

اثر عصاره‌ی هیدروآتانولی گیاه پنیرک (*Malva silvestris L.*) بر تشنج ناشی از تزریق

وریدی پنتیلین تترازول در موش‌های سوری نر

دکتر ناصر میرازی^۱، سهیله شامحمدی^۲، عبدالکریم حسینی^۳

نویسنده‌ی مسوول: همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه زیست‌شناسی mirazi@basu.ac.ir

دریافت: ۹۳/۷/۲۸ پذیرش: ۸۴/۴/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: گیاه پنیرک که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی است. اثرات این گیاه بر روی روند تشنج هنوز مورد مطالعه قرار نگرفته است. مطالعه‌ی حاضر اثر ضد تشنجی گیاه پنیرک را مورد بررسی قرار داده است.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی تجربی اثر ضد تشنجی پنیرک با استفاده از مدل تشنج القا شده توسط تزریق درون وریدی پنتیلین تترازول (PTZ) در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. دوزهای مختلف از عصاره‌ی پنیرک (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی ۲ ساعت قبل از القای PTZ تزریق شد. اثر پنیرک بر روی ۳ نقطه‌ی پایانی آستانه‌ی تشنجی از قبیل مرحله‌ی میوکلونیک، کلونیک جنرالیزه و کشش تونیک مشاهده شد. اختلاف بین داده‌ها با $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره‌ی گیاه پنیرک دارای اثرات ضد تشنجی در تمام تیمارهای انجام شده در این آزمایش بود و آستانه‌ی تشنج را به طور معنی‌داری افزایش داد. عصاره‌ی هیدروآتانولی پنیرک به‌طور معنی‌دار زمان شروع تشنج میوکلونیک ($p < 0/001$) و کشش تونیک ($p < 0/01$) القا شده توسط PTZ در مقایسه با گروه کنترل را به تعویق انداخت. اما در به تاخیر انداختن پاسخ به مرحله کلونیک تاثیر قابل مشاهده‌ای از خود نشان نداد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که عصاره‌ی هیدروآتانولی پنیرک در به تاخیر انداختن تشنج ناشی از تزریق درون وریدی PTZ در موش کوچک آزمایشگاهی موثر است.

واژگان کلیدی: صرع، تشنج، گیاه پنیرک، پنتیلین تترازول، موش سوری

مقدمه

شایع مغزی می‌باشد (۲). طبق تعریف، صرع یک اختلال گذرای عملکرد مغزی می‌باشد، که مربوط به فعالیت غیر طبیعی، بیش از حد یا همزمان نوروها در سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد (۳). عوامل مختلفی مانند صدمه‌های

صرع یک اختلال شناخته شده از روزگاران قدیم است، قدمت این بیماری به دوران باستان بر می‌گردد (۱). بقراط اولین کسی بود که ۲۴۵۰ سال قبل معتقد بود، صرع یک بیماری با منشأ اختلال مغزی است. صرع دومین اختلال

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی جانوری، دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان

۳- دانشجوی دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی تهران

محققان و پژوهشگران قرار گرفته است (۳). گیاه پنیرک (*Malva silvestris*) از جنس *Malva* (گل خطمی) و از خانواده *Malvaceae* است. این گیاه علفی به ارتفاع ۶۰ تا ۸۰ سانتی‌متر بوده و گل‌های آن به رنگ بنفش مایل به قرمز و با صورتی ارغوانی است و گلبرگ‌ها دارای خطوطی با رنگ تیره هستند. میوه پنیرک کبیر به شکل دیسک قهوه‌ای مایل به سبز با زوایای تیز بین سطوح پشتی و جانبی است (۸). گیاه پنیرک نماد آرامش و ملایمت است و به‌طور گسترده‌ای در طب سنتی مدیترانه و اروپا مورد استفاده قرار می‌گیرد. پنیرک تقویت‌کننده سیستم ایمنی می‌باشد و به‌عنوان مکمل آبشاری در فعال‌سازی اثرات ضد التهابی و تحریک گلبول‌های سفید خون و ماکروفاژها عمل می‌کند (۹). از گیاه پنیرک در رفع تحریکات دستگاه گوارش، التهابات مجاری ادراری و دستگاه تنفسی، رفع سوختگی و میگرن استفاده می‌شود (۱۰). گیاه پنیرک غنی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و اسیدهای چرب اشباع نشده مانند آلفالینولئیک اسید است و سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX) می‌گردد و دارای خواص ضد رادیکالی نیز می‌باشد (۱۱ و ۱۲). تاکنون اثرات گیاه پنیرک بر روی التهابات بافت مغز و صرع مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین با توجه به خواص ذکر شده از گیاه پنیرک بر آن شدیم تا نقش این گیاه در به تاخیر انداختن تشنج ناشی از پنتیلن ترازول را در موش سوری مورد ارزیابی قرار دهیم.

