

Effects of Hydroethanolic Extract of *Elaeagnus angustifolia* on Pentylenetetrazole Induced Seizure in Male Mice

Naser Mirazi*, Abdolkarim Hosseini

Department of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received: 15 Apr, 2013 Accepted: 16 Jun, 2013

Abstract

Background and Objectives: Epilepsy is a major cause of morbidity in patients. *Elaeagnus angustifolia* has antioxidant and anti-inflammatory activity. The effects of this traditional herbal medicine on Pentylenetetrazole (PTZ) -induced seizure have not been studied yet. The present study evaluated the effects of *E. angustifolia* on PTZ-induced seizure in male mice.

Materials and Methods: 30 male mice (30±5 g) were randomly divided into 5 groups including: control, normal saline, phenobarbital and *E. angustifolia*'s extract group at doses 200 and 400 mg/Kg. The groups were intraperitoneally administered 3 mg/kg phenobarbital, 200 and 400 mg/kg *E. angustifolia*'s extract for 2 hours before PTZ injection and 1 ml/kg normal saline for one week (n=6 per group). Seizure induced by administration of PTZ (1%) solution via tail vein of mice. All data were expressed as mean±SEM. One way ANOVA used for statistical evaluation. Statistical significance was accepted at P<0.05.

Results: The administration of *Elaeagnus angustifolia*'s extract at doses 200 and 400 mg/kg was significantly increased Seizure threshold in PTZ-induced mice compared with control group (P <0.001).

Conclusion: The hydroethanolic extract of *Elaeagnus angustifolia* has anticonvulsant effects, possibly through an interaction with inhibitory and excitatory system, antioxidant mechanisms, and ion channel inhibition.

Keywords: Seizure, *Elaeagnus angustifolia*, Phenobarbital, Pentylenetetrazole, Mice

*Corresponding author:

E-mail: Mirazi205@gmail.com

مقاله پژوهشی

اثر عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه سنجد (*Elaeagnus angustifolia*) بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول در موش های سوری نر

ناصر میرازی: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران، نویسنده رابط:

E-mail: mirazi205@gmail.com

عبدالکریم حسینی: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران

دریافت: ۹۲/۱/۲۶ پذیرش: ۹۲/۳/۲۶

چکیده

زمینه و اهداف: صرع یک اختلال بسیار شایع است که علت عمده مرگ و میر در بیماران سرتاسر جهان است. گیاه سنجد دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است. اثرات این گیاه بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول هنوز مورد مطالعه قرار نگرفته است. این مطالعه، اثرات عصاره برگ سنجد را بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول در موش سوری نر مورد بررسی قرار می دهد.

مواد و روش ها: ۳۰ سر موش سوری نر بالغ (30 ± 5 g) بطور تصادفی به ۵ گروه شامل کنترل، نرمال سالین، فنوباریتال و گروه های دریافت کننده عصاره در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/Kg دسته بندی شدند. به گروه ها فنوباریتال با دوز ۳ mg/kg عصاره سنجد ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ و ۱ ml/kg نرمال سالین به مدت یک هفته به صورت داخل صفاقی تزریق شد ($n=6$ در هر گروه). القاء تشنج بوسیله ی تزریق محلول ۱٪ PTZ به ورید دمی موش ها انجام شد. یافته ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با سطح معنی داری $P < 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان دادند که تزریق عصاره در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/Kg آستانه تشنج القاء شده توسط PTZ را در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش داد ($P < 0.001$).

نتیجه گیری: یافته های ما نشان می دهد که مصرف عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه سنجد دارای اثر افزایشی آستانه بروز تشنج می باشد که این اثر ممکن است بواسطه ایجاد تداخل با سیستم های مهاری و تحریکی، مکانیسم های آنتی اکسیدانی و مهار کانالهای یونی صورت پذیرد.

کلید واژه ها: صرع، سنجد، فنوباریتال، پنتیلن تترازول، موش سوری

مقدمه

عوامل عمده ایجاد تشنج می توان به عفونت، ایسکمی و ضربه مغزی اشاره کرد (۵۶) که به دنبال آن یک حالت التهابی در سیستم اعصاب مرکزی پدیدار می شود که این التهاب می تواند در مغز با بروز یک سری اختلالات و بیماری های عصبی از جمله صرع همراه باشد (۵۷). مدل کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول، یکی از راه های بررسی صرع است که در آن، حیوان به طور مرتب در معرض مقادیر کم داروی صرع زای پنتیلن تترازول قرار می گیرد (۴). صرع کنترل نشده علاوه بر آنکه باعث محدودیت بسیاری در فعالیت های روزانه فرد می گردد، می تواند آسیب های برگشت ناپذیر در سلول های مغزی نیز ایجاد کند (۸). در سال ۱۹۱۲ برای

صرع سومین اختلال عصبی شایع بعد از سکته مغزی و بیماری آلزایمر می باشد (۱). تخمین زده می شود که ۵۰ میلیون نفر مبتلا به صرع در جهان وجود دارد (۲). طبق تعریف، صرع یک اختلال مزمن و اغلب پیشرونده است که بوسیله ی وقوع دوره ای و غیر قابل پیش بینی حمله صرعی ناشی از تخلیه غیرطبیعی نورون های مغزی مشخص می شود. بسیاری از انواع مختلف صرع بر اساس نشانه های بالینی شان شناسایی شده اند. صرع اساسا به دو گروه عمده تقسیم می شود: جزئی (کانونی یا ناحیه ای) و عمومی یا جنرالیزه (۳). اگرچه ظهور بیماری صرع بسیار معمولی به نظر می رسد، اما پاتوژنز آن هنوز به طور کامل روشن نشده است (۴). از

