Arch

مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور

www.journalnums.ac.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی درمنه ایرانی بر تشنج، افسردگی و اضطراب ناشی از پنتیلن تترازول در موش‌های سوری نر

مژگان دانشخواه، محبوبه سترکی*

گروه زیست شناسی، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، ایذه، ایران

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰

***نویسنده مسئول:** محبوبه سترکی، گروه زیست شناسی، واحدایذه، دانشگاه ازاداسلامی، ایذه، ایران

تلفن: ۰۹۱۳۳۱۲۱۵۸۹

پست الکترونیک:

doctor.setorgi@gmail.com

چکیده

مقدمه

هدف مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره درمنه ایرانی بر تشنج و مشکلات رفتاری ناشی از PTZ در موش‌های سوری بود.

مواد و روش‌ها

۷۰ موش به ۷ گروه کنترل (نرمال‌سالین)، مدل (PTZ در دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با فواصل ۴۸ ساعت و در روز دهم در دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه‌های مداخله (PTZ با فواصل ۴۸ ساعت و عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بصورت روزانه) و گروه فلومازنیل و دیازپام (PTZ، عصاره در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و فلومازنیل یا دیازپام در روز دهم) تقسیم شدند. آزمون‌های معلق ماندن دم (TST)، روتاورد، مازبعلاوه‌ای مرتفع (EPM) و صفحه باز جهت ارزیابی اختلالات رفتاری استفاده شدند.

یافته‌ها

تیمار موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ با عصاره درمنه و دیازپام سبب افزایش معنی‌دار زمان تاخیر شروع تشنج شد. در موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ کاهش معنی‌دار دفعات ورود به مرکز در آزمون صفحه باز و افزایش معنی‌دار مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون معلق ماندن از دم مشاهده شد و تیمار توسط دوزهای مختلف عصاره درمنه سبب بهبود جزئی و غیرمعنی‌دار آن‌ها شد. PTZ همچنین سبب افزایش دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوی بسته و کاهش دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوی باز EPM شد و عصاره درمنه سبب بهبود جزئی و غیرمعنی‌دار آن شد.

نتیجه‌گیری

دوزهای مختلف عصاره گیاه درمنه ایرانی در برابر تشنج و افسردگی و اضطراب ناشی از PTZ در موش‌های سوری اثرات معنی داری نداشته است و پیشنهاد می‌شود مطالعات آتی بر ترکیبات گیاه تمرکز کنند.

کلیدواژه‌ها

درمنه ایرانی، افسردگی، اضطراب، تشنج، پنتیلن تترازول

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

مقدمه

صرع دومین اختلال نورولوژیک شایع بعد از سکته مغزی است، که حدود ۰/۵-۱ درصد از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار داده است (۱). این بیماری در برگیرنده تشنج‌های راجعه خودبه‌خودی، ناگهانی و غیربرانگیخته است که به‌طور معمول هوشیاری انسان را تحت تاثیر قرار داده و موجب اختلال حسی، اختلال کارکرد روانی و حرکات تشنجی می‌شود (۲). تشنجات ناشی از صرع می‌توانند سبب مشکلات رفتاری متعدد و اختلال در عملکرد حافظه و یادگیری شوند. تشنج سبب القاء تغییراتی در مناطق مختلف مغز می‌شود، با این حال هیپوکامپ بیشتر از سایر نواحی در معرض تشنجات ناشی از صرع قرار داد. دژنراسیون نورونی مغز به خصوص در ناحیه CA1 هیپوکامپ و تغییر عمل سیناپس‌های قابل تغییری که اطلاعات را ذخیره می‌کنند به عنوان توضیح احتمالی اختلال یادگیری مشاهده شده به دنبال تشنج در نظر گرفته شده است (۳). علاوه بر این درجاتی از اختلالات روحی و روانی از قبیل افسردگی و اضطراب نیز در بیماران مبتلا به صرع مشاهده می‌شود که تاثیر نامطلوبی بر کیفیت زندگی بیماران دارد. شیوع اختلالات اضطرابی در بیماران با تشنجات مکرر حدود ۱۵ تا ۲۵ درصد و شیوع افسردگی در این بیماران ۲۰ -۳۰ درصد گزارش شده است (۴و۵). عوامل اجتماعی- اقتصادی، مسائل مرتبط با تشنج و دارودرمانی از عوامل موثر در بروز افسردگی و اضطراب در این بیماران هستند (۵).

مدل‌های حیوانی تشنج اغلب جهت ارزیابی حافظه، یادگیری و تغییرات رفتاری بعد از تشنج مورد استفاده قرار می‌گیرند، زیرا بسیاری از تغییرات آناتومیکی و فیزیولوژیکی که به دنبال تشنج در انسان مشاهده می‌شود، را نشان می‌دهند (۶). کیندلینگ توسط محرک‌های الکتریکی و شیمیایی، مدل شناخته شده ایجاد تشنج در حیوانات آزمایشگاهی است. در این مدل، اعمال مکرر محرک الکتریکی یا شیمیایی با شدت زیرآستانی، باعث ایجاد فعالیت تشنجی شده و نهایتا منجر به بروز تشنج عمومی می‌شود (۱). پنتیلن‌تترازول[۱] یا به اختصار PTZ بلوک‌کننده کانال کلریدی وابسته به گیرنده $GABA_A$[۲] بوده و متداولترین ترکیب تشنج‌زا می‌باشد که جهت القاء تشنج و مطالعه اثرات ضدتشنجی داروها می‌شود (۶). PTZ همچنین دارای اثرات اضطرابی بوده و سبب ایجاد رفتارهای شبه اضطرابی در مدل‌های جانوری می‌گردد (۷).

تا کنون تلاش‌های بسیاری برای درمان صرع و در نتیجه جلوگیری از اختلالات ناشی از آن صورت گرفته است که از جمله آن می‌توان به تجویز انواع داروهای ضدصرع، عوامل نوروتروفیک، مداخلات رژیمی و روش‌های جراحی را نام برد. متاسفانه درمان‌های ضدصرع فقط در کنترل ۵۰ تا ۶۵ درصد از موارد بیماری موثر هستند و اکثر این روش‌های درمانی رایج علامتی هستند (۲). امروزه توجه محققان به استفاده از ترکیبات با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و نوروپروتکتیو جهت مقابله با تشنج جلب شده است.

