

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات تجویز حاد روغن بذر گل گاوزبان بر تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول در موش سوری

حکیمه گاوزن^{۱*}، محمد سیاح^۲، بهار خشکرودیان^۲

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، آمل، ایران

۲. بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

پذیرش: ۱۱ شهریور ۱۳۹۹

دریافت: ۱۳ مرداد ۱۳۹۹

چکیده

زمینه و هدف: صرع یکی از شایعترین اختلالات سیستم عصبی است. عوارض نامطلوب و مقاوت به داروهای ضدصرع، کشف درمان‌های جدید را ضروری می‌سازد. اسیدهای چرب غیراشباع به‌عنوان مکمل‌های بدون عوارض جانبی در درمان صرع توصیه می‌شوند. روغن بذر گل‌گاوزبان دارای میزان متعادلی از اسیدهای چرب امگا-۳ و ۶ می‌باشد. در مطالعه حاضر اثر این روغن بر تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول در موش سوری بررسی گردید.

روش‌ها: مطالعه در گروه‌های ده‌تایی از موش‌ها انجام شد. موش‌ها در ۵ گروه جداگانه روغن بذر گل‌گاوزبان از راه داخل صفاقی با دوز یک گرم/کیلوگرم (برای زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه) و ۳ گرم/کیلوگرم (برای زمان ۶۰ دقیقه) دریافت کردند. بعد از فواصل زمانی فوق به موش‌ها پنتیلین تترازول با دوز ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از راه داخل صفاقی تزریق شد و تا ۳۰ دقیقه بعد وقوع تشنجات کلونیک و مدت زمان تاخیر تا شروع تشنجات ثبت گردید. در مرحله بعد، به ۲ گروه دیگر از موش‌ها روغن بذر گل‌گاوزبان با دوزهای ۳ و ۴ گرم/کیلوگرم از راه داخل صفاقی تزریق شد و بعد از ۶۰ دقیقه آستانه تشنج کلونیک این موش‌ها با تزریق وریدی پنتیلین تترازول (۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اندازه‌گیری شد. برای تمام گروه‌های فوق بطور هم‌زمان گروه شاهد متناظر در نظر گرفته شده بود.

یافته‌ها: فقط دوز یک گرم/کیلوگرم روغن بذر ۶۰ دقیقه بعد از تزریق توانست زمان تاخیر تشنجات کلونیک را افزایش دهد ($p < 0.001$). روغن بذر در هیچ‌کدام از دوزها تاثیری بر آستانه تشنجات نداشت.

نتیجه‌گیری: تزریق حاد روغن بذر گل‌گاوزبان فاقد اثرات ضد تشنجی قابل ملاحظه در مدل پنتیلین تترازول می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، پنتیلین تترازول، تشنج، روغن بذر گل‌گاوزبان

مقدمه

حداقل سمیت برای افراد مبتلا به صرع ضروری است. اخیراً اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳، به‌عنوان مکمل تغذیه‌ای فاقد عوارض جانبی در درمان صرع مورد توجه قرار گرفته‌اند [۲].

اسیدهای چرب غیراشباع، از چربی‌های ضروری هستند که به‌وسیله رژیم غذایی تامین می‌شوند و در ساختار و عملکرد سیستم عصبی مرکزی دارای نقش بسزایی می‌باشند. در سال‌های اخیر مطالعات درون‌تنی و برون‌تنی بسیاری، اثرات مفید اسیدهای چرب غیراشباع را در برابر بیماری‌های

صرع از شایع‌ترین و ناتوان‌کننده‌ترین اختلالات در سیستم عصبی مرکزی است. بعد از سکنه مغزی، صرع با شیوع حدود ۰/۵ تا ۵٪ شایع‌ترین اختلال نورولوژیک است. علیرغم بررسی‌های گسترده‌ای که بر روی پاتوفیزیولوژی و دارو درمانی آن صورت گرفته‌است هنوز هم ۳۰ تا ۴۰٪ بیماران به کلیه روش‌های درمانی مقاوم بوده و پاسخ درمانی نمی‌دهند [۱]. با وجود راهکارهای درمانی ضدصرع مختلف از جمله طیف وسیعی از داروهای ضدصرع، همچنان ۳۰٪ بیماران مصروع به داروهای موجود مقاوم هستند. بنابراین درمان‌های جدید با