اولین بار فنوباریتال به عنوان یک داروی ضد تشنج جدید و مفید به کار گرفته شد و پس از آن فنی توئین معرفی شد (۹). با وجود در دسترس بودن بسیاری از داروهای ضد صرع، نزدیک به یک سوم بیماران مبتلا به صرع که به داروهای ضد صرع دسترسی دارند همچنان به تشنج ادامه داده و عوارض جانبی غیرقابل قبولی نسبت به داروهای ضد صرع از خود نشان می دهند. علاوه بر این، تعداد کثیری از مردم مبتلا به صرع در سراسر جهان تحت درمان با داروهای ضد صرع نمی باشند، که تا حد زیادی به دلیل عدم دسترسی به پزشکان، هزینه های داروهای ضد صرع، و نگرش های فرهنگی نسبت به درمان های جدید می باشد. امروزه، درمان های گیاهی شایع ترین فرم استفاده از درمان های پزشکی مکمل و جایگزین در بین روش های درمانی توسط بیماران هستند (۱۰). گیاهان متعلق به جنس سنجد (*Elaeagnaceae*) به طور گسترده ای در نواحی شمال آسیا تا هیمالیا و اروپا و در تهران و اطراف آن، قزوین، خراسان، جنوب شرقی ایران، شیراز، غرب ایران از جمله همدان، کاشان، اصفهان، آذربایجان و ارومیه پراکنش دارند. یک گونه از این جنس، *Elaeagnus angustifolia* یا زیتون روسی، دارای اثرات ضد التهابی و ضد دردی می باشد که در طب سنتی ایرانی مورد استفاده قرار می گیرد (۱۱). سنجد همچنین دارای کاربردهای های مختلف دارویی است. از میوه رسیده سنجد برای درمان اسهال خونی آمیبی استفاده می شود. اعتقاد کلی وجود دارد که برگ و میوه گیاه دارای اثرات ضد تب است. در طب سنتی، میوه سنجد یا آماده های گل آن برای درمان تهوع، استفراغ، یرقان، آسم و نفخ مورد استفاده قرار می گیرد (۱۲). از دم کرده میوه در طب سنتی ایرانی به عنوان عامل ضد درد در کاهش درد های بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید استفاده می شود و از گل آن نیز به طور سنتی برای درمان کزاز استفاده می شود (۱۳). از عصاره سنجد همچنین به عنوان یک عامل ضد زخم معده (۱۴)، شل کننده عضلانی (۱۳) و تسریع کننده بهبود زخم (۱۵) استفاده می شود. مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده است که عصاره گیاه سنجد حاوی ترکیبات فلاونوئیدی، سیتواسترول، گلیکوزیدهای قلبی و ترپنوئیدها می باشد (۱۶). تحقیقات نشان داده است که برخی از ترکیبات فلاونوئیدی و سیتواسترول واجد اثرات ضد دردی و ضد التهابی هستند (۱۷). بنابراین میوه و برگ های این گیاه نیز می توانند اثر ضد دردی و ضد التهابی داشته باشد. با توجه به اینکه صرع یکی از بیماری های مهم عصبی است و همچنین اهمیت مطالعه در مورد آن و نظر به این مساله که تاکنون محققین اثرات *E. angustifolia* بر روی التهابات بافت مغز و صرع بررسی ننموده اند، بنابراین با توجه به خواص ذکر شده از گیاه سنجد بر آن شدید تا نقش این گیاه را در به تاخیر انداختن صرع و جلوگیری از پیشرفت بیماری مورد بررسی و ارزیابی قرار دهیم.

مواد و روش ها

در این پژوهش که در حیوانخانه گروه بیولوژی دانشگاه بوعلی سینا به انجام رسید از ۳۰ سر موش سوری نر بالغ نژاد BALB/c با میانگین وزنی 30 ± 5 گرم که از دانشگاه علوم پزشکی همدان