جنس *آرتمیسیا*[۳] در ایران دارای ۳۴ گونه گیاهی علفی یکساله و چندساله است که در سراسر کشور پراکنده شده‌اند (۸). درمنه ایرانی[۴] یکی از گیاهان با ارزش این جنس می‌باشد. این گیاه تا ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر می‌رسد و برگ‌های آن دارای تقسیمات متعدد، گل‌های آن زرد و گل‌آذین کاپیتول است (۹). درمنه ایرانی در شبه قاره هند و پاکستان (هیمالیا، کاراکورام و هندوکش)، افغانستان، روسیه و ایران پراکندگی دارد (۱۰). در طب سنتی کشور درمنه ایرانی به‌عنوان ضدعفونی‌کننده، بادشکن، اشتهاآور، ضدانگل، تب‌بر،

[۱] Pentylenetetrazole
[۲] γ-aminobutyric acid Type-A
[۳] *Artemisia*
[۴] *Artemisia persica*

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

مسکن دردهای احشایی و عصبی و تسهیل‌کننده انقباضات رحم در هنگام زایمان استفاده می‌شده است (۹). مطالعات آزمایشگاهی حاکی از اثرات آنتی‌اکسیدانی (۱۱)، ضدسرطانی (۱۲)، ضدباکتریایی، ضدقارچی (۱۳) و ضدویروسی (۱۴) عصاره درمنه ایرانی می‌باشد. از ترکیبات اصلی گیاهان جنس *آرتمیسیا* یک سزکوئی‌لاکتون بنام آرتیمیسین می‌باشد. آرتیمیسین فعالیت ضدمالاریا (۱۵)، ضدالتهابی (۱۶و۱۷)، آنتی‌کولینرژیک (۱۸)، ضداسترس اکسیداتیو و نوروپروتکتیو (۱۹) و آرام‌بخشی (۲۰) در مدل‌های حیوانی نشان داده است. در مطالعه سیادت و همکاران در سال ۲۰۱۷، محتوای آرتیمیسین عصاره هیدروالکلی درمنه ایرانی ۲/۷-۱/۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک عصاره محاسبه شد (۸). هرچند تاکنون اثرات نوروپروتکتیو درمنه ایرانی بررسی نشده است، ولی به نظر می‌رسد، عصاره گیاه به‌دلیل حضور مقادیر بالای آرتیمیسین، اثرات حفاظتی در برابر تشنج ناشی از PTZ نشان دهد، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی درمنه ایرانی برتشنج و اختلالات رفتاری ناشی از پنتیلن تترازول (PTZ) در موش‌های سوری نر صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره و عصاره‌گیری

ابتدا گیاه درمنه خشک از عطاری سطح شهر خریداری شد و پس از شناسایی توسط گیاه‌شناس نمونه هرباریومی آن با شماره ۶۷۸۹۰ در هرباریوم دانشگاه آزاد واحد ایذه، خوزستان ثبت شد. بخش‌های هوایی درمنه ایرانی و مرزه بختیاری در دمای اتاق در سایه خشک شد و سپس توسط آسیاب برقی پودر شد. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون انجام گرفت. به منظور تهیه عصاره، پودر گیاه با آب و اتانول (۷۰:۳۰ حجمی/حجمی) مخلوط شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد. پس از ۴۸ ساعت مخلوط حاصل بوسیله کاغذ صافی صاف شد و با استفاده از دستگاه روتاری تغلیظ شد و سپس در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور قرار داده شد تا به طور کامل خشک گردد (۲۱).

حیوانات آزمایشگاهی و گروه‌بندی

مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی است. معیارهای ورود به مطالعه شامل موش‌های سوری نر با وزن ۲۵-۳۰ گرم و معیار خروج شامل مرگ و بیماری موش‌ها بود. در این مطالعه ۷۰ عدد موش سوری نر شرایط استاندارد (دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱۲روشنایی/۱۲ ساعت خاموشی) با دسترسی آزاد به آب و غذای یکسان نگهداری شدند. حیوانات آزمایشی سپس به‌صورت تصادفی به ۷ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل نرمال‌سالین را از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز دریافت نمود. گروه مدل، PTZ را از طریق تزریق داخل صفاقی با فواصل ۴۸ ساعت به مدت ۱۰ روز دریافت نمود. گروه‌های مداخله، PTZ را با فواصل ۴۸ ساعت و عصاره گیاه درمنه ایرانی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را روزانه از طریق تزریق داخل صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ دریافت کردند. دوزهای عصاره بر اساس مطالعات پیشین انتخاب شد (۲۲). گروه کنترل مثبت، PTZ را با فواصل ۴۸ ساعت و عصاره درمنه ایرانی در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را روزانه دریافت نمود و در روز دهم دیازپام را با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت تزریق داخل صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ دریافت نمود. گروه فلومازنیل PTZ را با فواصل ۴۸ ساعت و عصاره درمنه در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را روزانه دریافت نمود و در روز دهم

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

فلومازنیل را با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق داخل صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ دریافت نمود. به‌منظور القای مدل صرع، PTZ به مدت ۹ روز با دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی با فواصل ۴۸ ساعت تزریق شد. در روز دهم PTZ در دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. تزریقات به مدت ۱۰ روز انجام شده و در روز دهم ۳۰ دقیقه بعد از تزریقات، شدت و میزان تشنج به مدت ۳۰ دقیقه ثبت شد (۲۳). کلیه مداخلات حیوانات بر اساس دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در امور علمی بود (۲۴). این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز بررسی و تایید شد .