روش بررسی

حیوانات آزمایشگاهی: این مطالعه‌ی تجربی روی ۲۴ سر موش سوری نر نژاد Balb/C با میانگین وزنی 30 ± 5 گرم خریداری شده از دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام گرفت. موش‌ها به حیوان‌خانه‌ی دانشکده‌ی علوم دانشگاه بوعلی

مغزی قبل از تولد، عفونت‌های منژیتی و به دنبال آن التهاب بافت مغز، عوامل متابولیکی، داروها و گازهای سمی منجر به ایجاد صرع می‌گردد (۴). مدل‌های آزمایشگاهی القای صرع این امکان را فراهم می‌کند تا به بررسی و تحلیل مکانیسم‌ها و عوامل مستعدکننده‌ی صرع و نیز به ارزیابی داروهای ضد تشنج و درمان آن بپردازیم. یکی از این مدل‌ها تست تزریق وریدی پنتیلن ترازول (*i.v. PTZ*) می‌باشد. PTZ با سرعت جریان ثابت از طریق ورید دمی در موش سوری یا از طریق قرار دادن کاتتر به داخل ورید اجوف در موش صحرایی موجب پاسخ تشنجی به شیوه‌ای قابل اعتماد، تجدیدپذیر و سریع می‌شود. بسته به دوز تزریق شده، PTZ می‌تواند باعث تولید حرکات میوکلونیک، تشنج کلونیک، یا باعث تونوس در اندام جلویی و عقبی شود (۳).

استفاده از داروها در درمان بیماران صرعی بر اساس طبقه‌بندی تشنجات صورت می‌گیرد. اگر چه درمان‌های استاندارد می‌تواند حملات صرع را کنترل کند، با این حال میلیون‌ها نفر در جهان صرع کنترل نشده دارند (۵). همچنین شواهدی از عوارض جانبی مربوط به شناخت در تجویز دارو در دوزهای درمانی به‌ویژه در درمان‌های ناکارآمد وجود دارد. با وجود داروهای ضد تشنج شیمیایی تحقیقات برای کشف داروهای جدید، با اثر بخشی بهتر و عوارض نامطلوب کمتر ادامه دارد (۶). از جمله داروهای مورد مصرف در کنترل صرع می‌توان به داروهای دسته باریتورات‌ها مانند فنوباریتال و کلونازپام اشاره نمود. پیشرفت‌های زیاد در عرصه‌ی علم پزشکی و داروسازی، در درمان بیماران صرعی و اختلالات تشنجی همواره از چالش‌های پیش روی پزشکان و محققان بوده است. در سراسر جهان تحقیقات زیادی در این عرصه صورت گرفته است و تا به امروز نیز ادامه دارد (۷). با توجه به مزمن بودن بیماری‌های تشنجی و مصرف طولانی مدت داروهای ضد تشنج و همچنین عوارض فراوان این داروها، استفاده از گیاهان دارویی جهت کنترل حملات تشنجی مورد توجه

گردید. عصاره‌ی تهیه شده در لوله فالكون‌های استریل دردار تا هنگام انجام آزمایش نگهداری گردیدند.