استئرایدونیک اسید (SDA) ^۴ و ALA و امگا-۶ گاما لینولئیک اسید ^۵ و لینولئیک اسید ^۶ به عنوان مکمل غذایی مورد توجه قرار گرفته است [۱۱]. از روغن بذر گونه ایرانی این گیاه (*Echium amaenum Fisch & C. A. Mey*) نیز اسیدهای چرب ضروری مختلفی استخراج شده است [۱۱]. مطالعات نشان داده‌اند که مصرف روغن بذر گل گاوزبان منجر به افزایش میزان امگا-۳ نظیر EPA، SDA، ALA و دوکوزاپنتائونیک اسید (DPA) ^۷ و امگا-۶ نظیر GLA و دی هومو-گاما لینولئیک اسید ^۸ می‌شود [۱۱]. SDA در تعداد محدودی از روغن‌های گیاهی وجود دارد و می‌تواند در بدن به EPA تبدیل شود. EPA و DPA هر دو پیش ساز DHA هستند [۱۱]. مصرف GLA منجر به اثرات ضدالتهابی و تعدیل سیستم ایمنی شده است. همچنین در بدن از GLA، DGLA ساخته می‌شود که همانند EPA یکی از پیش‌سازهای مهم ایکوزانوئیدهای ضدالتهابی و ایمنومدلاتوری در بدن می‌باشد [۱۲]. از سوی دیگر مطالعات آزمایشگاهی بر روی میمون و موش سوری نشان داده‌اند که مصرف جیره حاوی روغن بذر گل گاوزبان منجر به کاهش فاکتورهای ضدالتهابی می‌شوند [۱۳، ۱۴]. از آنجایی که التهاب نورونی یکی از علل اکتسابی صرع و بروز تشنجات خودبخودی است [۱]، بنابراین ایکوزانوئیدهای مشتق از هر دو اسیدچرب امگا-۳ و امگا-۶ می‌توانند در جلوگیری از بروز تشنجات موثر باشند. از سوی دیگر علاوه بر امگا-۳، اثرات ضد تشنجی امگا-۶ نیز گزارش شده است. تجویز حاد LA در مدل پنتیلین تترازول [۱۵] و تجویز مزمن آن همزمان با ALA با نسبت ۱:۴ در ترکیبی بنام SR3 در ۴ مدل تشنجی آزمایشگاهی دارای اثرات ضد تشنجی بوده است [۱۶].

در این میان، نه تنها هیچگونه عوارض جانبی از مصرف روغن بذر گل گاوزبان و اسیدهای چرب ضروری آن در انسان و حیوانات آزمایشگاهی گزارش نشده است بلکه مصرف این روغن منجر به اثرات مفید در بدن می‌شود. مصرف مزمن و خوراکی روغن بذر گل گاوزبان در انسان و حیوانات آزمایشگاهی منجر به کاهش اسیدهای چرب مضر نظیر تری‌گلیسرید و

قلبی-عروقی، التهاب، اختلالات سیستم عصبی و سیستم ایمنی نشان داده‌اند [۲]. ایکوزاپنتائونیک اسید ^۱ و دوکوزاهگزانوئیک اسید ^۲ عملکرد کانال‌های کلسیمی و سدیم را مهار و همچنین وقوع پتانسیل عمل را در نورون‌های هیپوکمپ کاهش می‌دهند [۳-۵]. تجویز حاد و مزمن EPA و DHA در مدل‌های حیوانی نیز دارای اثرات ضد تشنجی بوده است [۶-۸]. همچنین در مدل‌های تشنجی آزمایشگاهی تجویز همزمان امگا-۳ با داروهای ضد صرع رایج منجر به وقوع اثرات سینرژیک شده است [۶]. متابولیت‌های امگا-۳ DHA نیز دارای اثرات ضد تشنجی در مدل‌های حیوانی می‌باشند [۹]. همچنین، مطالعات مختلفی اثرات ضد تشنجی مصرف مکمل‌های حاوی EPA و DHA نظیر روغن ماهی را در انسان گزارش کرده‌اند [۲].