آزمون معلق ماندن از دم (Tail suspension test)

در آزمون معلق ماندن دم (TSH) که برای سنجش میزان افسردگی در جوندگان به کار می‌رود، از پایه‌های فلزی به ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر استفاده می‌شود و بین دو پایه فلزی یک ریسمان ۵۰ سانتی‌متری در امتداد طولی کشیده می‌شود. دم موش‌ها توسط یک بند بسته شده و حیوان از دم آویخته می‌شود. سپس آزمون با یک حرکت شدید موش آغاز می‌شود. زمانی که حیوان کاملاً بی‌حرکت، غیرفعال و بدون عکس العمل باشد به عنوان مدت زمان بی‌حرکتی در نظر گرفته می‌شود. کل زمان معلق بودن دم ۶ دقیقه است که ۲ دقیقه اول جهت تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته می‌شود و در ۴ دقیقه بعد مدت زمان بی‌حرکتی توسط کورنومتر و بر حسب ثانیه ثبت می‌گردد. در این آزمون تمام متغییرها توسط یک نفر که هیچ آگاهی به گروه‌ها نداشت ثبت گردیدند (۲۵).

آزمون صفحه باز (Open- field test)

اضطراب، اختلال حرکت و افسردگی به وسیله تست محیط باز ارزیابی شد. محیط باز محفظه‌ای است از جنس شیشه با ابعاد ۸۰×۸۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر که به ۱۶ مربع مساوی تقسیم شده است و در وسط اتاقی آرام قرار دارد. برای انجام آزمون یک ساعت قبل از آزمایش، حیوان در اتاق آزمایش قرار داده شد. یک روز قبل از آزمون، تک تک حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه قرار داده شدند تا با آن آشنا شوند. روز بعد هر حیوان در مربع مرکز دستگاه قرار داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه تعداد دفعات ورود به مرکز و حاشیه صفحه باز تعیین شد (۲۶).

تست ماز بعلاوه‌ای مرتفع

برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاهی به نام ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع که مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه شامل دو بازوی باز (هر کدام به ابعاد ۵×۵۰ سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (هر کدام با ابعاد ۴۰×۵×۵۰ سانتی متر) و یک کفه مرکزی (به ابعاد ۵×۵ سانتی متر) می‌باشد. به طوری که بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته نیز روبروی هم قرار دارند و در حدود ۵۰ سانتی متر بالاتر از کف اتاق قرار می‌گیرند. در روز آزمون، هر موش به طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش به اتاق کار منتقل شد و در جعبه ای مشکی از جنس Plexiglass به ابعاد۴۰×۴۰×۳۰ سانتی‌متر قرار گرفت تا فعالیت جستجوگرانه آن افزایش یابد. سپس برای سنجش سطح اضطراب، حیوان در ماز بعلاوه ای شکل مرتفع (در قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه فعالیت‌های جستجوگرانه، تعداد ورود به بازوهای باز و مدت زمان ماندن در بازوهای باز توسط دوربین فیلم‌برداری ثبت شد. افزایش ورود به بازوهای باز و مدت زمان سپری شده در آن شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی شد (۲۷).

تست روتارود

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

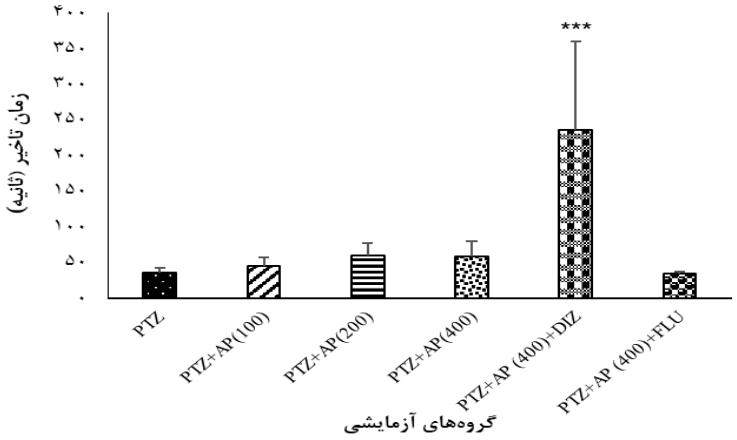
قدرت حفظ تعادل و مقاومت حرکتی موش‌ها با استفاده از دستگاه روتارود مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا جهت آشنایی حیوان با دستگاه، بر روی میله غلتان روتارود قرار گرفت و حرکت کردن بر روی دستگاه به آن آموزش داده شد. دستگاه شامل یک گردونه است که سرعت چرخیدن آن ۰-۴۰ دور در دقیقه می‌باشد. در این بررسی سرعت چرخیدن روی ۱۰ دور در دقیقه تنظیم شد . مدت زمان آزمون ۶ ثانیه بود و مدت زمانی که موش تعادل خود را حفظ و در مقابل حرکت گردونه مقاومت می‌کرد، بعنوان زمان مقاومت موش ثبت شد و این عمل برای هر موش ۳ مرتبه تکرار و میانگین آن‌ها محاسبه شد (۲۳).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS v.16 انجام شد. جهت تعیین اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون تکمیلی توکی استفاده گردید. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده و $P< ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

با توجه به نتایج زمان تاخیر شروع تشنج در گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره درمنه و گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه به همراه فلومازنیل تفاوت معنی‌داری با گروه PTZ نداشت ولی در گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه به‌همراه دیازپام بطور معنی‌دار بیشتر از گروه PTZ بود ($P<۰/۰۰۱$، نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه زمان تاخیر شروع تشنج بین گروه‌های آزمایشی. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه دریافت کننده PTZ (*** $P<۰/۰۰۱$). PTZ: (پنتیلن تترازول در دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با فواصل ۴۸ ساعت و دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز دهم)، AP۱۰۰،۲۰۰،۴۰۰ (عصاره درمنه ایرانی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، DIZ (دیازپام در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و FLU (فلومازنیل در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم)

بر اساس نتایج نمودار ۲- دفعات ورود به مرکز صفحه باز در موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ بطور معنی‌دار کمتر از گروه کنترل بود ($P<۰/۰۵$). دفعات ورود به حاشیه صفحه باز نیز در موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ نسبت به