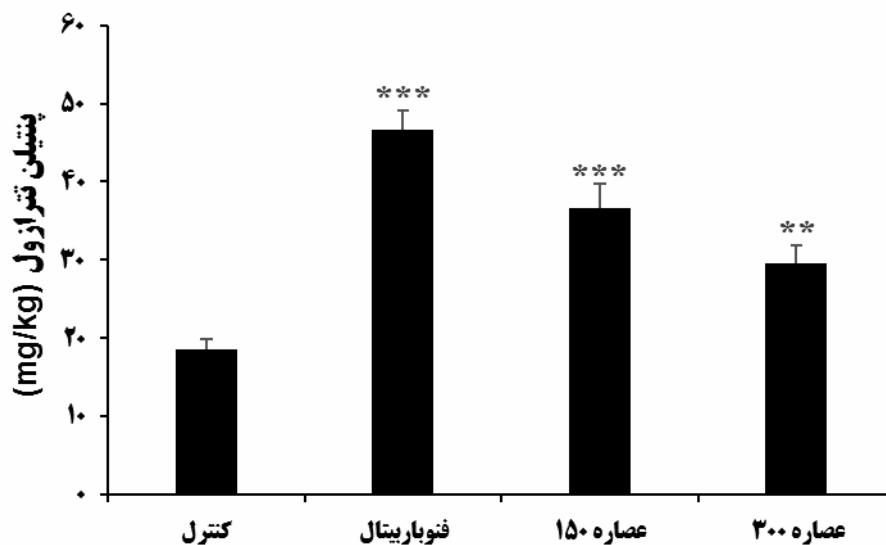
روش ایجاد تشنج: در این مطالعه جهت ایجاد تشنج و مشاهده‌ی مراحل مختلف از مطالعات قبلی استفاده شد (۱۴). به منظور القای تشنج از روش تزریق داخل وریدی داروی پنتیلین تترازول (PTZ) خریداری شده از شرکت سیگما استفاده گردید. PTZ به صورت محلول ۱ درصد وزنی -حجمی در نرمال سالین تهیه شد. جهت ایجاد تشنج ابتدا موش‌ها در داخل مقید کننده مخصوص موش سوری قرار داده شد. سپس یک لوله پلی‌اتیلن آنژیوکت بسیار باریک که از یک سو به سرنگ انسولین و از سوی دیگر به سر سوزن شماره‌ی ۳۰ دندانپزشکی (DENTSPLY MPL Technologies, England) متصل بود آماده گردید. یک سر سوزن دندانپزشکی را با دقت و ظرافت به داخل یکی از وریدهای کناری دم موش‌ها وارد کرده و با پس زدن خون به داخل آن از صحت قرار گرفتن آن در داخل ورید اطمینان حاصل نمودیم. پس از این عمل سر سوزن را با چسب کاغذی با دم موش محکم و ثابت نمودیم. سپس تزریق داخل ورید محلول ۱ درصد PTZ با سرعت ثابت یک میلی‌لیتر در دقیقه توسط پمپ سرنگ (GMS Syringe Pump, Singapore) انجام گردید. انفوزیون تا زمان بروز مراحل تشنجات ادامه پیدا کرد. در این بررسی میزان تزریق PTZ را بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم {آستانه دوز PTZ (بر حسب میلی‌گرم/کیلوگرم)} = زمان انفوزیون (بر حسب ثانیه) × سرعت انفوزیون (بر حسب میلی‌لیتر/ثانیه) × غلظت PTZ (بر حسب میلی‌گرم/میلی‌لیتر) × ۱۰۰۰ / وزن بدن موش‌ها (بر حسب کیلوگرم) محاسبه کرده و در مراحل مختلف آستانه تشنج هر یک از مراحل ایجاد شده (تشنج میوکلونیک، تشنج کلونیک جنرالیزه و کشش تونیک) در حیوان اندازه‌گیری و ارایه گردید.

سینای همدان منتقل و در درجه حرارت کنترل شده 22 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و سیکل روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و به طور تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی شامل: (۱) گروه کنترل دریافت کننده‌ی نرمال سالین، (۲) گروه کنترل مثبت دریافت کننده‌ی داروی فنوباریتال با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱۳) (خریداری شده از شرکت کیمیدارو)، (۳ و ۴) گروه آزمایشی دریافت کننده‌ی عصاره‌ی پنیرک با دوز ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند. در این پژوهش تمام تزریقات به صورت درون صفاقی انجام شدند. حیوانات دسترسی آزاد به آب سالم و غذای پلت شده مخصوص موش داشتند. در این مطالعه کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