بدن انسان و حیوانات قادر به تولید اسیدهای چرب ضروری نیستند. در حال حاضر غذاهای دریایی مهم‌ترین منابع تامین‌کننده امگا-۳ هستند. اما صید بی‌رویه، آلودگی محیط زیست دریایی، هزینه بالا، عدم دسترسی و عدم تمایل به مصرف آبزیان از جمله محدودیت‌های استفاده از منابع دریایی می‌باشند [۱۰]. از سوی دیگر مصرف مکمل‌های حاوی روغن ماهی منجر به کاهش میزان امگا-۶ در بدن می‌شود [۱۱] اگرچه در برخی موارد نظیر واکنش‌های التهابی، امگا-۶ و مشتقات آن دارای اثرات مخالفی نسبت به امگا-۳ و مشتقات آن می‌باشند. اما وجود هر دو نوع اسیدچرب و برقراری نسبت متعادل امگا-۶/امگا-۳ در رژیم غذایی برای حفظ هموستازی و سلامتی بدن ضروری است [۱۱]. امروزه روغن بذرهای گیاهان به‌عنوان منابع جایگزین پیشنهاد می‌شوند. بخش اعظم چربی‌های موجود در روغن بذر گیاهان از نوع امگا-۶ و بیشترین مقدار امگا-۳ موجود در این روغن‌ها آلفا لینولئیک اسید ^۱ می‌باشد. به دلیل فقدان آنزیمی، بدن انسان و حیوانات قادر به تبدیل ALA به اسیدهای چرب امگا-۳ ضروری نظیر EPA و DHA نیستند [۱۱]. بنابراین یافتن منبع غذایی جایگزین حاوی مخلوطی از امگا-۳ و امگا-۶ یک نیاز جدی برای سلامتی انسان و حیوانات است.

اخیراً روغن بذر گل گاوزبان از خانواده بوراژیناسه به دلیل دارا بودن مقادیر قابل توجهی از اسیدهای چرب امگا-۳ نظیر

⁴ Stearidonic acid

⁵ gamma-Linolenic acid

⁶ Linoleic acid

⁷ Docosapentaenoic acid

⁸ Dihomo- γ -linolenic acid (DGLA)

¹ Eicosapentaenoic acid

² Docosahexaenoic acid

³ alpha-Linolenic acid

حیوانات گروه ۲ تا ۵، دوز یک گرم/کیلوگرم از روغن بذر گل گاوزبان به ترتیب در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلین تترازول تجویز شد. سپس براساس نتایج، موش‌های گروه ۶ و ۷ به ترتیب دوز سه گرم/کیلوگرم از روغن بذر گل گاوزبان و حلال را یک ساعت قبل از تزریق پنتیلین تترازول دریافت کردند. همه تزریقات به صورت داخل صفاقی و با حجم ۰/۱ میلی لیتر/۱۰ گرم وزن موش سوری انجام شدند. پنتیلین تترازول با دوز ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به روش داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد. فعالیت‌های تشنجی در طول ۲۰ دقیقه پس از تزریق پنتیلین تترازول ارزیابی شدند. بروز یا عدم‌بروز تشنجات کلونیک و مدت زمان لازم برای شروع این تشنجات (زمان تاخیری) در آن‌ها ثبت گردید.

تعیین آستانه تشنجات کلونیک

برای تعیین حدآستانه در هر موش، ابتدا حیوان مقید شد. سپس سوزن دندانپزشکی با شماره ۳۰ که بوسیله لوله پلی‌اتیلن به سرنگ انسولین حاوی پنتیلین تترازول (۱۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) وصل بود، در داخل ورید دمی حیوان قرار گرفت. پس از ثابت کردن سرسوزن، حیوان در داخل محفظه‌ای قرار داده شد. پنتیلین تترازول با سرعت (۱۰۰ میکرولیتر/دقیقه) تا زمان بروز تشنجات کلونیک تزریق گردید. این مدل در ۴ گروه انجام شد. گروه‌های ۱ تا ۳ به ترتیب دوزهای ۳ و ۴ گرم/کیلوگرم از روغن بذر گل‌گاوزبان و حلال را دریافت کردند. پس از یک ساعت برای تعیین حدآستانه تشنج، پنتیلین تترازول به روش داخل وریدی تزریق شد. به حیوانات گروه ۴ نیز تنها پنتیلین تترازول تزریق گردید.

ارزیابی رفتارهای غیرطبیعی حیوانات

حیوانات در تمامی گروه‌های آزمایش تا ۲۴ ساعت پس از تزریق دوزهای مختلف روغن از نظر بروز رفتارهای غیرطبیعی نظیر پرخاشگری، حساسیت به محرک‌های خارجی همچون صدا و نور، تمیزکردن موهای بدن، لرزش‌های عضلانی، فعالیت بیش‌ازحد، عدم فعالیت اکتشافی، گوشه‌گیری و نهایتاً مرگ مورد بررسی قرار گرفتند.

