از رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو را کاهش دهد، بلکه موجب افزایش غلظت نیتریک‌اکساید مغز نیز شد. به نظر می‌رسد که نپتا با دخالت در مسیر سنتز یا عمل نیتریک‌اکساید موجب افزایش شدت تشنجات ناشی از پنتیلن‌ترازول شده است. بنابراین مطالعهٔ ما احتمالاً می‌تواند نیتریک‌اکساید را یک عامل پیش‌برندهٔ 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 hydroalchoholic 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 axotomyinduced 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, Ahghari 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, Serdaroghu A, Ozturk B. Effects of epilepsy and antiepileptic drugs on nitric oxide, lipid peroxidant and xanthine oxidase system in children whith 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 diffrentially 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,YigitogluR.Pentylene tetrazole induced kindling Seizure attenuated by Ginkgo biloba extract (EGb761) in mice. Progress in Neuro psychopharmacology & Biological Psychiatry 2006; 30: 1504-1510.
19. Esterbaur 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 Scinces 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 HumanToxicology 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 Dentisty 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. Minaiiyan 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, Dibsa MI, Covey DF, Drewe JA, Dillon GH. Pentylene tetrazole- induced
33. 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, YigitogluR.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. Basice 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. Molcular and Cellular Biochem 2003; 245: 6-51.
38. Carmeli E, Beiker R, Morad M. Nitric oxide and interlukin-6 levela 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 Heydari[1], 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