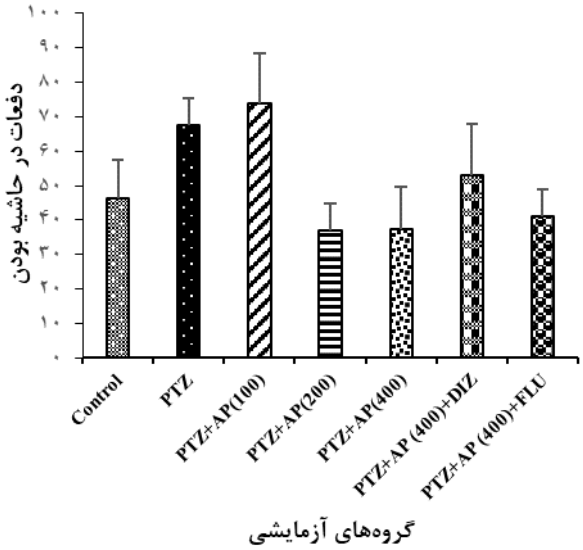
www.SID.ir

Archive of SID

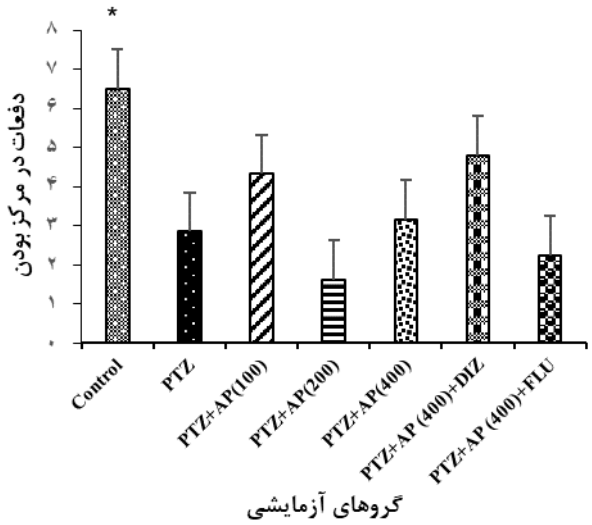
Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

گروه کنترل افزایش داشت ولی تفاوت آن‌ها معنی‌دار نبود. تیمار موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ با عصاره درمنه در دوزهای مختلف اثر معنی‌داری بر رفتار حیوان در صفحه باز نداشت ($P>0/05$).

الف



ب



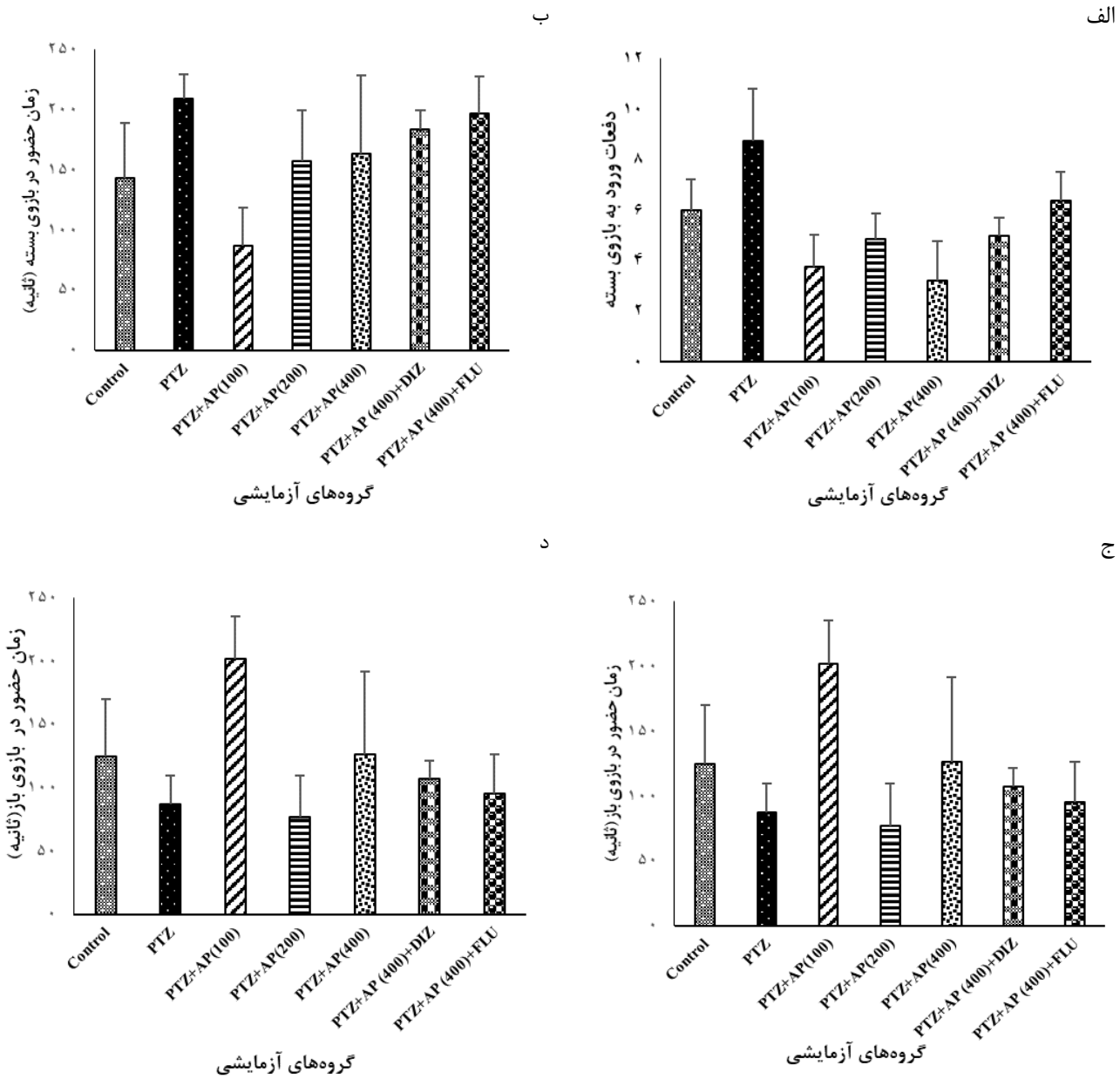
نمودار ۲- مقایسه دفعات ورود به حاشیه صفحه باز (الف)، دفعات ورود به مرکز صفحه باز (ب) * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه دریافت کننده PTZ ($P<0/05$ *). PTZ: (پنتیلن تترازول در دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با فواصل ۴۸ ساعت و دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز دهم)، AP ۱۰۰،۲۰۰،۴۰۰ (عصاره درمنه ایرانی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، DIZ (دیازپام در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و FLU (فلومازنیل در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