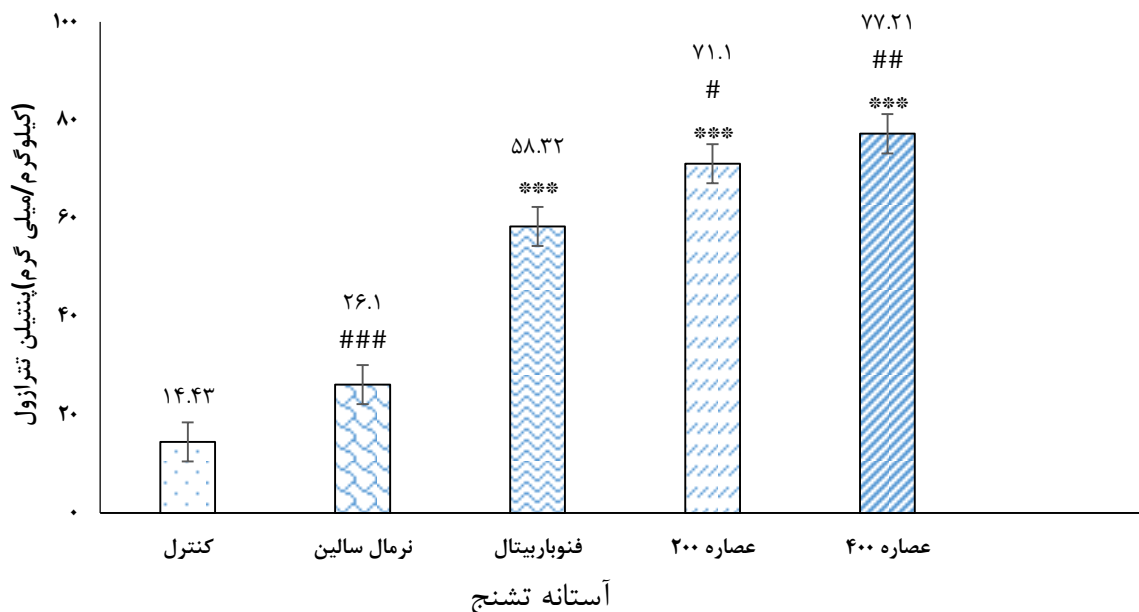
خریداری شده بودند استفاده گردید. حیوانات به حیوانخانه آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده علوم منتقل شدند. موش ها در طول پروژه در این مکان در دمای $22 \pm 2^\circ\text{C}$ و شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و هیچگونه محدودیتی از نظر مصرف آب و غذا نداشتند. جهت تطبیق با محیط آزمایشگاه به مدت یک هفته قبل از انجام آزمایش در این مکان قرارداد داده شدند. در طی آزمایش، با حیوانات طبق موازین کمیته اخلاقی اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا رفتار شد. گیاه در تابستان از باغ های اطراف همدان جمع آوری شده و پس از شناسایی توسط متخصص گیاه شناسی به آزمایشگاه منتقل و در تاریکی و در معرض هوای جاری خشک شد. سپس بوسیله آسیاب پودر شده و در بشر حاوی محلول آبی اتانول ۸۰٪ به مدت یک ماه قرار داده شد. محتویات بشر دوبار در هر روز توسط همزن شیشه ای بهم زده می شد. بعد از یک ماه محتویات ظرف توسط کاغذ صافی فیلتر گردید و محلول حاصله در دستگاه روتاری، در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد و دور متوسط قرار گرفت. پس از تغلیظ و حذف حلال، عصاره حاصله روی پلیت شیشه ای پهن گردید و به مدت یک روز زیر هود قرار داده شد تا بصورت کامل خشک شود. جهت تهیه غلظت های مناسب، عصاره جامد و خشک به نسبت وزنی مناسبی از آب مقطر دو بار تقطیر شده مخلوط گردید تا عصاره هیدروآلکلی به غلظت های ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg به دست آمد. سپس عصاره به وسیله میکرو فیلتر دو بار فیلتر شد تا عصاره از باکتری ها و ناخالصی های باقی مانده فیلتر شود. عصاره تهیه شده در لوله فالکون استریل درب دار نگهداری گردید. موش ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: (۱) گروه کنترل، (۲) گروه دریافت کننده نرمال سالین، (۳) گروه دریافت کننده فنوباریتال با دوز ۳ mg/kg (۴) گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ mg/kg (۵) گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۰۰ mg/kg جهت القای تشنج از داروی پنتیلین تترازول (PTZ) ساخت کمپانی سیگما استفاده گردید. غلظت ۱٪ از داروی مورد نظر تهیه شد. ۲ ساعت بعد از تزریق داخل صفاقی عصاره و همچنین داروی فنوباریتال به گروه های مورد آزمون، تزریق محلول ۱٪ PTZ بوسیله ی یک لوله پلی اتیلن باریک که از یک طرف به سرنگ انسولین و از طرف دیگر به سر سوزن شماره ۳۰ دندانپزشکی متصل بود با سرعت ثابت ۱ ml/min به داخل یکی از وریدهای دم موش ها انجام گردید. انفوزیون تا زمان بروز تشنجات و در نهایت مرگ حیوان ادامه پیدا می کرد. در این بررسی میزان تزریق داروی PTZ بر حسب mg/Kg محاسبه شد و در مراحل مختلف صرع ایجاد شده رفتارهای تشنجی به دنبال تزریق PTZ به صورت زیر مورد بررسی قرار گرفت: (۱) مرحله صفر، عدم پاسخ؛ (۲) مرحله اول، زمان شروع تزریق تا بروز اولین نشانه به صورت لرزش سر به بالا و پایین و کشیدن دست و پاها می باشد. این مرحله به نام آستانه تشنج اطلاق می شود (Threshold)؛ (۳) مرحله دوم، موج تشنجی یا انقباض میوکلونیک منتشر در سراسر بدن (Convulsion wave)؛ (۴) مرحله سوم، تشنج عمومی که منجر به خم شدن یا برگشتن حیوان بر روی یک طرف

بدن می شود (Tonic-Clonic phase؛ ۵) مرحله چهارم، مرحله زمانی لحظه فرا رسیدن مرگ حیوان می باشد (Mortality). یافته های بدست آمده از گروه های مورد آزمایش، با استفاده از نرم افزار SPSS²¹ مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصله بصورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ارزیابی و تجزیه و تحلیل شد. جهت مقایسه نتایج این پژوهش از آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست Tukey برای مقایسه دو به دو بین گروهها، استفاده شد. اختلافات داده ها با $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