آنالیز آماری

تحلیل آماری نتایج این مطالعه به‌وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. برای مقایسه‌ی درصد بروز تشنجات ناشی

کلسترول و همچنین افزایش امگا-۳ و بهبود نسبت امگا-۶/امگا-۳ می‌شود [۱۱].

بنابراین در این مطالعه اثرات تجویز حاد روغن بذر گل گاوزبان ایرانی بر بروز و آستانه تشنجات القا شده توسط پنتیلین تترازول مورد بررسی قرار گرفت. پنتیلین تترازول یک آنتاگونیست رسپتورهای گابا است و برای القای مدل صرع غیابی و منتشر مناسب است [۱].

مواد و روش‌ها

بذر گل‌گاوزبان (*Echium amoenum* Fisch & C. A.) از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. بذرهای توزین و از آلودگی‌های خارجی پاک‌سازی شدند. سپس استخراج روغن به روش پرس سرد در یکی از مراکز روغن‌گیری انجام شد. در این روش دمای روغن زیر ۵۰ °C است و صرفاً فشار به دانه، روغن طبیعی را خارج می‌سازد. به علت عدم وجود دمای بالا، ترکیبات خارج شده از دانه‌ی روغنی دچار تغییر چندانی نمی‌شوند و خواص دانه‌های روغنی حفظ می‌گردد. پنتیلین تترازول نیز از سیگما تهیه شد. پنتیلین تترازول در سرم فیزیولوژی حاوی ۰/۹٪ کلرید سدیم حل گردید. حلال روغن بذر گل‌گاوزبان، ترکیب ۷۰:۳۰ دی متیل سولفوکساید و روغن کنجد بود. دی متیل سولفوکساید از سیگما و روغن کنجد از یکی مراکز روغن‌گیری تهیه گردید.

حیوانات مورد استفاده

مطالعه در گروه‌های ده‌تایی از موش‌های سوری نر نژاد NMRI پرورشی انستیتو پاستور ایران-آمل محدود به وزنی ۲۰-۳۰ گرم انجام شد. موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می‌شوند. تمامی آزمایشات بر اساس شیوه نامه کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل به شماره گرت ۹۹۱۲ (۰۴۰۱۸/۱۳۹۹) مبتنی بر استفاده از حداقل تعداد حیوانات و استفاده از روش‌های منجر به کمترین میزان زجر، انجام شد.

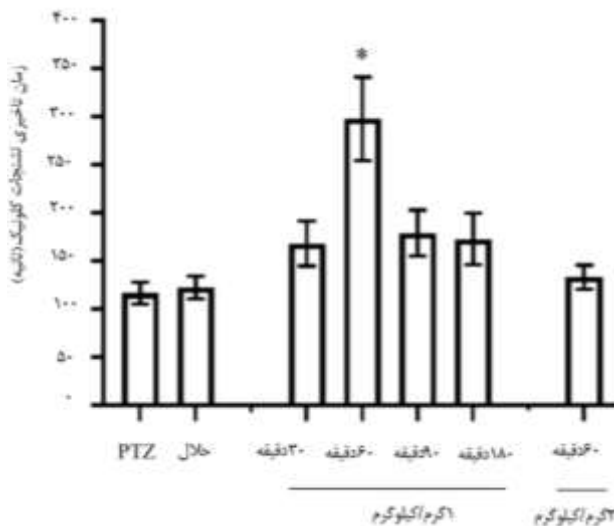
بررسی میزان وقوع تشنجات کلونیک

این مدل در ۷ گروه ده‌تایی از موش سوری انجام شد. گروه ۱، به‌عنوان کنترل تنها پنتیلین تترازول را دریافت کرد. به

تترازول داخل وریدی هیچ اثر قابل ملاحظه‌ای بر حد‌آستانه تشنجات نداشته است.

مطالعات قبلی نشان‌دهنده اثرات ضد تشنجی اسیدهای چرب غیراشباع به‌طور حاد و مزمن در مدل‌های مختلف آزمایشگاهی از جمله پنتیلین تترازول هستند [۸-۶]. پنتیلین تترازول از طریق مهار سیستم گابا آرژیک و تعدیل گیرنده متابوتروپیک گلوتامات موجب تشنج می‌شود. داروهای گابا آرژیک و مسدودکننده کانال کلسیمی تیپ T منجر به مهار تشنجات ناشی از آن می‌شوند [۱۷]. اسیدهای چرب غیراشباع منجر به انسداد کانال‌های یونی می‌شوند و همچنین عملکرد سیستم نوروترانسمیتری را در مغز تعدیل می‌کنند [۲]. بنابراین انتظار می‌رفت که روغن بذر گل‌گاوزبان نیز بدلیل دارا بودن مجموعه قابل توجهی از این اسیدهای چرب در مدل تشنجی پنتیلین تترازول موثر باشد.