جمع‌آوری، آماده‌سازی و عصاره‌گیری: گیاه پنیرک در اواسط خرداد ماه از ناحیه‌ی حیدره شهر همدان جمع‌آوری و توسط متخصص گیاه شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان شناسایی و تایید شد. ۵۰ گرم از پودر حاصل از گیاه پنیرک در بشر ریخته شد و به نسبت ۱ به ۸ اتانول ۸۵ درصد اضافه گردید و به مدت دو هفته در مکان تاریک و بدون نور قرار داده شد. بعد از سپری شدن دو هفته محتویات ظرف به وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای صاف گردید، سپس محلول درون بالن ریخته شده و در دستگاه روتاری (Heidolph آلمان، LABOROTA 4001 Efficient) در دمای ۴۵ درجه‌ی سانتی‌گراد با دور متوسط قرار گرفت. پس از خروج حلال، مایع غلیظ روی پلیت شیشه‌ای پهن گردید و زیر هود قرار داده شد. بعد از گذشت ۲ روز عصاره‌ی خشک گیاه پنیرک آماده گردید. عصاره‌ی جامد و خشک که بعد از تبخیر محتوای الکلی آن باقی مانده بود، به نسبت وزنی با میزان مناسبی از آب مقطر دوباره تقطیر شده و مخلوط گردید. سپس عصاره به وسیله‌ی میکرو فیلتر دو بار فیلتر شد تا عصاره عاری از باکتری‌ها و ناخالصی‌های باقی مانده شود. غلظت مینا ۲۰ درصد انتخاب

یافته‌ها

بررسی گروه‌های مورد آزمون نشان می‌دهد که تجویز عصاره‌ی پنیرک در دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ با اثر روی آستانه‌ی تشنج میوکلونیک باعث افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شده است ($p < 0/01$ و $p < 0/001$). همچنین در گروه دریافت‌کننده‌ی فنوباریتال نیز اختلاف معنی‌داری در افزایش آستانه‌ی تشنج میوکلونیک نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0/001$). اما گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره در دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری از نظر افزایش آستانه‌ی تشنج با گروه دریافت‌کننده‌ی فنوباریتال از خود نشان ندادند (نمودار ۱).



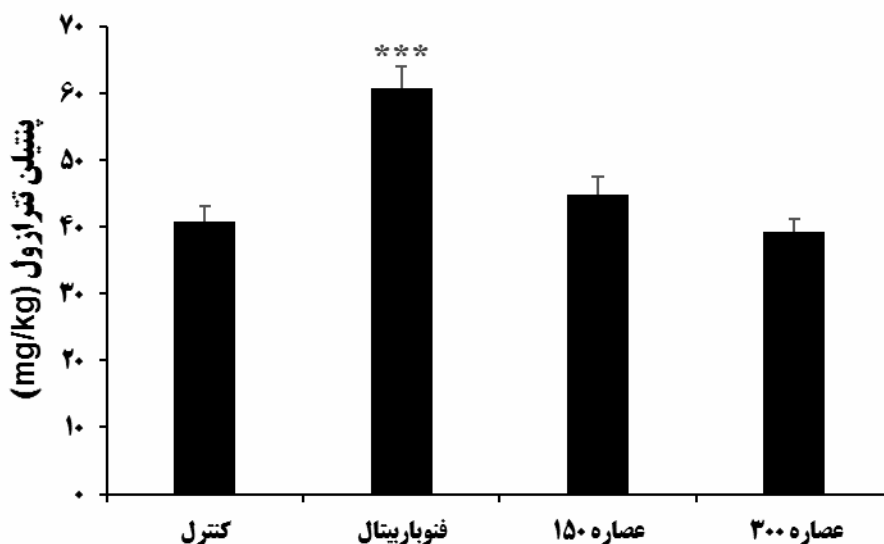
نمودار ۱. مقایسه‌ی میزان تزریق پتیلین تترازول (PTZ) در مرحله تشنج میوکلونیک در گروه‌های مورد مطالعه، کنترل دریافت‌کننده‌ی نرمال سالیین، دریافت‌کننده‌ی داروی فنوباریتال (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گیاه پنیرک (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در موش‌های سوری نر. مقادیر بیانگر میانگین \pm خطای معیار مربوط به $n=6$ موش سوری نر نژاد Balb/c است. * بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل ($p < 0/01$); ** $p < 0/001$).

اما در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره با دوز ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در افزایش آستانه‌ی تشنج کلونیک جنرالیزه نسبت

