مقاله يژوهشي

مجله دانشگاه علوم پزشكى رفسنجان

دوره یازدهم، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱، ۵۴–۴۵

اثر عصاره آبی و هیدروالکلی ساقه هوایی گیاه شوید بر تشنجات ناشی از تزریق **ینتیلن تترازول در موش سوری نر**

محمد محمدزاده '، اکبر یژهان '، سیدجواد میرنجفیزاده '، محمدحسن رخشانی '

پذیرش مقاله: ۹۰/۲/۶

ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۹/۸/۲۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۰/۱/۱۶

دريافت مقاله: ۸۹/۷/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: داروهای شیمیایی موجود تاکنون نتوانستهاند درمان کاملاً مطمئنی برای انـواع صـرع باشـند. بـا توجـه بـه عوارض کمتر گیاهان دارویی، در این تحقیق اثر عصاره شوید ($Anethum\ graveolens\ L$) بر تسنجات ناشی از تزریق پنتیلنتترازول (Pentylentetrazol; PTZ) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی از ۱۱۰ موش سوری نر استفاده شـد. پـس از تعیـین حـداکثر مقـدار قابـل تحمـل غیرکشنده، مقادیر ۲۵۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلیگرم بـر کیلـوگـرم عـصاره آبـی و ۲۵۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۵۰۰ میلـیگـرم بـر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی انتخاب و ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ به صورت داخل صفاقی تزریق شد. مدت زمان تأخیری تا مرحله اول (Stage 1 Latency; S_1L)، مدت زمان تأخيري تا مرحله پنجم تشنج (Stage 5 Latency; S_1L) و مدت زمان تأخیری تا زمان مرگ حیـوان (Dead time latency; DTL) پـس از تزریـق PTZ در گـروههـای مـورد بررسـی ثبـت شـد. اطلاعات با استفاده از آزمونهای ANOVA یکطرفه و دوطرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافتهها: تزریق داخل صفاقی ۵۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم عصاره آبی،S₂L ،S₁L و DTL را به طور معنیداری افزایش داد (به ترتیب $p<\cdot/\cdot 0$ ، $p<\cdot/\cdot 0$ و $p<\cdot/\cdot 0$). دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی موجب افزایش معنی دار، $p<\cdot/\cdot 0$ و DTL شد (به ترتیب p<٠/٠۵ و p<٠/٠١). دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم کمیتهای اندازه گیری شده را افـزایش معنـیداری نـداد. تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی با دوزهای ۱۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کمیتهای اندازه گیری شده را به طور معنی داری افزایش داد اما با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلـوگرم فقـط S_IL و DTL افـزایش معنـی دار نـشان داد (بـه ترتیب p<٠/٠۵ و p<٠/٠١). تفاوت معنی داری بین گروههای عصاره آبی و هیدروالکلی به جز در DTL مشاهده نشد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می رسد که عصاره آبی و هیدروالکلی شوید اثرات محافظتی بـر سیـستم عصبی دارد و شدت تشنجات صرعی ناشی از پنتیلنتترازول را کاهش میدهد.

واژههای کلیدی: تشنج، صرع، پنتیلنتترازول، عصاره شوید، موش سوری

۱- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار

تلفن: ۲۰۵۷۱-۴۴۴۶۰۷۰، دورنگار: ۴۴۴۵۶۴۸، پست الکترونیکی: mohamad1353@gmail.com تلفن:

۲- استاد گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشگاه تربیت مدرس ۳- مربی گروه آموزشی آمار، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار

مقدمه

صرع (Epilepsy) یک اختلال عصبی و شایع است که مشخصه آن تشنجهای غیرقابل پیشبینی و دورهای است. تشنج (Seizure) به تغییر گذرای رفتاری به دلیل تخلیه ریتمیک و همزمان جمعی از نورون های سیستم اعصاب مركزي گفته ميشود. ميزان شيوع صرع حدود ١٪ میباشد [۱]. تحقیقات زیادی برای شناسایی سازوکار و درمان صرع در چند دهه اخیر صورت گرفته است با این وجود، داروهای ضد صرع موجود فقط در ۴۰٪ موارد تشنج را از بین می برند و در بقیه موارد فقط فراوانی وقوع تشنجها را کم می کنند [۲].