قابل ذکر است که اسیدهای چرب امگا-۳ نظیر دوکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتائوئیک اسید مهم‌ترین و قویترین اسید چرب با اثرات ضد تشنجی هستند که در روغن ماهی به وفور یافت می‌شوند. در صورتی که روغن بذر گل‌گاوزبان حاوی مقادیر ناچیزی از این دو اسید چرب می‌باشد



نمودار ۱- اثر روغن بذر گل‌گاوزبان بر زمان تاخیر تا بروز تشنجات کلونیک ناشی از پنتیلین تترازول داخل صفاقی. تزریق روغن بذر گل‌گاوزبان در دوزهای یک و سه گرم/کیلوگرم در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلین تترازول انجام شد. داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شده‌اند. * تفاوت معنی‌دار با $p < 0.001$ نسبت به گروه حلال، براساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و تست تکمیلی توکی می‌باشد.

از پنتیلین تترازول در گروه‌های مختلف از آزمون دقیق فیشر استفاده شد. داده‌های مربوط به زمان تأخیر تا بروز تشنج مرحله ۵ در مدل پنتیلین تترازول داخل صفاقی و آستانه تشنجات کلونیک در مدل پنتیلین تترازول داخل وریدی به‌صورت میانگین \pm انحراف از معیار ثبت و بوسیله آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی آنالیز شدند. در تمام آنالیزها ملاک تفاوت معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر روغن بذر گل‌گاوزبان بر وقوع تشنجات کلونیک

روغن بذر گل‌گاوزبان با این که توانست میزان بروز تشنجات را تا ۳۰٪ کاهش دهد اما این اثر در هیچ‌کدام از دوزها و زمان‌ها معنی‌دار نبود. روغن بذر گل‌گاوزبان با دوز یک گرم/کیلوگرم توانست در تمامی زمان‌های مورد مطالعه زمان تاخیر تا شروع تشنج را افزایش دهد (نمودار ۱) اما این افزایش تنها در زمان ۶۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلین تترازول نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($p < 0.001$). با توجه به این نتایج، زمان ۶۰ دقیقه به‌عنوان فاصله زمانی مناسب بین تزریق روغن بذر گل‌گاوزبان و تعیین آستانه تشنج ناشی از پنتیلین تترازول انتخاب شد.

اثر روغن بذر گل‌گاوزبان بر آستانه تشنجات کلونیک

روغن بذر گل‌گاوزبان در دوزهای بکار رفته (۳ و ۴ گرم/کیلوگرم) نتوانست موجب تغییر معنی‌دار در حد‌آستانه تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول گردد (نمودار ۲). هیچ‌گونه تغییرات رفتاری و مرگ در گروه‌ها پس از تزریق روغن بذر گل‌گاوزبان مشاهده نشد.

بحث

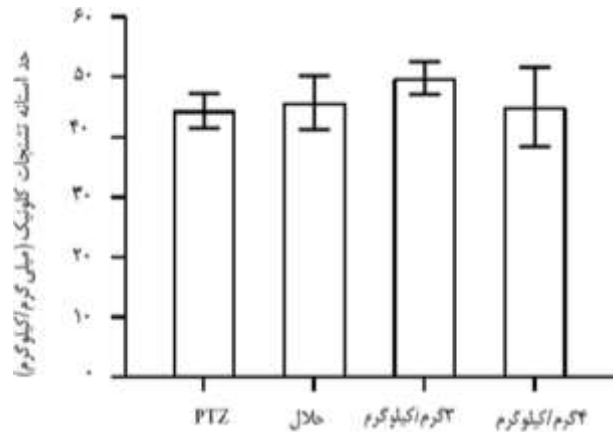
در مطالعه حاضر برای اولین بار اثرات ضد تشنجی روغن بذر گل‌گاوزبان مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، روغن بذر گل‌گاوزبان در مقابل تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول دارای اثرات قابل ملاحظه‌ای نبوده است. اگر چه تجویز حاد روغن بذر گل‌گاوزبان دارای اثرات ضد تشنجی در مدل تشنجی پنتیلین تترازول داخل صفاقی می‌باشد اما این اثر در دو دوز بکاررفته چندان قوی نبوده است. همچنین در مدل پنتیلین