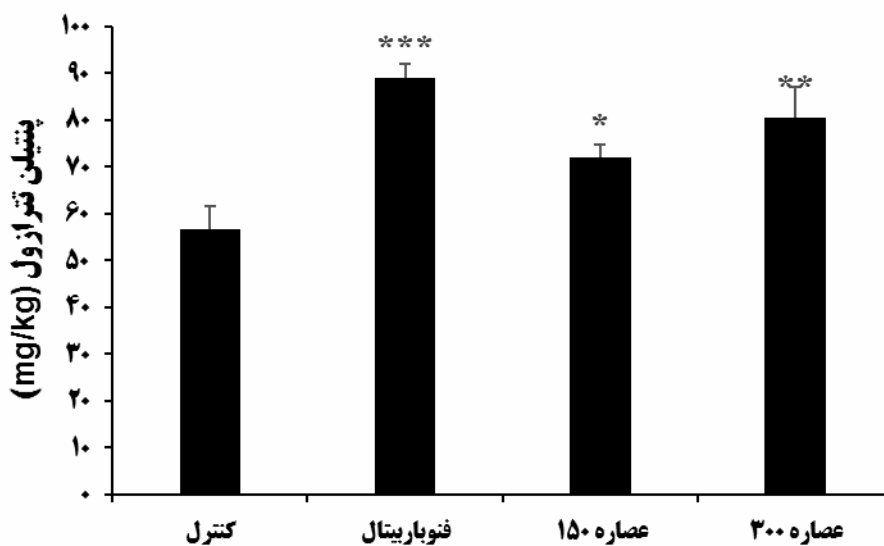
روش‌های آماری: بررسی آماری یافته‌های این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ انجام پذیرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها در دو بخش آمار توصیفی و استنباطی انجام شد. در بخش آمار توصیفی گرایش‌های تمرکز و پراکندگی به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد ارایه گردید. در بخش آمار استنباطی ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف از نرمال بودن داده‌ها اطمینان حاصل گردید، متعاقباً جهت بررسی فرضیات پژوهشی از تحلیل واریانس یک طرفه بین‌آزمودنی و تست تعقیبی توکی استفاده شد. اختلاف داده‌ها با $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

در این مرحله گروه دریافت‌کننده‌ی فنوباریتال بر روی آستانه‌ی تشنج کلونیک جنرالیزه اثر مثبت گذاشته و باعث افزایش آستانه‌ی تشنج نسبت به گروه کنترل شده است

به گروه کنترل و همچنین با گروه فنوباریتال از خود نشان ندادند (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه‌ی میزان تزریق پنتیلین تترازول (PTZ) در مرحله تشنج کلونیک جنرالیزه در گروه‌های مورد مطالعه، کنترل دریافت کننده‌ی نرمال سالین، دریافت کننده‌ی داروی فنوباریتال (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دریافت کننده‌ی عصاره گیاه پنیرک (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در موش‌های سوری نر. مقادیر بیانگر میانگین \pm خطای معیار مربوط به $(n=6)$ موش سوری نر نژاد Balb/c است. * بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل ($p < 0.01$)، *** $p < 0.001$.



نمودار ۳. مقایسه‌ی میزان تزریق پنتیلین تترازول (PTZ) در مرحله تشنج کشش تونیک در گروه‌های مورد مطالعه، کنترل دریافت کننده‌ی نرمال سالین، دریافت کننده‌ی داروی فنوباریتال (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دریافت کننده‌ی عصاره گیاه پنیرک (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۲ ساعت قبل از تزریق PTZ در موش‌های سوری نر. مقادیر بیانگر میانگین \pm خطای معیار مربوط به $(n=6)$ موش سوری نر نژاد Balb/c است. * بیانگر معناداری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل ($p < 0.05$)، ** $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$.