از این رو، تحقیقات بیشتری برای شناسایی مکانیسم، علل ایجادکننده و راههای درمان آن مورد نیاز است. یکی از راههای مطالعه و تحقیق در این زمینه استفاده از مدلهای آزمایشگاهی برای ایجاد صرع است. با کمک مدلهای آزمایشگاهی شناخت هر چه بهتـر سـازوکارهـا و عوامل دخیل در صرع، ارزیابی داروهای ضد صرع و دستیابی به روشهای درمانی مؤثر در این بیماری میّسر می شود. یکی از این مدلها، تسنجهای به وجود آمده توسط پنتیلن تترازول است [۴-۳]. در این مدل به دنبال تزریق مقدار تشنج زای PTZ (۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، رفتارهای تشنجی به صورت پشت سر هم اتفاق میافت. این تشنج از انواع تشنجهای عمومی (Generalized (seizures) می باشد [۵].

درمان و معالجه افراد صرعى از اهميت خاصي برخـوردار اسـت. تـاكنون داروهـای شـیمیایی موجـود نتوانستهاند درمان كاملاً مطمئني براي همه انواع صرعها

باشند و از طرفی، مصرف طولانی مدت این داروها همراه با عـوارض جـانبي اسـت [۶]. از ايـن رو، گياهـان دارويـي می توانند جایگزین مناسبی برای این موضوع باشند که حداقل شدت تشنجات یا فرکانس وقوع آنها را کاهش دهند. یکی از گیاهان دارویی که از قدیم به عنوان مستکِن و آرامبخش مورد استفاده قرار می گیرد، گیاه شِوید است. نام علمی این گیاه Anethum graveolens است.

شوید گیاهی یک ساله است که در ایران و به ویـژه در خراسان به حالت خودرو و پرورشی یافت می شود. شوید دارای اثرات متعددی مثل کاهش چربی و کلـسترول [۷] در بدن است. همچنین از شوید در طب سنتی به عنوان ضدتشنج استفاده میشده است [۸]. اما متأسفانه با جستجو در منابع فارسی و انگلیسی مشخص شد که تا این لحظه تحقیقات زیادی در رابطه با اثر عصاره شوید بر تشنجات ناشی از PTZ وجود ندارد. از این رو، هدف از این تحقیق بررسی اثرات ضد تشنجی، عصاره گیاه شوید است. با توجه به این که در دو روش عصارهگیری آبی و هیـدروالکلی در مراحـل اسـتخراج عـصاره، درصـدهای متفاوتی از ترکیبات مؤثره گیاه استخراج می شود. بنابراین در مطالعه حاضر اثر عصاره آبی و هیدروالکلی ساقه هـوایی گیاه شوید بر تشنجات ناشی از تزریـق پنتـیلنتتـرازول در موش سوری نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

در ایـن تحقیـق تجربـی از مـوشهـای سـوری نـر در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم تهیه شده از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی سبزوار استفاده شد. حیوانـات در شرایط دمایی ۳±۲۱ سانتی گراد، و دوره زمانی ۱۲ ساعت

روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آسان به آب و غندای مخصوص موش (تهیه شده از شرکت جوانه خراسان) قرار داشتند. در طی انجام آزمایشات اصول اخلاقی کار با حیوانات بر اساس مصوبه کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه رعایت میشد.

در این تحقیق از ساقههای هوایی گیاه شوید استفاده شد. این گیاه توسط کارشناس گروه زیستشناسی دانشگاه تربیت معلم سبزوار تأیید گردید. پودر سر شاخههای این گیاه آسیاب شده و برای عصاره گیری مورد استفاده قرار گرفت.

برای عصاره گیری، ساقه های هوایی خشک شده گیاه شوید توسط دستگاه خردکننده پودر شد. به منظور تهیه عصاره آبی ۲ برابر وزن قسمتهای خشک شده گیاه آب مقطر اضافه شد و پس از سه روز که عمل خیساندن صورت گرفت، عصاره حاصله توسط پارچه و پنبه و سپس توسط قیف بوخنر صاف گردید عصاره صاف شده به پلیت منتقل شد و به مدت ۴۸ ساعت در داخل بن ماری در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد جهت خشکاندن عصاره و تهیه ماده خشک قرار داده شد. برای تهیه عصاره هیدروالکلی از اتانول ۸۰ درجه برای خیساندن استفاده شد و بقیه مراحل مشابه تهیه عصاره آبی انجام گرفت [۹]. تمامی مراحل عصاره گیری توسط ظروف استریل انجام شد و در پایان عصاره گیری محلول اتوکلاو گردید. پس از مرحله خشک کردن عصاره برای تهیه دوز مشخص از سالین استریل استفاده شد.