دوز بالای EPA بطور خوراکی قادر است زمان تاخیری تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول را در موش صحرائی افزایش دهد. همچنین تجویز داخل وریدی EPA می‌تواند حدآستانه تشنجات کانونی و عمومی القا شده به‌وسیله تحریکات الکتریکی قشر مغز را افزایش دهد [۸]. علیرغم توانایی روغن بذر گل گاوزبان در افزایش میزان EPA در بدن، تجویز حاد این روغن در مطالعه حاضر نتوانست پارامترهای تشنجی را به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای مهار کند.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که مصرف روغن بذر گل گاوزبان و یا اسیدچرب مهم آن، SDA، اگرچه منجر به افزایش اسیدهای چرب امگا-۳ نظیر EPA و DPA می‌شوند اما هیچ تاثیری بر غلظت سرمی DHA ندارند [۲۰، ۱۹، ۱۰]. نتایج مطالعات انسانی و حیوانی نشان‌دهنده نقش موثر DHA در مهار تشنجات و پیشگیری و درمان بیماری صرع می‌باشد [۸-۶، ۲]. همچنین متابولیت DHA، نورپروتکتینو D1^۹ دارای اثرات ضد تشنجی در مدل‌های آزمایشگاهی هست. به‌طوری‌که به‌نظر می‌رسد بخشی از اثرات ضد تشنجی DHA مرتبط با متابولیت آن می‌باشد [۹]. با توجه به نتیجه مطالعه حاضر، ممکن است ترکیبی از DHA و روغن بذر گل گاوزبان در جلوگیری از تشنجات کلونیک موثر باشد. از سوی دیگر در سایر مطالعات، اثرات ضد تشنجی یکی از اجزای مهم موجود در روغن‌ها نظیر اسید چرب DHA مورد بررسی قرار گرفته است [۸-۶، ۲]. اما روغن بذر گل گاوزبان شامل مجموعه‌ای از ترکیبات مختلف از جمله اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد. در این مورد دو مسئله مطرح می‌شود:

- ۱- میزان اجزای موثر موجود در روغن محدود می‌باشند و بنابراین ممکن است در این مطالعه در پی تجویز حاد روغن بذر گل گاوزبان، میزان کافی از ماده موثره به حیوان نرسیده باشد.
- ۲- سایر ترکیبات موجود در روغن از اثربخشی بهینه مواد ضد تشنجی آن جلوگیری می‌کنند.

همچنین مشخص شده است که در تجویز سیستمیک اسیدهای چرب، بخش قابل‌ملاحظه‌ای از آن‌ها به‌وسیله آنزیم‌های کبدی و یا مغزی متابولیزه می‌شوند. بنابراین در بسیاری از مطالعات جهت جلوگیری از متابولیسم سیستمیک، اسیدهای چرب به‌صورت داخل مغزی تجویز شده‌اند. ممکن است تجویز اجزای موثر این روغن در پی تجویز داخل صفاقی تحت تاثیر متابولیسم سیستمیک قرار گرفته و اثربخشی خود را از دست داده باشند.



نمودار ۲- اثر روغن بذر گل گاوزبان بر حدآستانه تشنجات کلونیک ناشی از پنتیلین تترازول وریدی. داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شده‌اند.

و اهمیت این روغن به‌دلیل داشتن مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای از پیش‌سازهای این دو نوع اسید چرب می‌باشد. بنابراین در تجویز حاد زمان کافی برای تبدیل میزان مناسبی از این پیش‌سازها به DHA و EPA وجود ندارد. در مطالعات انجام شده بر روی اثرات ضد تشنجی اسیدهای چرب غیر اشباع، معمولاً این ترکیبات به‌صورت روغن‌های مصرفی نظیر روغن ماهی و به‌صورت طولانی مدت و خوراکی تجویز شده‌اند [۲]. اما در مطالعه حاضر روغن بذر گل گاوزبان بصورت حاد تجویز شد. بنابراین در این مطالعه مدت زمان کافی برای اعمال اثرات طولانی مدت اجزای موثر این روغن بر تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول وجود نداشته است.