بر اساس نتایج نمودار ۳، در موش‌های دریافت کننده PTZ در مقایسه با کنترل افزایش دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته و کاهش دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوهای باز ماز بعلاوه‌ای مرتفع مشاهده شد. تیمار موش‌های دریافت کننده PTZ توسط عصاره درمنه در دوزهای مختلف سبب افزایش غیر معنی‌دار و جزئی دفعات ورود و زمان سپری شده در بازوهای باز و کاهش جزئی و غیرمعنی‌دار دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته ماز بعلاوه‌ای مرتفع شد. تزریقات متوالی PTZ به موش‌های سوری با کاهش زمان حفظ تعادل در آزمون روتارود در مقایسه با گروه کنترل همراه بود. تیمار موش‌های دریافت کننده PTZ توسط عصاره درمنه در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش جزئی و غیرمعنی‌دار قابلیت حفظ تعادل در آزمون روتارود شد (نمودار ۴). بر اساس نتایج کیندلینگ موش‌های سوری توسط PTZ سبب افزایش معنی‌دار مدت زمان غوطه‌وری در آزمون معلق ماندن از دم در مقایسه با گروه کنترل شد ($P<0/05$). تیمار موش‌های دریافت کننده PTZ توسط عصاره درمنه در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب کاهش جزئی و غیرمعنی‌دار مدت زمان غوطه‌وری در آزمون معلق ماندن از دم شد (نمودار ۵). مدت زمان غوطه‌وری در آزمون معلق ماندن از دم در موش‌های تحت تیمار توسط دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره و دیازپام به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه PTZ بود ($P<0/05$).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

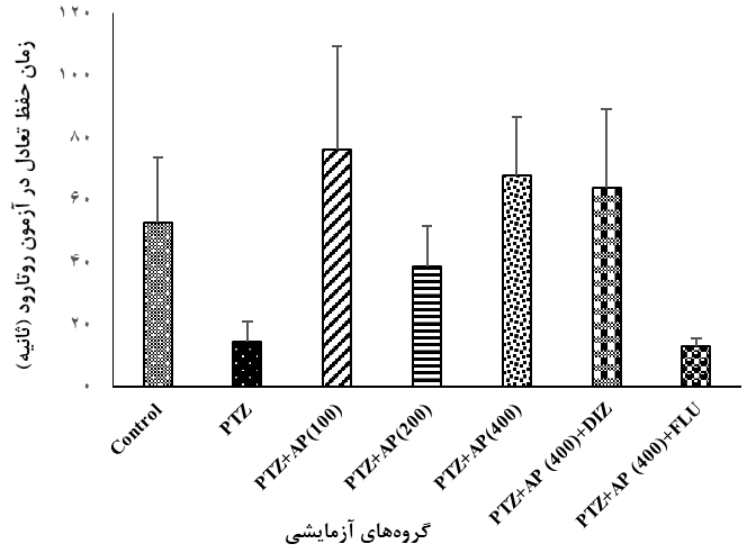


نمودار ۳- (الف) مقایسه دفعات ورود و مدت زمان سپری شده (ب) در بازوهای بسته و دفعات ورود (ج) و مدت زمان سپری شده (د) در بازوهای باز ماز بعلاوه‌ای مرتفع بین گروه‌های آزمایشی. PTZ: (پنتیلن تترازول در دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با فواصل ۴۸ ساعت و دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز دهم)، AP۱۰۰،۲۰۰،۴۰۰ (عصاره درمنه ایرانی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، DIZ (دیازپام در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و FLU (فلومازنیل در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

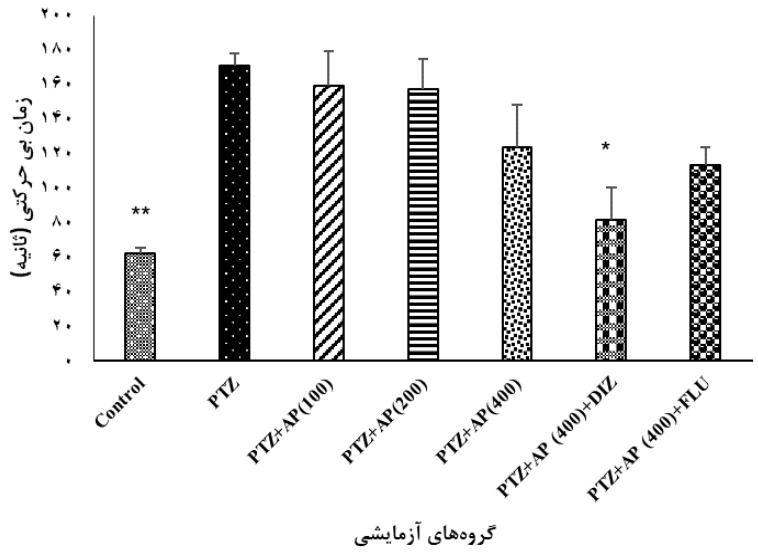
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019



نمودار ۴- مقایسه مدت زمان حفظ تعادل در آزمون روتارود بین گروه‌های آزمایشی. PTZ: (پنتیلن تترازول در دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با فواصل ۴۸ ساعت و دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز دهم)، AP۴۰۰،۲۰۰،۱۰۰ (عصاره درمنه ایرانی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، DIZ (دیازپام در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و FLU (فلومازنیل در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم).