برای تهیه مقادیر مختلف عصاره بر اساس وزن حیوانات هر گروه، مقدار مشخصی عصاره توزین شد. سپس عصاره در مقدار مناسب سالین استریل (با توجه به

اینکه حجم تزریقی ۱۰ میلیلیتر به ازای یک کیلوگرم وزن حیوان بود) حل گردید. به هر حیوان به تناسب وزنش مقدار عصاره حل شده با دوز مشخص تزریق میشد. پنتیلنترازول (خریداری شده از شرکت سیگما، آلمان) نیز در سالین حل گردید و با دوز ۸۰ میلیگرم بر کیلوگرم از ۱۰] به حیوانات تزریق شد.

پس از طی یک دوره ۳ روزه دستآموز کردن حیوانات، ۱۸ گروه به صورت تصادفی انتخاب شدند. در گروه اول ۱۹ گروه به منظور ایجاد تشنجهای صرعی،تزریق داخل صفاقی PTZ انجام گرفت. بلافاصله پس از هر بار تزریق رفتار حیوان به مدت ۲۰ دقیقه تحت نظر گرفته می شد و مدت زمان مراحل رفتاری ثبت می گردید. ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ، سالین استریل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی تزریق می شد.

در گروه دوم (n=8) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ والپرات سدیم با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی) به حیوان تزریق شد. این گروه به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. در گروههای سوم تا هشتم (در همه گروهها ۶ سر و در گروه ای سوم تا هشتم (در همه گروهها ۶ سر و در گروه ۴۰۰ میلی گرم ۸ سر موش) مقادیر ۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان [۹] عصاره آبی گیاه شوید به حیوانات تزریق گردید. در گروههای نهم تا دوازدهم (n=۶) مقادیر ۲۵۰۰، ۴۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان عصاره هیدروالکلی گیاه شوید تزریق شد. به ایس ترتیب حداکثر دوز قابل تحمل تزریق شد. به ایس ترتیب حداکثر دوز قابل تحمل غیرکشنده به دست آمد (به ترتیب برای عصاره آبی و هیدروالکلی: ۵۰۰ و ۴۰۰۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن). سپس به گروههای ۲۲ تا ۲۴ (۶=۳) سه دوز کمتر از

حداکثر دوز قابل تحمل غیرکشنده (۲۵۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) عصاره آبی و به گروههای ۱۵ تا ۱۸ (n=۶) چهار دوز ۲۵۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰و ۳۵۰۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم حیوان عصاره هیدروالکلی تزریق شد و ۳۰ دقیقه بعد از آن PTZ بـا دوز مذکور تزریق و رفتار حیوان به مدت ۲۰ دقیقه زیر نظر گرفته شد. پارامترهای رفتاری شامل: مدت زمان تأخیری تا اولین مرحله تشنج (S_1)، مدت زمان تأخیری تا پنجمین مرحله تشنج (S_5L) و زمان تأخیری تا مرگ حیوان (DTL) در اثر تشنج در هـر گـروه پـس از هـر بـار تزريق PTZ يا PTZ و عصاره ثبت گرديد.

رفتارهای تشنجی به دنبال تزریق PTZ بر اساس درجهبندی که توسط Racine انجام گرفته، عبارتند از:

۱- مرحله صفر، بدون پاسخ؛ ۲- مرحله یک، انقباضات عضلانی صورت، گوشها و ویسکرها؛ ۳- مرحله دوم، گسترش موج تشنج در سرتاسر بدن، بدون سرپا ایـستادن؛ ۴- مرحله سوم، ایستادن روی هر دو پا (Rearing) توأم بــا کلونوس اندام جلویی؛ ۵- مرحله چهارم، تشنجات تونیک و کلونیک و از دست رفتن تعادل؛ ۶- مرحله پنجم، تشنجات تونیک و کلونیک سرتاسر بدن و از دست رفتن تعادل و زمین افتادن [۱۱].