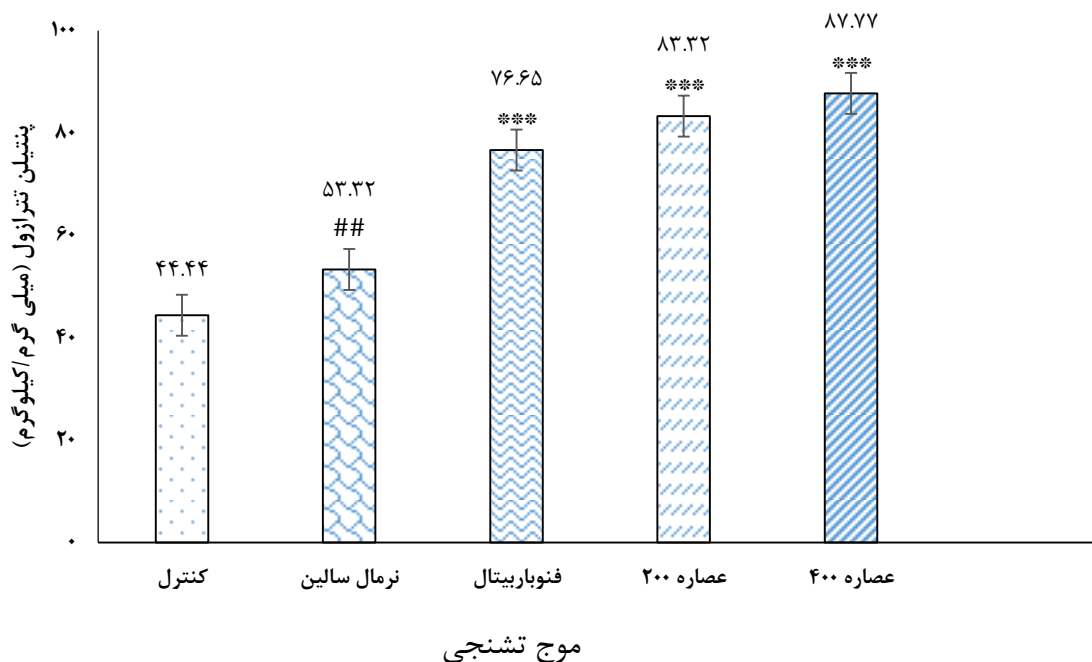
یافته ها

نتایج بررسی های گروه های مورد آزمون بطور خلاصه در نمودارهای ذیل قابل مشاهده می باشد. در نمودار ۱ نتایج بررسی گروه های مورد آزمون نشان می دهد که میزان تزریق پتیلن ترازول (PTZ) در گروه دریافت کننده عصاره گیاه سنجد با دوز ۲۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ نسبت به گروه دریافت کننده داروی فنوباریتال ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در مرحله شروع آستانه ی تشنج دارای اختلاف معنی داری است ($P < 0.05$). در بین گروه دریافت کننده عصاره گیاه سنجد با دوز ۴۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ نسبت به گروه دریافت کننده داروی فنوباریتال ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در شروع مرحله آستانه ی تشنج اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.01$). همچنین در گروه های دریافت کننده عصاره گیاه سنجد با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg نسبت به گروه های کنترل و گروه نرمال سالیین اختلاف معنی داری در مرحله شروع آستانه وجود داشت ($P < 0.01$). در بین گروه های دریافت کننده عصاره گیاه سنجد با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg از نظر افزایش شروع آستانه ی تشنج نسبت به یکدیگر وجود نداشت. همچنین بین گروه های دریافت کننده نرمال سالیین و کنترل نیز هیچ گونه اختلاف معنی داری در مرحله شروع آستانه ی تشنج مشاهده نگردید. در گروه دریافت کننده ی فنوباریتال نسبت به گروه های کنترل و همچنین گروه نرمال سالیین در مرحله شروع آستانه ی تشنج اختلاف معنی داری مشاهده گردید ($P < 0.01$). در نمودار ۲ میزان پتیلن ترازول دریافتی در گروه های مختلف مورد آزمون در مرحله موج تشنجی (Convulsion wave) در فاز حاد ۲ ساعته نشان داده شده است. همان طور که ملاحظه می شود در گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ mg/kg اختلاف معنی داری با گروه شاهد بدون دریافت ماده و همچنین با گروه دریافت کننده نرمال سالیین دارد ($P < 0.01$)، اما اختلاف معنی داری با گروه دریافت کننده فنوباریتال و همچنین گروه دریافت کننده عصاره با