(۱۶). از جمله مکانیسم‌های دیگر که در ساخت داروهای ضد صرع برای کاهش تحریک پذیری نورون‌ها به کار گرفته شده‌اند، تقویت خروج پتاسیم و تقویت ورود کلر (تسهیل عمل کانال‌های کلر از جمله رسپتورهای گابا به درون آکسون‌ها) می‌باشد. گیرنده‌ی گابا گیرنده‌ی مهاری اصلی مغز است. به دو صورت $GABA_A$ و $GABA_B$ وجود دارد. $GABA_A$ پس سیناپسی است و در واقع یک کانال کلر است و اتصال گابا آن را باز کرده و موجب ورود کلر به سلول می‌شود. $GABA_B$ پیش سیناپسی بوده و یک کانال پتاسیم است و اتصال گابا آن را باز کرده و موجب خروج پتاسیم از سلول می‌شود. هم ورود کلر به سلول و هم خروج پتاسیم از آن تحریک پذیری سلول را کم می‌کنند پس هر دو رسپتور $GABA_A$ و $GABA_B$ مهاری هستند (۱۷). همچنین گزارشاتی مبنی بر تاثیر فلاونوئیدها بر گیرنده‌های بنزودیازپین وجود دارد (۱۸). بنابراین آن چه مسلم است آگونیست‌های گابا تشنج را به تعویق می‌اندازند و آنتاگونیست‌های گابا، باعث ایجاد تشنج می‌شوند. بنابراین بنزودیازپین‌ها با اثر بر روی گیرنده‌های گابا، اثرات ضد تشنجی خوبی را از خود نشان می‌دهند. همچنین موجب تاخیر در پیشرفت تشنج می‌شوند (۱۹). بنابراین احتمال این که عصاره از طریق فلاونوئیدهای این گیاه با تاثیر بر گیرنده‌های بنزودیازپینی متصل به گیرنده‌های $GABA_A$ باعث بروز اثر ضد تشنجی شود، تقویت می‌گردد. فلاونوئیدها دارای اثرات ضد دردی و ضد التهابی نیز می‌باشند. از طرفی التهاب یک فرآیند بیولوژیک مهم است که می‌تواند در پیشرفت صرع نقش بسزایی داشته باشد (۲۰). به طوری که ضایعات مغزی مرتبط با التهاب در انسان، به وقایع زود هنگامی از صرع منجر می‌شود (۲۱ و ۲۲). همچنین بر اساس مطالعات موجود به دنبال ایجاد صرع، اینترکولین یک بتا ($IL-1\beta$) و سیکلواکسیژناز دو ($COX-2$) در مغز افزایش می‌یابد و پاتوفیزیولوژی صرع نیز به دنبال ایجاد مرگ نورونی

عصاره‌ی پنیرک در دوزهای ۱۵۰ و همچنین ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مرحله‌ی تشنج کشش تونیک با اثر بر روی آستانه‌ی تشنج باعث افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل می‌شود ($p < 0.05$ و $p < 0.01$ ، به ترتیب). اما در این مرحله گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره با دوز ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در افزایش آستانه‌ی تشنج کشش تونیک نسبت به گروه فنوباریتال از خود نشان ندادند (نمودار ۳).

بحث

در این پژوهش اثر ضد تشنجی گیاه پنیرک در تست تزریق درون وریدی القا شده توسط داروی پنتیلن ترازول برای ایجاد تشنج استفاده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی گیاه پنیرک در دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثر بر روی آستانه‌ی تشنج باعث افزایش معنی‌داری در مراحل مختلف تشنج ایجاد شده توسط تزریق با سرعت ثابت درون وریدی PTZ نسبت به گروه کنترل شد. نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر موافق با گزارشات ارایه شده توسط سعیدی و همکاران (۱۵) که اثرات ضد تشنجی گیاه گلپر را در تشنج ناشی از تزریق PTZ بر روی موش سوری بررسی کرده‌اند، می‌باشد. تست تشنج القا شده توسط PTZ یکی از مدل‌های بسیار شایع در ایجاد تشنج است اما با این حال مکانیسم‌هایی که توسط آن PTZ باعث تشنج می‌شود به طور کامل شناخته شده نیست. اما به طور گسترده پذیرفته شده است که PTZ سبب فعالیت مهار کننده مونو آمینو ترانسپورتر (MAT) شده و سبب افزایش بلوک گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) و نیز کاهش عملکرد گیرنده‌های گابا می‌شود. این تغییرات صورت گرفته سبب اختلال در عملکرد کانال‌های پتاسیمی و اختلال در عملکرد سلول می‌شود. در نتیجه تغییراتی در سلول رخ می‌دهد، که سبب بروز تشنج و صرع القایی می‌گردد

پذیری نورون‌ها را کاهش داده و منجر به تضعیف تشنجات صرعی می‌شود (۲۵). در نتیجه اثر ضد صرعی عصاره‌ی پنیرک را می‌توان به مولکول‌های بیولوژیک موجود در گیاه نسبت داد.

نتیجه گیری

در نهایت می‌توان اذعان داشت گیاه پنیرک دارای اثرات ضد تشنجی در آزمون تزریق درون وریدی PTZ در موش سوری می‌باشد. برای تعیین مکانیسم احتمالی اثر گیاه پنیرک پیشنهاد می‌شود که هر یک از مواد موثره‌ی گیاه جدا شوند و تحقیق اختصاصی بر روی هر یک از این مواد و با استفاده از سایر مواد تشنج زا و مدل‌های حیوانی دیگر صورت پذیرد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند که از زحمات جناب آقای دکتر رمضان کلوندی عضو محترم هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان به جهت شناسایی علمی گیاه پنیرک و همچنین جناب آقای علی گمار کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری گروه زیست شناسی که صمیمانه ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند تشکر و قدردانی نمایند.