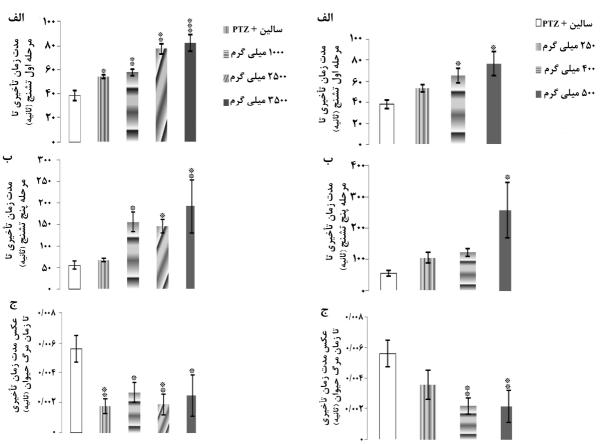
مقایسه درون گروهـی توسـط آزمـون ANOVA یـک طرفه در مورد S_5L ، S_1L و DTL انجام شد. برای ارزیابی و مقایسه اثر عصاره آبی و هیدروالکلی بر تشنجهای ناشی از تزريق PTZ از آزمون ANOVA دو طرفه استفاده شد. به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. $p < \cdot / \cdot \Delta$

نتايج

پـس از تزریـق عـصاره آبـی شـوید بـا غلـضت ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، از ۷ حیوان پس از ۲۴ ساعت، ۵ حیوان زنده ماندند. به دنبال تزریق عصاره آبی با غلضت ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هر کدام بـه ۶ حیـوان نیز ۴ حیوان زنده ماندند. دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و کمتر از آن موجب مرگ حیوانات پس از ۲۴ ساعت نـشد. برای عصاره هیدروالکلی با استناد به تحقیقات گذشته به ۴ گــروه (n=۶) دوزهـای ۲۵۰۰، ۴۰۰۰، ۴۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن تزریـق شـد. دوزهـای ۴۵۰۰ و ۵۰۰۰ به ترتیب باعث مرگ ۱ و ۲ مـوش در هـر گروه شد. در ۲ گروه دیگر، مرگ و میر پس از ۲۴ ساعت مـشاهده نـشد. بنـابراین، حـداکثر مقـدار قابـل تحمـل غیرکشنده برای عصاره آبی دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و برای عصاره هیدروالکلی دوز ۴۰۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم تعیین گردید.

پس از تعیین حداکثر دوز قابل تحمل غیرکشنده، دوزهای ۲۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلیگرم به ازای هر کیلـوگرم حیــوان از عــصاره آبــی و دوزهــای ۲۵۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم حیوان از عصاره هیدروالکلی تهیه و به گروههای مورد نظر تزریق شد.

آزمون ANOVA یک طرفه نشان داد که $S_1 L$ در گروههای دریافت کننده عصاره آبی ($F_{3,23}$ +۲/۷ های دریافت کننده عصاره آبی ($F_{3,23}$ +۲/۷ های دریافت کننده عصاره آبی هیدروالکلی $(F_{4,25}=$ ۱۷ ، $p< \cdot / \cdot \cdot \cdot 1)$ شوید نسبت به گروه كنترل به طور معنى دارى افزايش مييابـد (قـسمت الـف نمودارهای ۱ و ۲).



نمودار Y-1 اثر تزریق داخل صفاقی غلضتهای مختلف (۲۵۰، ۱۰۰۰ و ۲۵۰۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن حیوان) عصاره هیدروالکلی شوید بر مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ا تشنج (الف)، بر مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۵ تشنج (ب) و مدت زمان تأخیری تا مرگ حیوان (ج). داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده اند. در همه گروه ها Z=1 می باشد. Z=1 نسبت به گروه کنترل (سالین +Z=1).

یکی دیگر از کمیتهای اندازه گیری شده در این تحقیق، مدت زمان تأخیری تا زمان مرگ حیوان پس از تزریق PTZ بود. در گروههای کنترل، ۲۵۰ میلی گرم عصاره آبی، و ۳۵۰۰ میلی گرم عصاره الکلی به دنبال تزریق PTZ هیچ حیوانی زنده نماند. تعداد حیوانات زنده در گروههای ۲۵۰ میلی گرم هیدروالکلی، ۱۰۰۰ میلی گرم هیدروالکلی و ۵۰۰ میلی گرم آبی ۱ سر بود. تنها در گروه فیدروانک و شدت سر موش ۲ حیوان زنده ماندند. چون در برخی گروههای درمانی حداقل یک

نمودار ۱- اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف (۲۵۰، ۴۰۰ و مدت نمورد از تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف (۵۰۰ میلی گرم به ازای کیلو گرم وزن حیوان) عصاره آبی شوید بر مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله 0 تشنج 0 و مدت زمان تأخیری تا مرک تأخیری تا شروع مرحله 0 تشنج 0 و مدت زمان تأخیری تا مرک حیوان 0 داده به به صورت میانگین 0 انحراف معیار نشان داده شده اند. به جز گروه 0 به 0 به به گروه کنترل (سالین 0 به 0 افزایش معنی داری ایجاد کرد اما عصاره آبی در مقدار 0 میلی گرم بر کیلو گرم اثر معنی داری ایجاد نکرد اگر چه افزایش مدت زمان رسیدن به مرحله یک تسنجی را افزایش داد.