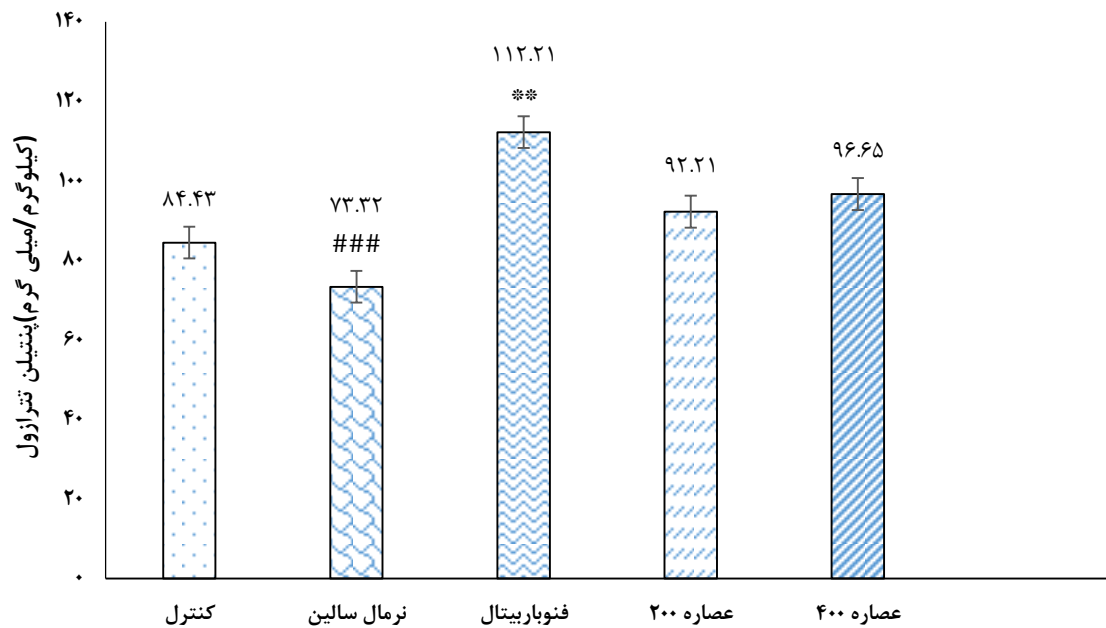
دوز ۴۰۰ mg/kg نشان نمی دهد. گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۰۰ mg/kg نیز نسبت به گروه کنترل و همچنین نرمال سالیین اختلاف معنی داری نشان می دهد ($P < 0.01$). اما با گروه دریافت کننده فنوباریتال و همچنین گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ mg/kg اختلاف معنی داری ندارد. در گروه دریافت کننده داروی فنوباریتال اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل ($P < 0.01$) و نرمال سالیین ($P < 0.01$) وجود داشت، اما با گروه های دریافت کننده عصاره اختلاف معنی داری نشان نمی دهد. در بین گروه کنترل بدون دریافت ماده با گروه دریافت کننده نرمال سالیین اختلاف معنی داری وجود نداشت. در نمودار ۳ میزان پتیلن ترازول دریافتی در گروه های مختلف مورد آزمون در مرحله فاز تونیک-کلونیک (Tonic-clonic phase) در فاز حاد ۲ ساعته نشان داده شده است. همان طور که ملاحظه می شود در گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ mg/kg هیچ گونه اختلاف معنی داری با سایر گروه های مورد آزمون ندارد. گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۰۰ mg/kg اختلاف معنی داری نسبت به گروه نرمال سالیین نشان می دهد ($P < 0.05$). اما با سایر گروه های دیگر مورد آزمون اختلاف معنی داری ندارد. در گروه دریافت کننده داروی فنوباریتال اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل ($P < 0.01$) و نرمال سالیین ($P < 0.01$) وجود داشت، اما با گروه های دریافت کننده عصاره اختلاف معنی داری نشان نمی دهد. در بین گروه کنترل با گروه دریافت کننده نرمال سالیین اختلاف معنی داری وجود نداشت. در نمودار ۴ میزان پتیلن ترازول دریافتی در گروه های مختلف مورد آزمون در مرحله فاز مرگ و میر (Mortality) در فاز حاد ۲ ساعته نشان داده شده است. همان طور که نشان داده شده است در گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ mg/kg اختلاف معنی داری با گروه کنترل و همچنین با گروه دریافت کننده نرمال سالیین دارد ($P < 0.01$)، اما اختلاف معنی داری با گروه دریافت کننده فنوباریتال و همچنین گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۰۰ mg/kg نشان نمی دهد. گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۰۰ mg/kg نیز نسبت به گروه کنترل و همچنین نرمال سالیین اختلاف معنی داری نشان می دهد ($P < 0.01$). همچنین با گروه دریافت کننده فنوباریتال دارای اختلاف معنی داری در به تعویق انداختن آستانه مرگ و میر دارد ($P < 0.05$) اما با گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ mg/kg اختلاف معنی داری ندارد. در گروه دریافت کننده داروی فنوباریتال اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل ($P < 0.05$) و نرمال سالیین ($P < 0.01$) وجود داشت. در بین گروه کنترل با گروه دریافت کننده نرمال سالیین اختلاف معنی داری مشاهده نشد.



نمودار ۱: مقایسه‌ی میزان تزریق پنتیلین تترازول (PTZ) در مرحله آستانه‌ی تشنج (Threshold) در گروه‌های مورد مطالعه، دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین، دریافت‌کننده‌ی داروی فنوباریتال با دوز ۳ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ، دریافت‌کننده‌ی عصاره گیاه سنجد با دوز ۲۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره گیاه سنجد با دوز ۴۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در موش‌های سوری نر. مقادیر بیانگر «Mean ± SEM» مربوط به موش سوری نر نژاد BALB/C است. * بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه فنوباریتال است. (***P < ۰/۰۰۱)، (##P < ۰/۰۰۱)، (###P < ۰/۰۰۱)، (P < ۰/۰۵)، (P < ۰/۰۰۱)، (P < ۰/۰۱).