References

- 1- Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005; 46: 470-2.
- 2- Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The

و فعال شدن آستروسیت‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۲۳ و ۲۲). عصاره‌ی پنیرک به علت داشتن فلاونوئیدها ممکن است سبب مهار آنزیم‌های سیکلوآکسیژناز دو شود. سیکلوآکسیژناز آنزیم کلیدی در ایجاد التهاب و همچنین آنزیم اصلی در ساخت اسید آراشیدونیک نقطه شروع واکنش‌های التهابی است. مهار آنزیم سیکلوآکسیژناز سبب مهار تولید آراشیدونیک اسید می‌شود و در نهایت از بروز التهاب جلوگیری می‌کند. بنابراین احتمالاً داشتن خواص ضد التهابی، و آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها می‌تواند در به تعویق انداختن صرع موثر باشد. در بررسی‌های فیتوشیمیایی، پنیرک دارای ویتامین‌های C, E, بتاکاروتن و هیدروکسی فلاونوئید می‌باشد (۱۲). از آن جا که یکی از دلایل ایجاد صرع ایجاد التهاب در نواحی در گیر در مغز می‌باشد و از طرفی اثرات ضد التهابی مولکول‌های بیولوژیک موجود در گیاه پنیرک مانند ویتامین C به علت خواص ضد اکسیدانی که دارد احتمالاً موجب جلوگیری از رخداد صرع در نظر گرفته شود (۲۴). ویتامین E به عنوان یکی از ترکیبات شناخته شده در پنیرک می‌باشد. ویتامین E در غشاهای بیولوژیک باعث تمایل به حفظ پتانسیل غشا و تثبیت غشاهای سلولی می‌شود (۲۵). از طرف دیگر هر عاملی که باعث اختلاف پتانسیل بین داخل و خارج غشای نورون گردد می‌تواند باعث ایجاد صرع شود، بنابراین هر عاملی که بتواند تا حدودی باعث تثبیت غشای سلول شود، اثر تحریک

role of inflammation in epilepsy. *Nat Rev Neurol*. 2011; 7: 31-40.

- 3- Hosseini A, Mirazi N. Acute administration of ginger (*Zingiber officinale* rhizomes) extract on timed intravenous pentylenetetrazol infusion seizure model in mice. *Epilepsy Res*. 2014; 108: 411-19.
- 4- McAuley JW, Lott RS. Seizure disorders. In:

- Koda- Kimble MA, Young LY, Kradjan WA, et al. editors. Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs. 9th ed. Vol. 54. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. 154-38.
- 5- Engel J Jr. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2001; 42: 796-803.
- 6- Faingold CL. Emergent properties of CNS neuronal networks as targets for pharmacology: application to anticonvulsant drug action. *Prog Neurobiol*. 2004; 72: 55-85.
- 7- Roger JP, Brain SM. Anticonvulsant drugs, In: Katzung BG, Basic and Clinical pharmacology USA, 2001; 8: 320-48.
- 8- Yeole NB, Sandhya P, Chaudhari PS, Bhujbal PS. Evaluation of *Malva sylvestris* and *Pedaliium murex* mucilage as suspending agent. *Int J PharmTech Res*. 2010; 2: 385-9.
- 9- Gonda R, Tomoda M, Shimizu N, Yamada H. Structure and anticomplementary activity of an acidic polysaccharide from the leaves of *Malva sylvestris* var. *auritiana*. *Carbohydr Res*. 1990; 198: 323-29.
- 10- Gasparetto JC, Martins CA, Hayashi SS, Otuky MF, Pontarolo R. Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L, a millennial herbal medicine. *J Pharm Pharmacol*. 2012; 64: 172-89.
- 11- Barros L, Carvalho AM, Ferreira IC. Leaves flowers immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food Chem Toxicol*. 2010; 48: 1466-72.
- 12- Marouane W, Soussi A, Murat JC, Bezzine S, El Feki A. The protective effect of *Malva sylvestris* on rat kidney damaged by vanadium. *Lipids Health Dis*. 2011; 10: 65.
- 13- Markowitz GJ, Kadam SD, Smith DR, Johnston MV, Comi AM. Different effects of high- and low-dose phenobarbital on post-stroke seizure suppression and recovery in immature CD1 mice. *Epilepsy Res*. 2011; 94: 138-48.
- 14- Mandhane SN, Aavula K, Rajamannar T. Timed pentylenetetrazol infusion test: a comparative analysis with s.c.PTZ and MES models of anticonvulsant screening in mice. *Seizure*. 2007; 16: 636-44.
- 15- Saeidi S, Azhdari Zarmehri H, Erami E, Alimohammadi B. The effect of hydroalcoholic extract of *Heracleum Persicum* on pentylenetetrazol _induced seizure in mice. *J Zanzan Unive Med Sci*. 2013; 21: 45-55.
- 16- Gasior M, Kamiński R, Brudniak T, Kleinrok Z, Czuczwar SJ. Influence of nifedipine, nimodipine and flunarizine on the anticonvulsant efficacy of antiepileptics against pentylenetetrazol in mice. *J Neural Transm*. 1996; 103: 819-31.
- 17- Dalby NO. GABA-level increasing and anticonvulsant effects of three different GABA uptake inhibitors. *Neuropharmacology*. 2000; 39: 2399-2407.
- 18- Salah SM, Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J Ethnopharmacol*. 2005; 97: 145-9.
- 19- Wyllie E, Cascino GD, Gidal BE. Wyllie's