آزمون ANOVA یک طرفه نشان داد که S_5L در گروههای عصاره آبی $(F_{3,23}=7/9, p=\cdot/\cdot 1)$ و هیدروالکلی $(F_{4,25}=7/7, p=\cdot/\cdot 1)$ شوید نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش می یابد (قسمت ب نمودارهای ۱ و ۲).

حیوان پس از تزریق PTZ زنده میماند، از عکس زمان تأخیری تا مرگ حیوان استفاده شد. در نتیجه حیواناتی که زنده می ماندند این کمیت صفر می شد $(1/\infty)$. آزمون ANOVA یک طرفه نشان داد که عکس مدت زمان رسیدن به مرگ در گروههای دریافت کننده عصاره آبی $(F_{4,25}=7/1, p=\cdot/\cdot 7)$ و هيدروالكلى $(F_{3,23}=7/1, p=\cdot/\cdot 1)$ شوید نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش می یابد (قسمت ج نمودارهای ۱ و ۲).

با توجه به مقایسه دادههای گروههای دریافت کننده عصاره آبی و هیدروالکلی با استفاده از آزمون ANOVA دو طرفه تفاوت معنی داری در $S_1 L$ بین دو گروه مشاهده نشد. همچنین آزمون ANOVA دو طرفه نـشان داد کـه کمیت S5L بـر اثـر عـصاره آبـی و هیـدروالکلی تفـاوت معنی داری نداشت. اما این کمیت وابسته به مقدار عصارهها مـــى باشـــد (۲۰۱-۱۹، ۴/۵). مقايـــسه DTL در گـروههـای دریافـت کننـده عـصاره آبـی (هـر سـه دوز) و هیدروالکلی (دوزهای ۲۵۰، ۲۵۰ و ۲۵۰۰ میلیگـرم بـه ازای یک کیلوگرم وزن) با استفاده از آزمون ANOVA دو طرفه تفاوت معنی داری در مدت زمان تأخیری تا زمان $(F_{2,33}=V/Y, p=\cdot/\cdot Y)$ مرگ بین دو گروه نشان نداد

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره آبی و هیدروالکلی شوید دارای اثر ضد تشنجی است و تزریق عصاره ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ (هر دو تزریق، داخـل صفاقی) مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۱ و ۵ تـشنج را نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. همچنین مدت زمان تأخیری تا مرگ حیوان افزایش یافت.

بین اثر عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه شوید بر تشنج ناشی از PTZ تفاوت معنی داری به جز در DTL مشاهده نشد.

گیاهان دارویی به دلیل عوارض جانبی کمتر و دسترسی آسان گزینه مناسبی نسبت به داروهای شیمیایی هستند. در این قسمت به اثر برخی گیاهان دارویی بر تشنجهای صرعی اشاره شده است. اثر ضد تسنجی گیاه زیره سبز و گل راعیی (Hypericum perforatum) توسط Hosseinzadeh و همكاران [۱۳-۱۲]، گياه گـشنيز توسـط Emamghoreishi و همكــاران [۱۴] لاوانــدولا افيــسيناليس (اسطوخودوس) توسط Mehrabani و همکاران [۱۵]، گیاه ســياه دانــه (Nigella sativa L) توســط Parvardeh و همكاران [۱۶] و گياه باريجـه (Ferula gummosa Boiss) توسط Sayyah و همكاران [۱۷] گـزارش شـده اسـت. در مورد گل راعی نشان داده شد که عصاره آبی و الکلی آن به صورت وابسته به دوز شروع تشنجات را به طور معنی داری به تأخیر میاندازد. اسطوخودوس و سیاه دانه نیز مدت زمان تأخیری تا شروع تـشنجات تونیـک ناشـی از PTZ را افزایش داده است [۱۶–۱۵]. از این نظر نتایج پژوهش حاضر در راستای نتایج تحقیقات ذکر شده می باشد. با توجـه بـه جـستجوی نویـسندگان ایـن تحقیـق تـاکنون مطالعهای در زمینه اثر عصاره شوید بر تشنجهای صرعی انجام نشده است؛ بنابراین به نظر می رسد این تحقیق برای اولین بار نقش ضدتشنجی عصاره شوید را گزارش می کند. در رابطه با اثر عصاره شوید بر قند خون، لیپید و كلسترول خون گزارشاتي وجود دارد. عصاره شويد باعث کاهش قند خـون [۱۸] در مـوشهـای دیـابتی و کـاهش کلسترول خون [۲۰-۱۹، ۷] شده است. همچنین مشاهده شده که عصاره شوید اثر ضد میکروبی نیز دارد [۲۲-۲۲]. از دیگر اثرات این گیاه معطر، اثر ضد اسیاسمی است؛ که محمد محمدزاده و همکاران