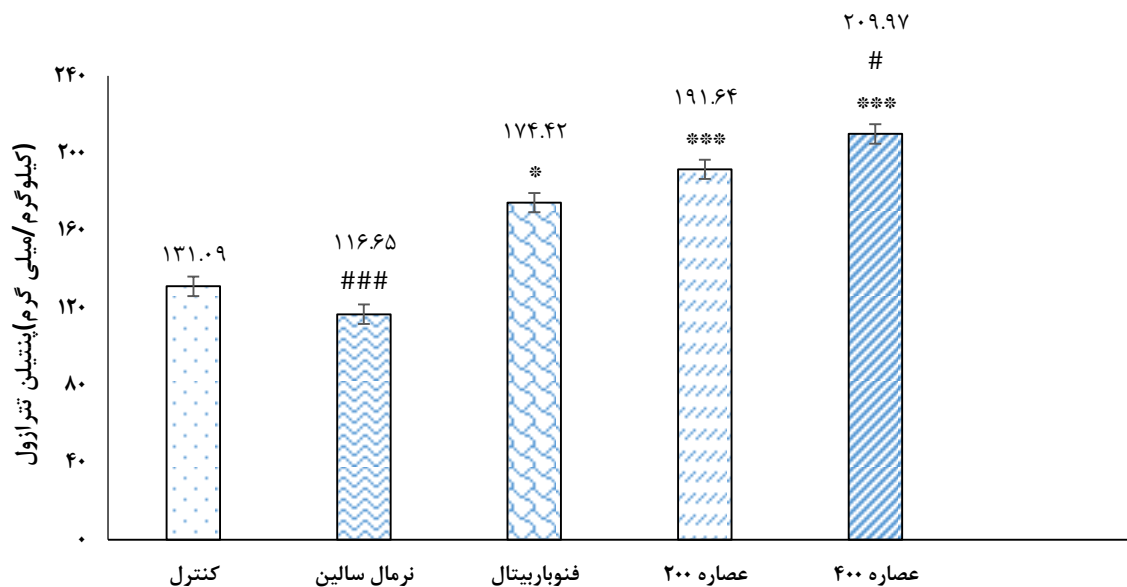


نمودار ۲: مقایسه‌ی میزان تزریق پنتیلین تترازول (PTZ) در مرحله موج تشنجی (Convulsion wave) در گروه‌های مورد مطالعه، دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین، دریافت‌کننده‌ی داروی فنوباریتال با دوز ۳ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ، دریافت‌کننده‌ی عصاره گیاه سنجد با دوز ۲۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره گیاه سنجد با دوز ۴۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در موش‌های سوری نر. مقادیر بیانگر «Mean ± SEM» مربوط به موش سوری نر نژاد BALB/C است. * بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه فنوباریتال است. (***P < ۰/۰۰۱)، (##P < ۰/۰۰۱)، (###P < ۰/۰۰۱).



فاز تونیک- کلونیک

نمودار ۳: مقایسه‌ی میزان تزریق پنتیلن تترازول (PTZ) در مرحله فاز تونیک- کلونیک (Tonic-clonic phase) در گروه‌های مورد مطالعه، دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین، دریافت‌کننده‌ی داروی فنوباریتال با دوز ۳ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ، دریافت‌کننده‌ی عصاره گیاه سنجد با دوز ۲۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره گیاه سنجد با دوز ۴۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در موش‌های سوری نر. مقادیر بیانگر «Mean ± SEM» مربوط به (n=6) موش سوری نر نژاد BALB/c است. * بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه فنوباریتال است (**P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۱، ####P<۰/۰۰۱).



فاز مرگ و میر

نمودار ۴: مقایسه‌ی میزان تزریق پنتیلن تترازول (PTZ) در مرحله فاز مرگ و میر (Mortality) در گروه‌های مورد مطالعه، دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین، دریافت‌کننده‌ی داروی فنوباریتال با دوز ۳ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ، دریافت‌کننده‌ی عصاره گیاه سنجد با دوز ۲۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره گیاه سنجد با دوز ۴۰۰ mg/kg ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در موش‌های سوری نر. مقادیر بیانگر «Mean ± SEM» مربوط به (n=6) موش سوری نر نژاد BALB/c است. * بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه فنوباریتال است (**P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۱، ####P<۰/۰۰۱، *P<۰/۰۵).

بحث

فیتوشیمیایی نشان داده است که عصاره گیاه سنجد حاوی ترکیبات فلاونوئیدی، سیتواسترول، گلیکوزیدهای قلبی و ترپنوئیدها می-

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره برگ گیاه سنجد دارای موادی با آثار ضد تشنجی قابل ملاحظه می باشد. مطالعات