روغن بذر گل گاوزبان حاوی SDA و GLA می‌باشد که برترتیب پیش‌سازهای امگا-۳ و امگا-۶ هستند. SDA و GLA می‌توانند به‌راحتی در بدن انسان و حیوانات به اسیدهای چرب ضروری دیگر تبدیل شوند. مطالعات بر روی انسان و حیوانات آزمایشگاهی نشان داده است که مصرف روزانه روغن بذر گل گاوزبان و SDA بصورت مزمن و خوراکی منجر به افزایش DPA و EPA و بطور کلی کاهش نسبت $\frac{\omega-6}{\omega-3}$ شده است [۲۰-۱۸، ۱۱]. همچنین تاثیر مکمل حاوی SDA به مدت ۱۲ هفته بر افزایش میزان EPA در گلوبول قرمز و قلب سگ برابر با ۲۰-۲۳٪ تاثیر مصرف مکمل حاوی EPA می‌باشد [۱۸]. در انسان نیز تاثیر مصرف روزانه مکمل SDA بمدت ۳ هفته بر افزایش میزان EPA سرم تا ۳۰٪ مصرف مکمل EPA و ۴/۳ برابر تاثیر مکمل ALA گزارش شده است [۱۹]. تجویز حاد

⁹ Neuroprotectin D1

نتیجه گیری

در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز حاد و داخل صفاقی روغن بذر گل گاوزبان دارای اثرات مهاری بر تشنجات کلونیک ناشی از پنتیلن تترازول نمی‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که اثرات این روغن در پی تجویز مزمن و طولانی مدت در مدل‌های مختلف تشنجی بررسی شود. همچنین ارزیابی اثرات SDA بعنوان جزء موثر موجود در این روغن، به تنهایی و به صورت حاد و مزمن در مدل‌های حیوانی تشنج و جوامع انسانی می‌تواند در یافتن مولکول ضد تشنجی جدید مفید باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام شده است. از همکاری بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی انستیتو پاستور ایران قدردانی می‌شود.

ملاحظات مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل به شماره طرح ۹۹۱۰/۱۶۲ انجام شده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ح.گ.: ایده، انجام مطالعه، نگارش مقاله، آنالیز آماری؛
م.س: طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه؛ ب.خ: انجام مطالعه.

فهرست منابع

- [1] Löscher W, Klitgaard H, Twyman RE, Schmidt D, New avenues for anti-epileptic drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 12 (2013) 757-776.
- [2] DeGiorgio CM, Taha AY, Omega-3 fatty acids (ω -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials. *Expert Rev Neurother* 16 (2016) 1141-1145.
- [3] Xiao YF, Kang J, Morgan J, Leaf A, Blocking effects of polyunsaturated fatty acids on Na⁺ channels of neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 92 (1995) 11000-11004.
- [4] Xiao YF, Gomez AM, Morgan JP, Lederer WJ, Leaf A, Suppression of voltage gated L-type Ca²⁺ currents by polyunsaturated fatty acids in adult and neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (1997) 4182-4187.
- [5] Xiao Y, Li X, Polyunsaturated fatty acids modify mouse hippocampal neuronal excitability during excitotoxic or convulsant stimulation. *Brain Res* 846 (1999) 112-121.
- [6] Gavzan H, Sayyah M, Sardari S, Bbapour V, Synergistic effect of docosahexaenoic acid on anticonvulsant activity of valproic acid and lamotrigine in animal seizure models. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 388 (2015) 1029-1038.
- [7] Moezifar M, Sayyah M, Zendehtel M, Gavzan H, Docosahexaenoic acid prevents resistance to antiepileptic drugs in two animal models of drug-resistant epilepsy. *Nutr Neurosci* 22 (2019) 616-624.