treatment of epilepsy: Principles and Practice. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 5th ed, 33-42. 2010.

20- Holtman L, Vliet EA, Schaik R, Queiroz CM, Aronicaand E, Gorter JA. Effects of SC58236, a selective COX-2 inhibitor, on epileptogenesis and spontaneous seizures in a rat model for temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 2009; 84: 56-66.

21- Balosso S, Maroso M, Sanchez-Alavez M, et al. A novel nontranscriptional pathway mediates the proconvulsive effects of interleukin-1 β . *Brain.* 2008; 131: 3256-65.

22- Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK. Effect of cyclooxygenase inhibitors on pentylenetetrazol (PTZ)-induced convulsions: Possible mechanism

of action. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry.* 2006; 30: 1478-85.

23- Avoli M, Louvel J, Pumain R, Köhling R. Cellular and molecular mechanism of epilepsy in human brain. *Prog Neurobiol.* 2005; 77: 166-200.

24- Locato V, de Pinto MC, Gadaleta C, De Gara L. Ascorbate metabolism as critical point for the activation of programmed cell death in plants. *Free Rad Res.* 2009; 43: 77-87.

25- Caretto S, Nisi R, Paradiso A, DeGara L. Tocopherol production in plant cell cultures. *Mol Nutr Food Res.* 2010; 54: 726-30.

Effects of *Malva Silvestris* Hydroethanolic Extract on Seizure Induced by Intravenous Injection of Pentylenetetrazole in Male Mice

Mirazi N¹, Shamohammadi S², Hosseini A³

¹Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

²Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran.

³Dept. of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Corresponding Author: Mirazi N, Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

E-mail: mirazi@basu.ac.ir

Received: 20 Oct 2014 **Accepted:** 12 Jul 2015

Background and Objective: *Malva silvestris* (Malvaceae), which is used in traditional medicine has antioxidant and anti-inflammatory activity. The effects of this plant on clonic seizure have not yet been studied. The present study evaluated the anticonvulsant effect of *M. silvestris* in a model of clonic seizures induced with pentylenetetrazole (PTZ) on male mice.

Materials and Methods: In this experimental study the anticonvulsant effect of *M. silvestris* was investigated using *i.v* PTZ-induced seizure models on mice. Different doses of the hydroethanolic extract of *M. silvestris* (150 and 300 mg/kg) were administered intraperitoneally 2 hours before the induction of PTZ. The effect of *M. silvestris* on the appearance of three separate seizure endpoints including myoclonic, generalized clonus and forelimb tonic extension phase was recorded. Differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results: The results showed that the *M. silvestris* extract had anticonvulsant effects on all the experimental treatment groups and significantly increased the seizure threshold. Hydroethanolic extract of *M. silvestris* significantly increased the onset time of myoclonic seizure ($p < 0.001$) and increased the threshold for the forelimb tonic extension seizure ($p < 0.01$) compared with the control group. But it did not show any significant effect on generalized clonic phase response.

Conclusion: The results of the present study imply that injection of hydroethanolic extracts of *M. silvestris* led to anticonvulsant activity in *i.v*. PTZ-induced seizure in male mice.

Keywords: *Epilepsy, Seizure, Malva silvestris, Pentylenetetrazole, Mice*