باشد و اثرات ضد درد و ضد التهابی این گیاه به خاطر فلاونوئیدهای موجود در آن می‌باشد (۱۶). فلاونوئیدها ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی در گیاهان می‌باشند که تاثیر مستقیم آن‌ها بر سستز پروستاگلاندین‌ها به طور قطع مشخص شده است (۱۸). فلاونوئیدها یکی از مهار کننده‌های آنزیم سستز کننده نیتریک اکساید (NO) به شمار می‌آیند و مانع از تولید و سستز نیتریک اکساید می‌شوند (۱۹). مطالعات نشان داده‌اند که محصولات نیتریک اکساید می‌تواند در پاتولوژی صرع نقش داشته باشند (۲۰). بنابراین کاهش آن از طریق اثر فلاونوئیدها منجر به فعالیت ضد تشنجی می‌شود. از طرفی به دنبال کیندلینگ شیمیایی توسط PTZ میزان رادیکال‌های آزاد در مغز افزایش می‌یابد و آسیب اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد، خصوصا گونه‌های رادیکال فعال NO ناشی از مسمومیت تحریکی گلوتامات سبب آسیب سلول‌های عصبی مغز می‌شود (۲۱). مطالعات نشان داده‌اند که فلاونوئیدها و ترپنوئیدهای موجود در گیاه سنجد با مهار فعالیت گیرنده N-متیل D-آسپاراتات (NMDA) که یک نوروترانسمیتر تحریکی در مغز می‌باشد سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می‌شوند و به دنبال آن فعالیت آنزیم سستزکننده نیتریک اکساید و فسفولیپاز A₂ وابسته به کلسیم کاهش می‌یابد و اثرات ضد التهابی و ضد تشنجی را از خود نشان می‌دهند (۲۲). مهار فعالیت آنزیم فسفولیپاز A₂ باعث مهار تبدیل اسید فسفاتیدیک به اسید آراشیدونیک می‌شود و در نتیجه سستز پروستاگلاندین‌ها مهار می‌گردد (۲۳). با توجه به شواهد موجود، فلاونوئیدها با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز تولید پروستاگلاندین‌ها را از اسید آراشیدونیک در پاسخ به محرک‌های التهابی مهار می‌نمایند (۲۴). از طرف دیگر اثر ضد التهابی فلاونوئیدها با مهار سایتوکین‌های التهابی نظیر فاکتور نکروز تومور (TNF) از ماکروفاژهای فعال شده در التهاب می‌گردد و این مواد پیش التهابی سبب افزایش سستز پروستاگلاندین‌ها می‌گردند (۱۹). احتمالا وجود فلاونوئیدهای گیاه سنجد در کاهش سایتوکین‌های موثر در روند التهاب از عوامل پیشگیری کننده در ایجاد صرع باشد. به علاوه برخی از فلاونوئیدها از طریق مهار کاتکول O-متیل ترانسفراز دارای خاصیت حفظ کنندگی کاتکول آمین‌ها می‌باشند. خاصیت آنتی اکسیدان و حفظ کنندگی کاتکول آمین‌ها مهمترین مشخصه‌های خاصیت ضد التهابی فلاونوئیدها است (۲۵). بنابراین احتمال می‌رود بخشی از آثار ضد تشنجی این گیاه از آثار ضد التهابی آن ناشی گردد. همچنین گزارشاتی مبنی بر تاثیر فلاونوئیدها بر گیرنده‌های بنزودیازپین وجود دارد (۲۶). مطالعات نشان داده‌اند که GABA یک ترانسمیتر مهاری در مغز پستانداران می‌باشد. به طور کلی فعال کردن گیرنده‌های GABA می‌تواند باعث ایجاد خواب‌آلودگی و کاهش توان عضلات و فعالیت حرکتی شود. مهار گیرنده‌های GABA در سیستم عصبی مرکزی منجر به تحریک و ایجاد صرع می‌شود. به نظر می‌رسد گیرنده GABA_A در این پدیده دخیل باشد. بنابراین آنچه مسلم است این است که

این مطالعه نشان داد که عصاره برگ گیاه سنجد دارای ترکیبات شیمیایی نظیر آنتی اکسیدانت ها و فلاونوئیدی خاصی است که فادراست در موش های مبتلا به تشنج که توسط عصاره این گیاه تیمار شده اند، باعث افزایش معنی داری در آستانه تشنج ناشی از تجویز داروی پنتیلن تترازول شود. همچنین عصاره برگ گیاه سنجد میتواند به طور معنی داری از بروز موج تشنجی و انقباضات تونیک - کلونیک حاصل از تداوم روند تشنج جلوگیری نماید. بنابراین، گیاه سنجد ممکن است به عنوان یک عامل درمانی در پیشگیری از عوارض در میان بیماران مبتلا به تشنج استفاده شود. اگرچه وجود ترکیبات آنتی اکسیدانتی و ضد التهابی در سنجد از جمله عوامل کاهش دهنده آستانه بروز تشنج مطرح گردد، با این حال به رغم فقدان اطلاعات از مکانیسم های خاص سلولی پس از مصرف سنجد، سنجهش های تکمیلی در خصوص پی بردن به مکانیسم های اثر آن ضروری می باشد.

بدینوسیله نویسنده مراتب تقدیر و تشکر خود را از آقای علی گمار که در این پروژه ما را یاری نموده اند اعلام می نماید.