- [8] Voskuyl RA, Vreugdenhil M, Kang JX, Leaf A, Anticonvulsant effect of polyunsaturated fatty acids in rats, using the cortical stimulation model. *Eur J Pharmacol* 341 (1998) 145-152.
- [9] Musto AE, Walker CP, Petasis NA, Bazan NG, Hippocampal neuro-networks and dendritic spine perturbations in epileptogenesis are attenuated by neuroprotectin d1. *PLoS One* (2015) 10:e0116543.
- [10] Kuhnt K, Weiß S, Kiehnopf M, Jahreis G, Consumption of echium oil increases EPA and DPA in blood fractions more efficiently compared to linseed oil in humans. *Lipids Health Dis* 15 (2016) 1-11.
- [11] Gavzan H, A review on health benefits of echium oil; as dietary vegetable source of essential fatty acids. *Iran J Physiol Pharmacol* 2 (2017) 193-206. [in persian]
- [12] Kapoor R, Huang YS, Gamma linolenic acid: an antiinflammatory omega-6 fatty acid. *Curr Pharm Biotechnol* 7 (2006) 531-534.
- [13] Shewale SV, Boudyguina E, Zhu X, Shen L, Hutchins PM, Barkley RM, Murphy RC, Parks JS, Botanical oils enriched in n-6 and n-3 FADS2 products are equally effective in preventing atherosclerosis and fatty liver. *J Lipid Res* 56 (2015) 1191-1205.
- [14] Kavanagh K, Flynn DM, Jenkins KA, Wilson MD, Chilton FH, Stearidonic and γ -linolenic acids in echium oil improves glucose disposal in insulin resistant monkeys. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 89 (2013) 39-45.
- [15] Ekici F, Gürol G, Ateş N, Effects of linoleic acid on generalized convulsive and nonconvulsive epileptic seizures. *Turk J Med Sci* 44 (2014) 535-539.
- [16] Yehuda S, Carasso RL, Mostofsky DI, Essential fatty acid preparation (SR-3) raises the seizure threshold in

- rats. *Eur J Pharmacol* 254 (1994) 193-198.
- [17] Bialer M, White HS, Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Nat Rev Drug Discov* 9 (2010) 68-82.
- [18] Harris WS, DiRienzo MA, Sands SA, George C, Jones PG, Eapen AK, Stearidonic acid increases the red blood cell and heart eicosapentaenoic acid content in dogs. *Lipids* 42 (2007) 325-333.
- [19] James MJ, Ursin VM, Cleland LG, Metabolism of stearidonic acid in human subjects: Comparison with the metabolism of other n-3 fatty acids1-3. *Am J Clin Nutr* 77 (2003) 1140-1145.
- [20] Kuhnt K, Fuhrmann C, Köhler M, Kiehntopf M, Jahreis G, Dietary echium oil increases long-chain n-3 PUFAs, including docosapentaenoic acid, in blood fractions and alters biochemical markers for cardiovascular disease independently of age, sex, and metabolic syndrome. *J Nutr* 144 (2014) 447-460.

Research paper

Effect of acute administration of Echium seed oil on seizures induced by pentylentetrazole in mice

Hakimeh Gavzan^{1*}, Mohammad Sayyah², Bahar Khoshkroodian²

1. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

2. Department of Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 13 August 2020

Accepted: 12 September 2020

Abstract

Background and aims: Epilepsy is one of the most common neurological disorders. Side effects and resistance to antiepileptic drugs generate demands for developing new treatment. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) as the supplements are suggested to treat epilepsy with no side effects. Echium seed oil (EO) contains the perfect balance of omega-3 and 6 PUFAs. This study tested the effect of EO against clonic seizures induced by pentylentetrazole (PTZ).

Methods: Male mice were allocated in groups with 10 mice in each. The incidence of clonic seizures was examined by intraperitoneal (i.p.) injection of PTZ (60 mg/kg). Mice received EO (1 g/kg, i.p.) and after 30, 60, 90, and 180 min, latency and occurrence of clonic seizures was recorded till 30 min after i.p. injection of PTZ. The latency and occurrence of clonic seizures was also determined 60 min after injection of (EO 3 g/kg, i.p.). Then the threshold of clonic seizures was measured by intravenous (i.v.) injection of PTZ (10 mg/ml). EO (3 and 4 g/kg, i.p.) was injected to mice. After 60 min seizure threshold was measured.

Results: Among the doses used, only EO 1g/kg could significantly increase latency of clonic seizures at 60 min after injection ($p < 0.001$). EO, at the doses used, had no effect on the seizure threshold.

Conclusion: The acute injection of EO had no significant anticonvulsive effects in PTZ model of seizure.

Keywords: Polyunsaturated fatty acids, Pentylentetrazole, seizure, Echium oil

Please cite this article as follows:

Gavzan H, Sayyah M, Khoshkroodian B, Effect of acute administration of Echium seed oil on seizures induced by pentylentetrazole in mice. *Iran J Physiol Pharmacol* 3 (2019) 253-260.

*Corresponding author: h.gavzan@ausmt.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-3240-921X)