نمودار ۵-مقایسه مدت زمان غوطه‌وری در آزمون معلق ماندن از دم بین گروه‌های آزمایشی. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه دریافت کننده PTZ ** $P<۰/۰۱$ و *** $P<۰/۰۰۱$). PTZ: (پنتیلن تترازول در دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با فواصل ۴۸ ساعت و دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز دهم)، AP۴۰۰،۲۰۰،۱۰۰ (عصاره درمنه ایرانی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، DIZ (دیازپام در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و FLU (فلومازنیل در دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

بحث

در مطالعه حاضر که با هدف ارزیابی اثر عصاره درمنه برتشنج و اختلالات رفتاری ناشی از PTZ در موش‌های سوری نر صورت گرفت مشاهده شد که تیمار موش‌های دریافت کننده PTZ توسط عصاره درمنه ایرانی در دوزهای مختلف اثرمعنی‌داری بر زمان تاخیر شروع تشنج ندارد. با این حال در موش‌هایی که توسط عصاره درمنه در روز ۴۰۰ تحت تیمار قرار گرفته بودند و در دوز دهم دیازپام دریافت کردند زمان شروع تشنج نسبت به موش‌هایی که PTZ را به تنهایی دریافت کرده بودند افزایش معنی‌داری داشت. زمان تاخیر شروع تشنج نیز در موش‌هایی که عصاره درمنه را به همراه فلومازنیل دریافت کردند تفاوت معنی‌داری با گروه PTZ و گروه تحت تیمار توسط عصاره نداشت.

PTZ آنتاگونیست گیرنده $GABA_A$ می‌باشد که به‌طور تجربی جهت مطالعه فرایند تشنج و شناسایی داروهایی‌هایی با اثرات ضدتشنجی استفاده می‌شود (۲۸). در مطالعه حاضر تجویز عصاره درمنه به‌تنهایی اثرمعنی‌دار بر زمان تاخیر شروع تشنج نداشت ولی در موش‌های دریافت‌کننده عصاره درمنه به‌همراه تک دوز دیازپام در روز دهم افزایش تاخیر شروع تشنج مشاهده شد که به احتمال زیاد ناشی از دیازپام است. دیازپام آگونیست گیرنده‌های بنزودیازپینی است که با اثر بر روی گیرنده‌های $GABA_A$ و در نهایت ورود یون کلر به نورون‌ها اثرات آرام‌بخشی و ضدتشنجی اعمال می‌کند (۲۹). فلومازنیل یک آنتاگونیست قوی گیرنده بنزودیازپین است که به طور رقابتی مانع از فعالیت‌های گابا و بنزودیازپین بر روی گیرنده‌های بنزودیازپین می‌شود (۲۹)، در مطالعه حاضر فلومازنیل اثر معنی‌داری بر فعالیت عصاره درمنه ایرانی نداشت، این نتایج که نشان می‌دهد عصاره درمنه فاقد اثرات ضدتشنجی از طریق گیرنده‌های گابا بوده است.

در مطالعه حاضر در موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ کاهش معنی‌دار دفعات ورود به مرکز در آزمون صفحه باز و افزایش مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون معلق ماندن از دم مشاهده شد. در موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ همچنین افزایش دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوی بسته و کاهش دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوی باز ماز بعلاوه‌ای مرتفع مشاهده شد، هرچند تفاوت آن‌ها با گروه کنترل معنی‌دار نبود. مطالعات نشان می‌دهند که تزریقات PTZ با اختلالات مختلف در مغز همراه است که سبب بروز مشکلات شناختی و رفتاری متعددی می‌گردند. تحقیق عدالت منش و همکاران نشان داد که در پی القاء تشنج در بازه زمانی ۵ روزه توسط PTZ اختلالات اضطرابی به‌صورت افزایش دفعات ورود و زمان سپری شده در بازوی بسته ماز بعلاوه‌ای مرتفع مشاهده می‌گردد. رفتارهای شبه اضطرابی در آزمون صفحه باز نیز بصورت کاهش مربع‌های پیموده شده، کاهش دفعات ورود به مربع‌های مرکز، کاهش بالا رفتن از دیواره و افزایش دفعات مدفوع در موش‌های دریافت کننده PTZ به عنوان شاخص اضطراب مشاهده شد (۳۰). در مطالعه حاضر همراستا با نتایج مطالعه عدالت-منش و همکاران، علایم افسردگی و اضطراب به‌صورت کاهش دفعات ورود به مرکز صفحه باز در موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ مشاهده شد. علاوه بر این همراستا با مطالعه عدالت‌منش و همکاران، در موش‌های دریافت کننده PTZ رفتارهای اضطرابی در آزمون ماز بعلاوه‌ای مرتفع مشاهده شد ولی تفاوت آن با گروه کنترل

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

معنی‌دار نبود. این تفاوت‌ها ممکن است به‌دلیل تفاوت مطالعات از نظر نژاد موش، مدت تیمار، تفاوت داروی ptz از نظر شرکت سازنده و دوز مورد استفاده باشد. در مطالعه چیماکورتی[1] و همکاران در سال ۲۰۱۴، تجویز روزانه PTZ در دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز سبب کاهش معنی‌دار مدت زمان سپری شده در بازوهای باز EPM به عنوان شاخص اضطراب شد (۳۱). کایر[2] و همکاران در سال ۲۰۰۶، نیز کاهش دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوهای باز EPM را در موش‌های تحت تیمار توسط تزریقات روزانه PTZ مشاهده کردند (۳۲). در بیماران مبتلا به صرع نیز اختلالات روحی و روانی از قبیل قبیل افسردگی و اضطراب گزارش شده است که ناشی از تاثیر مستقیم بیماری یا دارودرمانی می‌باشند (۴, ۵).