داده شده است [۲۹]. علاوه بر این، مشاهده شده است که مهار تولید واسطه گرهای التهابی موجب به تعویـق افتـادن تشنج و کاهش تشنج میشود [۳۰]. بنابراین ممکن است یکی از سازوکارهای احتمالی عصاره بر تـشنجات ناشـی از PTZ مربوط به د-کـارون و د-لیموننهای عصاره شوید باشد. اما برای اثبات این موضـوع کـار تحقیقـاتی بیـشتری نیـاز اسـت. از ایـن رو پیـشنهاد میشود با استخراج اجزای عصاره و تزریق آن در مدلهای تشنجی صحت یا سقم این موضوع بررسی شود.

نتيجهگيري

بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می رسد که عصاره آبی و هیدروالکلی شوید دارای اثرات محافظتی بر سیستم عصبی و کاهش دهنده تشنجات صرعی باشد. همچنین تفاوت معنی داری بین عصاره آبی و هیدروالکلی بر شدت تشنجات ناشی از تزریق PTZ به جز پارامتر DTL وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم آموزشی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار که حمایت مالی این پـژوهش را بـر عهـده داشتند و آقای دکتر تزری از دانشگاه تربیت معلـم سـبزوار کـه عصاره گیاه شوید را در اختیار پژوهـشگران قـرار دادنـد؛ تـشکر می شود.

در ایلئوم موش صحرایی گزارش شده است [۲۳]. مشخص شده است که عصاره شوید با جلوگیری از ورود کلسیم به سلولهای عضله صاف لوله گوارش موجب کاهش انقباضات و اسپاسم میشود [۲۳–۲۳]. از اینرو گمان میرود ترکیبی از ترکیبات عصاره شوید با مسدود کردن کانالهای کلسیمی و یا کاهش فعالیت کانالهای کلسیمی، ورود کلسیم و یا سدیم/کلسیم به نرونها را کلسیمی، ورود کلسیم و یا سدیم/کلسیم به نرونها را کاهش میدهد و از شدت تشنجات ناشی از تزریق PTZ کاهش میکاهد. برای روشن شدن این مسئله به تحقیق بیشتری میکاهد. برای روشن شدن این مسئله به تحقیق بیشتری نانا: است.

ترکیبات آروماتیک عصاره شوید عبارتند از: د-کاروِن (Ta] (D-Limonene) و د-لیم ونِن (D- Carvone) (۲۵]. دِ-کارون جـز خانواده بـزرگ ترپنوییدها (terpenoids) است که در واقع ساختار شیمیایی هیدروکربنی دارند. مونوتروپنها دارای خواص بیولوژیک ضددردی، ضد التهاب و ضدتشنجی هستند [۲۶]. همچنین نقش ضدتشنجی د-کارون در مدل PTZ مشخص شده است [۲۷]. در تحقیقی کـه اخیـراً منتشر شـده نـشان داده شـده است کـه اپوکسیکاروِن از تشنجات کلونیک جلوگیری میکند اپوکسیکاروِن از تشنجات کلونیک جلوگیری میکند از از طرفی، نقش ضد دردی د-لیمونن در موش سوری مشخص شده است و این اثر بـه مهـار تولیـد یـا رهـایش واسطهگرهای التهابی (که باعث ایجاد درد میشوند) ربـط

References

- [1] McNamara JO. Kindling model of epilepsy.