References

1. Sayyah M, Khodaparast A, Yazdi A, Sardari S. Screening of the anticonvulsant activity of some plants from Fabaceae family in experimental seizure models in mice. *Daru* 2011; **19**(4): 301-305.
2. Ngugi K, Bottomley C, Kleinschmidt I, Josemir W, Newton C. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: A meta-analytic approach. *Epilepsia* 2010; **51**(5): 883-890.
3. Lucindo J, Jackson R.G.S, Julianeli T, Xirley P, Jullyana S, Leandra E, et al. Plants with anticonvulsant properties - a review. *Dez* 2008; **18** Supl: 798-819.
4. Alok K, Rachel Y, William H, Margaret A, Thacker H, Paul W. Mesial Temporal Lobe Epilepsy: Pathogenesis, Induced Rodent Models and Lesions. *Toxicological Pathology* 2007; **35**: 984-999.
5. Porter RJ, Meldrum BS, Katzung BG. *Antiseizure drugs. In: Basic and clinical pharmacology*. New York: Lange Medical Books. McGraw Hill 2001; PP: 345-348.
6. McNamara JO. Cellular and molecular basis of epilepsy. *J Neuro Sci* 1994; **14**(6): 3413-3425.
7. Matyszak MK. Inflammation in the CNS: Balance between immunological privilege and immune responses. *Prog Neurobiol* 1998; **56**(1): 19-35.
8. Carvey PM. *Drug action in the CNS*. 1st ed. New York, Oxford University Press, 1998; PP: 123-156.
9. Guerreiro CA. Guidelines for drug treatment of epilepsy: A critical review. *Arq Neuropsiquiatr* 2008; **66**(3A): 591-599.
10. Steven C. Botanicals and Herbs: A Traditional Approach to Treating Epilepsy. *Neuro Therapeutics* 2009; **6**: 415-420.
11. Ahmadiani A, Hosseiny J, Semnanian S, Javan M, Saeedi F, Kamalinejad M, et.al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract. *Journal of Ethnopharmacology* 2000; **72**: 287-292.
12. Wang Q, Ruan Xi, Huang JH, YAN Q.Ch. Intra-specific genetic relationship analyses of *Elaeagnus angustifolia* based on RP-HPLC biochemical markers. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* 2006; **7**(4): 272-278.
13. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Namjo N. Muscle relaxant activity of *Elaeagnus angustifolia* L. fruit seeds in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; **84**(2-3): 275-278.
14. Gurbuz I, Ustun O, Yesilada E, Sezik E, Kutsal O. Antiulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *J Ethnopharmacol* 2003; **88**(1): 93-97.
15. Mehrabani Natanzi M, Pasalar P, Kamalinejad M, Dehpour A.R, Tavangar S.M, Sharifi R, et al., Effect of Aqueous Extract of *Elaeagnus angustifolia* Fruit on Experimental Cutaneous Wound Healing in Rats. *Acta Medica Iranica* 2012; **50**(9): 589-596.
16. Dembińska-Migas W, Gill S. Flavonoids in leaves of *Elaeagnus angustifolia* L. *Pol J Pharmacol Pharm* 1973; **25**(6): 599-606.
17. Muthiah NS, Vijayasekaran V. Anti-inflammatory activity of flavone and its methoxy derivative: structure activity study. *Ind J Pharmac Sci* 1993; **55**: 180-183.
18. Alcaraz MG, Hoult RS. Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, Lhypolaetin-8-Lglucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. *Biochem Pharmacol* 1985; **34**: 2477-2482.
19. Toker G, Kupeli E, Memisoglu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). *J Ethnopharmacol* 2004; **95**: 393-397.
20. Jourquin J, Tremblay E, Decanis N, Charton G, Hanessian S, Chollet AM, et al. Neuronal activity-dependent increase of net matrix metalloproteinase activity is associated with MMP-9 neurotoxicity after kainate. *Eur J Neurosci* 2003; **18**: 1507-1517.
21. Kutluhan S, Naziroğlu M, Celik O, Yilmaz M. Effects of selenium and topiramate on lipid peroxidation and antioxidant vitamin levels in blood of pentylentetrazol-induced epileptic rats. *Biol Trace Elem Res* 2009; **129**(1-3): 181-189.
22. Wyllie E. *The treatment of epilepsy, principle and practice*. Philadelphia, Lippincott wilkins, 2001; PP: 33-42.
23. Dickenson AH. Neurophysiology of opioid poorly responsive pain. *Cancer Surv* 1994; **21**: 5-16.
24. Kupeli E, Tadi LL, Akdemir ZS, Yesilada E. Estimation of ant nociceptive and anti-inflammatory activity on Geranium Pretense subsp. Finitinum and its phenolic compounds. *J Ethnopharmacol* 2007; **114**: 234-224.
25. Zitzer SF, Dawson JO. Seasonal changes in nodular nitrogenase activity of *Alnus glutinosa* and *Elaeagnus angustifolia*. *Tree Physiol* 1989; **5**: 185-194.
26. Salah SM, Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J Ethnopharmacol* 2005; **97**(1): 145-149.
27. Taheri JB, Anbari F, Maleki Z, Boostani S, Zarghi A, Pouralibaba F. Efficacy of *Elaeagnus angustifolia* Topical Gel in the Treatment of Symptomatic Oral Lichen Planus. *JODDD* 2010; **4**(1): 35-42.
28. Abizov E.A, Tolkachev O.N, Mal'tsev S.D, Abizova E.V. Composition of Biologically Active Substances isolated From the Fruits of Russian olive (*Elaeagnus Angustifolia*) Introduced in the European Part of Russia. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2008; **42**(12): 13-20.
29. Locato V, Pinto M.C, Gadaleta, C, De Gara L. *Ascorbate metabolism as critical point for the clinical use drugs*. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2009; PP: 7, 52-102.
30. Caretto S, Nisi R, Paradiso A, DeGara L. Tocopherol production in plant cell cultures. *Free Rad* 2009; **43**: 27-97.