در مطالعه حاضر تیمار موش‌های کیندلینگ شده توسط PTZ با عصاره درمنه در دوزهای مختلف اثر معنی‌داری بر رفتار حیوان در صفحه باز نداشت ولی سبب کاهش جزئی و غیرمعنی‌دار بی‌حرکتی در آزمون معلق ماندن از دم شد. عصاره درمنه همچنین سبب افزایش جزئی و غیرمعنی‌دار دفعات ورود و زمان سپری شده در بازوهای باز و کاهش جزئی و غیرمعنی‌دار دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته ماز بعلاوه‌ای مرتفع شد. عصاره درمنه تعادل موش‌های تشنجی در آزمون روتارود را نیز تا حدی بهبود بخشید. در مطالعه حاضر برای نخستین بار اثربخشی عصاره درمنه ایرانی در مدل حیوانی افسردگی، اضطراب و تشنج بررسی شد و یافته‌های مطالعه حاکی از اثربخشی ضعیف عصاره گیاه بودند، هرچند ممکن است در صورت استفاده از دوزهای بالاتر عصاره برای مدت طولانی اثربخشی معنی‌داری مشاهده گردد. از نقاط قوت مطالعه استفاده از چندین تست رفتاری برای افسردگی و اضطراب بود تا مشخص شود آیا عصاره گیاه اثرات نوروپروتکتیو در برابر اختلالات نشان می‌دهد یا خیر. علاوه بر این از آزمون روتارود استفاده شد تا در صورت مشاهده اثرات ضدافسردگی و اضطرابی مشخص شود که آیا این اثر ناشی از تاثیر بر فعالیت حرکتی حیوان بوده یا خیر. از محدودیت‌های مطالعه حاضر و همچنین مطالعات دیگر صورت گرفته بر روی عصاره‌های گیاهی متغیر بودن ترکیبات عصاره‌های گیاهی در مطالعات مختلف و همچنین عصاره‌های به دست آمده در زمان‌ها و مکان‌های مختلف است. بطور کلی میزان و نوع ترکیبات شیمیایی گیاهان تحت تاثیر فاکتورهای مختلفی از قبیل تفاوت‌های ژنتیکی، منطقه جغرافیایی، زمان برداشت، کیفیت خاک، بخش مورد استفاده گیاه و روش آماده‌سازی می‌باشد (۱). برای حال این معضل پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی اثربخشی ترکیبات فعال شناسایی شده برای گیاه از قبیل آرتیمیسین که دارای اثرات نوروپروتکتیو قابل ملاحظه است بر تشنج، اضطراب و افسردگی بررسی شود.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های مقاله، دوزهای مختلف عصاره گیاه درمنه ایرانی در برابر تشنج و افسردگی و اضطراب ناشی از PTZ در موش‌های سوری اثرات معنی داری نداشته است.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه با کد15330513962002 می‌باشد و بدین وسیله نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی این دانشگاه تشکر و قدردانی می نمایند.

تعارض منافع

بین نویسندگان مطالعه حاضر هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

[1] Chimakurthy
[2] Kayir

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

References

1. Gupta Y, Kumar MV, Srivastava A. Effect of Centella asiatica on pentylenetetrazole-induced kindling, cognition and oxidative stress in rats. Pharmacol Biochem Behav 2003;74(3):579-85.
2. Lennox WG. Epilepsy and related disorders. Boston, Little, Brown; 1960.
3. Helmstaedter C. Effects of chronic epilepsy on declarative memory systems. Prog Brain Res 2002;135:439-53.
4. Vazquez B, Devinsky O. Epilepsy and anxiety. Epilepsy Behav 2003;4:20-5.
5. Kimiskidis VK, Triantafyllou NI, Kararizou E, Gatzonis S-S, Fountoulakis KN, Siatouni A, *et al*. Depression and anxiety in epilepsy: the association with demographic and seizure-related variables. Ann Gen Psychiatry 2007;6(1):28-9.
6. Hoeller AA, de Carvalho CR, Franco PLC, Formolo DA, Imthon AK, dos Santos HR, *et al*. Behavioral and Neurochemical Consequences of Pentylenetetrazol-Induced Kindling in Young and Middle-Aged Rats. Pharmaceuticals 2017;10(3):75-9.
7. Jung ME, Lal H, Gatch MB. The discriminative stimulus effects of pentylenetetrazol as a model of anxiety: recent developments. Neurosci Biobehav Rev 2002;26(4):429-39.
8. Siadat SA, Direkvand-Moghadam F. Study of phytochemical characteristics Artemisia persica Boiss in Ilam Province. Advanced Herbal Medicine 2017;3(2):55-9.
9. Ahmadvand H, Amiri H, Dalvand H, Bagheri S. Various antioxidant properties of essential oil and hydroalcoholic extract of Artemisa persica: Short Communication. J Birjand Univ Med Sci 2014;20(4):416-24. [Persian]
10. Taghizadeh Rabe SZ, Mahmoudi M, Ahi A, Emami SA. Antiproliferative effects of extracts from Iranian Artemisia species on cancer cell lines. Pharm Biol 2011;49(9):962-9.
11. Masoudi S, Rustaiyan A, Vahedi M. Volatile oil constituents of different parts of Artemisia chamaemelifolia and the composition and antibacterial activity of the aerial parts of A. turcomanica from Iran. Nat Prod Commun 2012;7(11):1519-22.
12. Magalhães PM, Dupont I, Hendrickx A, Joly A, Raas T, Dessy S, *et al*. Anti-inflammatory effect and modulation of cytochrome P450 activities by Artemisia annua tea infusions in human intestinal Caco-2 cells. Food Chem 2012;134:864-71.
13. Ramezani M, Fazli-Bazzaz B, Saghafi-Khadem F, Dabaghian A. Antimicrobial activity of four Artemisia species of Iran. Fitoterapia 2004;75(2):201-3.
14. Karamoddini M, Emami S, Ghannad M, Alizadeh Sani E, Sahebkar A. Antiviral activities of aerial subsets of Artemisia species against *Herpes Simplex virus* type 1 (HSV1) in vitro. Asian Biomed 2011;4(6):22-9.
15. Usuda M, Endo T, Nagase H, Tomono K, Ueda H. Interaction of antimalarial agent artemisinin with cyclodextrins. Drug Dev Ind. Pharm. 2000;26(6):613-9.
16. Yu W, Kan W, Yu P, Li M, Song J, Zhao F. Anti-inflammatory effect and mechanism of artemisinin and dihydroartemisinin. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 2012;37(17):2618-21. [Chinese]
17. Aldieri E, Atragene D, Bergandi L, Riganti C, Costamagna C, Bosia A, *et al*. Artemisinin inhibits inducible nitric oxide synthase and nuclear factor NF-kB activation. FEBS Lett 2003;552(2-3):141-4.
18. Hara Y, Yamawaki H, Shimada M, OKADA K, Tanai T, Ichikawa D, *et al*. Anticholinergic effects of artemisinin, an antimalarial drug, in isolated guinea pig heart preparations. J Vet Med Sci 2007;69(7):697-702.
19. Xiao A-J, Gong L-L, Xin O-Y, Liu J-M, Chen M-R. Artemisinin protected neuronal cells against oxidative stress and its underlying mechanisms. Acta Pharmacol Sin 2017;38(7):1069-73.
20. Amos S, Chindo B, Abbah J, Vongtau H, Edmond I, Binda L, *et al*. Postsynaptic dopamine (D2)-mediated behavioural effects of high acute doses of artemisinin in rodents. Brain Res Bullet 2003;62(3):255-60.
21. Sowndhararajan K, Kang SC. Free radical scavenging activity from different extracts of leaves of Bauhinia vahlii Wight & Arn. Saudi J Biol Sci 2013;20(4):319-25.
22. Deng Y, Liu Z, Geng Y. Anti-allergic effect of Artemisia extract in rats. Exp Ther Med 2016;12(2):1130-4.
23. Aldenkamp A, Alpherts W, Blennow G, Elmquist D, Heibel J, Nilson H. Withdrawal of antiepileptic medication in children–effects on cognitive function: the multicenter Holmfrid study. Neurology 1993;43(1):41-50.