 *Advances Neurology 1986; 44: 303-18.
- [2] Delgado-Escueta AV, Wilson WA, Olsen RW, Porter RJ. New waves of research in the epilepsies:

- crossing into the third millennium. Advances Neurology 1999; 79: 3-58.
- [3] Goddard GV, McIntyre DC, Leech CKA. permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. Exp Neurol 1969; 25(3): 295-330.
- [4] Barkai E, Grossman Y, Gutnick MJ. Long-term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentylenetetrazole: an in vitro study. J Neurophysio 1994; 72(1): 72-83.
- [5] Sarkisian MR. Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders. Epilepsy Behav 2001; 2(3): 201-16.
- [6] Pedersen ME, Vestergaard HT, Stafford GI, Staden J, Jager AK. The effect of extracts of Searsia species on epileptiform activity in slices of the mouse cerebral cortex. J Ethnopharmacol 2008; 119(3): 538-41.
- [7] Yazdanparast R, Alavi M. Antihyperlipidaemic and antihypercholesterolaemic effects of Anethum removal graveolens leaves after the furocoumarins. Cytobios 2001; 105(410): 185-91.
- Zargari- A. Medicine plants, sixth edition, vol 2, [8] Tehran University. 1986, 528 - 31.
- Hosseinzadeh H, Karimi GR, Ameri M. Effects of Anethum graveolens L. seed extracts on experimental gastric irritation models in mice. BMC Pharmacology 2002; 2(1): 21.
- [10] Uzbay TI, Kayir H, Ceyhan M. Effects of tianeptine on onset time of pentylenetetrazole-induced seizures in mice: possible role of adenosine A1

- receptors. Neuropsychopharmacol 2007;32(2): 412-6.
- [11] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. П Motor seizure Electroencephalography Clinical and Neurophysiology 1972; 32(3): 281-94.
- [12] Hosseinzadeh H, Ramezani M, Fadishei M, Basirat M. Anticonvulsant effects of Cuminium cyminum L. seeds extracts and essential oil in mice. J Med Plants 2002; 2: 9-14.
- [13] Hosseinzadeh H, Karimi GR, Rakhshanizadeh M. Anticonvulsant effect of Hypericum perforatum: role of nitric oxide. J Ethnopharmacol 2005; 98(1-2): 207-8.
- [14] Emamghoreishi M, Heidari-Hamedani GH. Effect of extract and essential oil of Coriandrum sativum seed against pentylenetetrazole-induced seizure. Pharmaceutical Sci 2008; 3: 1-10.
- [15] Mehrabani M, Modirian E, Ebrahimabadi AR, Vafazadeh J, Shahnavaz S, Heidari MR. Study of the Effects of Hydro-methanol Extracts of Lavandula vera DC. and Cuscuta epithymum Murr. on the Seizure Induced by Pentylentetranzol in Mice. J Kerman Univ Med Sci 2006; 1: 25-32.
- [16] Parvardeh S, Nassiri-Asl M, Mansouri SMT, Hosseinzadeh H. Study on the anticonvulsant activity of thymoquinone, the major constituent of Nigella sativa seeds, through intracerebroventricular injection. J Med Plants 2005; 14: 45-52.
- [17] Sayyah M, Mandgary A, Kamalinejad M. Evaluation of the anticonvulsant activity of the seed acetone extract of Ferula gummosa Boiss. against

- seizures induced by pentylenetetrazole and electroconvulsive shock in mice. *J Ethnopharmacol* 2002; 82(2-3):105-9.
- [18] Panda S. The effect of Anethum graveolens L. (dill) on corticosteroid induced diabetes mellitus: involvement of thyroid hormones. *Phytother Res* 2008; 22(12):1695-7.
- [19] Yazdanparast R, Bahramikia S. Evaluation of the effect of Anethum graveolens L. crude extracts on serum lipids and lipoproteins profiles in hypercholesterolaemic rats. *DARU* 2008; 16(2): 88-94.
- [20] Kojuri J, Vosoughi AR, Akrami M. Effects of anethum graveolens and garlic on lipid profile in hyperlipidemic patients. *Lipids Health Dis* 2007; 6: 5.
- [21] Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol 2000; 88(2): 308-16.
- [22] Stavri M, Gibbons S. The antimycobacterial constituents of dill (Anethum graveolens). Phytotherapy Research 2005; 19(11): 938-41.
- [23] Gharibnaseri MK, Heidari A. Antispasmodic Effect of Anethum graveolens Fruit Extract on Rat Ileum. *International J Pharmacol* 2007; 3: 260-4.
- [24] Gharibnaseri MK, Mard SA, Farbood Y. Effect of anethum graveolens fruit extract on rat urterus contraction. *Iranian J Basic Med Sci* 2005;8: 263-70.