www.SID.ir

Archive of SID

24. Ballinger MB, Baneux P, Barthold S, Cork L, Hau J, Huerkamp M, *et al*. Guide for the care and use of laboratory animals. 8ed National Academies; Washington (DC): 1985.
25. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology 1985;85(3):367-70.
26. Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE. Mood and anxiety related phenotypes in mice. Berlin: Springer; 2009.
27. Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. Pharmacol Biochem Behav 1986;24(3):525-9.
28. Sierra-Paredes G, Sierra-Marcuño G. Extrasynaptic GABA and glutamate receptors in epilepsy. CNS Neurol Disord Drug Targets 2007;6(4):288-300.
29. Hosseinzadeh H, Sadeghnia H. Protective effect of safranal on pentylenetetrazol-induced seizures in the rat: involvement of GABAergic and opioids systems. Phytomedicine 2007;14(4):256-62.
30. Edalatmanesh MA, Yazdani M, Davoodi A, Rafiei S. Anxiolytic effect of lithium chloride in model of PTZ-induced seizure. Horizon Med Sci 2018;24(2):79-87.
31. Chimakurthy J, Talasila M. Effects of curcumin on pentylenetetrazole-induced anxiety-like behaviors and associated changes in cognition and monoamine levels. Psychol Neurosci 2010;3(2):239-44.
32. Kayir H, Uzbay IT. Nicotine antagonizes caffeine-but not pentylenetetrazole-induced anxiogenic effect in mice. Psychopharmacology 2006;184(3-4):464-9.

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

www.SID.ir

Archiv

Journal of Neyshabur University of Medical Sciences

www.journalnums.ac.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:14 IRDT on Monday May 13th 2019

Evaluation of the effect of hydroalcoholic extract of Artemisia persica on seizure, depression and anxiety induced by Pentylenetetrazol in male mice

Mozhgan Daneshkhah, Mahbubeh Setorki*

Department of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran

Original Article

Received: Nov 8, 2018
Accepted: Jan 30, 2019

***Corresponding Author:**
Mahbubeh Setorki,
Department of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran
TEL: +98 9133121589
Email:
doctor.setorgi@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction

The aim of this study was to investigate the effect of *Artemisia persica (AP)* extract on seizure and behavioral problems induced by PTZ in male rats**.**

Materials and Methods

70 male mice were randomly divided into the seven groups including control (normal saline), model (PTZ at a dose of 35 mg/kg with 48h intervals and at 60 mg/kg on the 10th day), intervention groups (PTZ with 48h intervals and extract at doses of 100, 200 and 400 mg/kg daily) and flumazenil and diazepam groups (PTZ, extract at 400 mg/kg and flumazenil or diazepam on the 10th day). Tail suspension test (TST), rotarod, elevated plus maze (EPM) and open - filed were used to evaluate behavioral disorders.

Results

Treatment of PTZ-kindled mice with *Artemisia persica* extract and diazepam caused a significant increase in a seizure onset time ($P<0.05$). A significant reduction in the center square entrance in the open-field test and a significant increase in the duration of immobility time in the TST were observed in the PTZ-kindled mice ($P <0.05$). Treatment with different doses of *Artemisia persica*extract resulted in minor and non-significant improvement of these parameters. PTZ also increased the number of entries and the time elapsed in the closed arm and reduced the number of entries and the time elapsed in the open arm of the EPM. The *Artemisia persica*extract caused a minor and non-significant improvement.

Conclusion

Different doses of *Artemisia persica* extract showed no significant effect against seizure, depression, and anxiety caused by PTZ in mice. It is suggested that future studies focus on plant compounds.

Keywords

Artemisia persica, depression, anxiety, seizure, PTZ

► ***Please cite this article as:*** Daneshkhah M, Setorki M. Evaluation of the effect of hydroalcoholic extract of Artemisia persica on seizure, depression and anxiety induced by Pentylenetetrazol in male mice. J Neyshabur Univ Med Sci 2019;7(1):57-69.

www.SID.ir