- [25] Jirovetz L, Buchbauer G, Stoyanova AS, Georgiev EV, Damianova ST. Composition, quality control, and antimicrobial activity of the essential oil of long-time stored dill (Anethum graveolens L.) seeds from Bulgaria. *J Agricultural and Food Chemistry* 2003; 51(13):3854-7.
- [26] Goncalves JC, Oliveira Fde S, Benedito RB, de Sousa DP, de Almeida RN, de Araujo DA. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. *Biol Pharm Bull* 2008; 31(5): 1017-20.
- [27] de Sousa DP, de Farias Nobrega FF, de Almeida RN. Influence of the chirality of (R)-(-)- and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study. *Chirality* 2007; 19(4): 264-8.
- [28] de Almeida RN, de Sousa DP, Nobrega FF, Claudino Fde S, Araujo DA, Leite JR, et al. Anticonvulsant effect of a natural compound alpha,beta-epoxy-carvone and its action on the nerve excitability. Neurosci Lett 2008; 443(1): 51-
- [29] do Amaral JF, Silva MI, Neto MR, Neto PF, Moura BA, de Melo CT, et al. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. Biological & Pharmaceutical Bulletin 2007; 30(7): 1217-20.
- [30] Vezzani A, Granata T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia* 2005; 46(11):1724-43.

Effects of the Aqueous and Alcoholic Extracts of Anethum Graveolens L (dill) on Pentylenetetrazol-induced Seizures in Male Mice

M. Mohammadzadeh¹, A. Pajhhan¹, S.J. Mirnajafizadeh², M.H. Rakhshani³

Received Revised Manuscript: 05/04/2011 Received: 13/10/2010 Sent for Revision: 13/11/2010 Accepted: 26/04/2011

Background and Objectives: Up to now, chemicals could not treat epileptic disorders completely. Since medicinal plants have fewer side effects, in this study the effect of Anethum graveolens L.extract on pentyleneterazol (PTZ) induced seizures was investigated. In this study, the effect of Anethum graveolens L. extract on pentylenetetrazol- (PTZ) induced seizures was investigated.

Materials and Methods: In this experimental study, 110 male mice were included. Firstly, the maximum nonlethal doses for aqueous and alcoholic extract of Anethum graveolens L, were determined. Three doses of aqueous (250, 400, and 500 mg/kg) and four doses of alcoholic extracts (250, 1000, 2500, and 3500 mg/kg) were intraperitoneally injected 30 minutes before PTZ injection. All doses were lower than the non-lethal dose Seizure stage 1 latency (S₁L), seizure stage 5 latency (S₅L) and dead time latency (DTL) were recorded after PTZ injection in both control and treatment groups. One-way and two way ANOVA were applied for comparing the results of this study.

Results: Aqueous extract of Anethum graveolens L. at 500 mg/kg increased S₁L, S₅L and DTL significantly (p<0.01, p<0.05 and p<0.01 respectively). Concentration of 400 mg/kg was able to markedly increase only S₁L and DTL (p<0.05 and p<0.01 respectively) and Concentration or 250 mg/kg had no any effects.

Injection of the alcoholic extract at concentrations of 1000, 2500 and 3500 mg increased S₁L, S₅L and DTL significantly. However, concentration of 250 mg/kg significantly increased only S₁L and DTL (p<0.05 and p<0.01 respectively). There was no significant between aqueous and alcoholic extract except in DTL.

Conclusion: The results indicated that the aqueous and alcoholic extractions of Anethum graveolens L. possibly have protective effects on nervous system and also decrease seizure induced by PTZ.

Key words: Seizure, Epilepsy, Pentylenetetrazol, Anethum graveolens, Mice

Funding: This research was funded by Sabzevar University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Sabzevar University of Medical Sciences approved the study.

How to cite this article: Mohammadzadeh M, Pajhhan A, Mirnajafizadeh S.J, Rakhshani M.H. Effects of the Aqueous and Alcoholic Extracts of Anethum Graveolens L (dill) on Pentylenetetrazol-induced Seizures in Male Mice. J Rafsanjan Univ Med scie 2012; 11(1): 45-54. [Farsi]

¹⁻ Assistant Prof., Dept. of Physiology, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran (Corresponding Author) (0571) 4446070, Fax:(0571) 4445648, E-mail: mohamad1353@gmail.com

²⁻ Prof., Dept. of Physiology, Tarbiat Modarres University, Tehranl, Iran

³⁻ Academic Member, Dept. of Statistics, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran