مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۴، فروردین ۱۳۹۵، صفحه ۱۳-۷

اثر ضد صرعی عصاره آبی شاهدانه بر کیندلینگ ناشی از پنتلین تترازول در موشهای سوری نر

سیمین نامورآغداش (PhD)*[۱]، رویا میرزایی (MSc)[۱]، فرشته پورعبدالحسین (PhD)[۲]

۱-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
۲-مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۴/۹/۵، اصلاح: ۹۴/۱۰/۱۶، پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۲

خلاصه

سابقه و هدف: صرع یکی از شایع ترین اختلات نورولولوژیکی می باشد که تعداد زیادی از بیماران از صرع مقاوم به دارو رنج می برند بعلت وجود ترکیبات ضد تشنجی موجود در شاهدانه و مصرف آن در طب سنتی هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره آبی گیاه شاهدانه در درمان تشنج می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش سوری نر انتخاب و به ۵ گروه، شامل گروه های کنترل، شم و ۳ گروه آزمایش تقسیم شدند. گروه کنترل فقط داروی پنتیلن تترازول (PTZ) دریافت کرد. گروه شم آب مقطر و گروه‌های آزمایش دوزهای ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی شاهدانه را با لوله گاواژ به مدت ۴ هفته دریافت کردند. ۳۰ دقیقه بعد، پنتیلن‌تترازول (۴۵ mg/kg به صورت داخل صفاقی) به گروه های آزمایش و شم تزریق شد. در نهایت رفتارهای تشنجی و پارامتر های مربوطه بوسیله دوربین به مدت ۲۵ دقیقه در قفس ویژه ای ضبط شد و پارامترهای مختلف تشنج ارزیابی شد.

یافته‌ها: درمان با عصاره آبی شاهدانه تاخیر زمانی شروع تشنج را در دوز ۸۰۰ (ثانیه۲۳۳/۸۷±۳۳/۷۶) نسبت به کنترل (ثانیه ۱۰۳/۸۴±۷/۵۰) افزایش داد ($p<۰/۰۵$) و پیشرفت فاز های تشنج را در آخرین تحریک در هر ۳ دوز به میزان یکسانی (۱/۹۱±۰/۵) نسبت به کنترل (۰±۵) مهار کرد ($p<۰/۰۰$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد دوز ۸۰۰ mg/kg وزن بدن، عصاره شاهدانه بیشترین اثر ضد تشنجی را بر تشنج های القایی با پنتلین تترازول دارد. بنابراین تاثیر ضدتشنجی عصاره آبی شاهدانه وابسته به روز می باشد.

واژه‌های کلیدی: تشنج، صرع، پنتیلن‌تترازول، شاهدانه.

مقدمه

صرع (Epilepsy) یکی از شایعترین بیماری های مغزی است که حداقل ۵۰ میلیون نفر از افراد دنیا به آن مبتلا هستند. صرع اختلال مزمن و پیشرونده ای است که با تشنج های غیرقابل پیش بینی و دوره ای مشخص می شود و بوسیله تخلیه های غیرطبیعی نورون های مغزی ایجاد می شود(۱). تخلیه غیرطبیعی در نتیجه بهم خوردن تعادل تحریک و مهار در مغز بوجود می آید (۲). روشهای مختلفی برای مطالعه صرع وجود دارد که یکی از متداولترین روش‌ها کیندلینگ می باشد. کیندلینگ مدل عملکردی صرع می باشد که امکان مطالعه رفتاری، نوروفیزیولوژیکی و نوروشیمیایی مغز را فراهم می‌کند، بدون آنکه آسیب مورفولوژیکی شدیدی در مغز بوجود آید. کیندلینگ با اعمال تحریکات الکتریکی زیر آستانه و یا مقادیر زیر آستانه مواد شیمیایی تشنج زا بوجود می آید که با گذشت زمان بر شدت آن افزوده می شود و در نهایت به تشنج عمومی تبدیل می‌شود (۳). کیندلینگ به دو روش الکتریکی و شیمیایی ایجاد می شود. فراوانترین ماده ای که برای ایجاد کیندلینگ استفاده می شود پنتیلن تترازول (PTZ=Pentylenetetrazole) می باشد (۴و۳). پنتیلن تترازول از سد خونی و مغزی عبورمیکندوآنتاگونیست گیرنده های گابا ($GABA_A$) می باشد و با مهار کانال های کلری سبب تحریک مغز می‌شود (۵). داروهای رایج و متداول مورد استفاده در درمان صرع اثرات ناخواسته متعددی دارند. از اینرو تحقیق و دستیابی به داروهای جدید با عوارض جانبی کمتر با توجه به طولانی بودن مدت درمان صرع یک نیاز مبرم می‌باشد (۶). علاوه بر آن امروز علی رغم استفاده از داروهای متنوع هنوز بسیاری از بیماران از صرع مقاوم به دارو رنج می برند. همچنین بیماران به علت استفاده مداوم و طولانی مدت داروهای ضد صرع دچار عوارض ناخواسته و جانبی داروها می‌شوند (۷و۸). به همین دلیل امروزه استفاده از گیاهان دارویی توجه زیادی را بخود جلب کرده است. طبیعت منبع غنی از گیاهانی است که در درمان بیماریهای مختلف در طب سنتی از آنها استفاده می شود. اثربخشی گیاهان متعددی در درمان صرع توسط محققین به اثبات رسیده است (۱۱-۹). مطالعات نقش گیاه آنغوزه را بر شدت، مراحل و مدت تشنج نشان دادند (۱۲). همچنین نقش عصاره بهار نارنج در تکثیر سلول های بنیادی عصبی و نقش حفاظت نورونی عصاره آکلیلیا میلیفوم نیز گزارش شده است(۱۴و۱۳). بررسی ها نشان داده که مریم گلی می تواند تشنج های ناشی از پنتیلن تترازول را مهار کند(۱۵). همچنین اثرات ضد تشنجی گیاهان تناسیتوم، رازک، بادرنجبویه و تاتوره بر تشنجهای ناشی از پنتیلن تترازول نشان داده شده است(۱۹-۱۶). بنابراین با توجه به نقش موثر گیاهان مختلف بر مدل های آزمایشگاهی تشنج و همچنین

▣ این مقاله حاصل پایان نامه رویا میرزایی دانشجو کارشناسی ارشد رشته بیولوژی مولکولی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر سیمین نامور آغداش
آدرس: تبریز، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۴۱-۳۴۳۲۷۵۰۰
E-mail: Siminnamvar2@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.4.1.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.4.7]

نقش حفاظت نورونی آنها، برای دستیابی به روش های درمانی موثرتر و کم عوارض‌تر باید در این زمینه مطالعات گسترده تری انجام شود. یکی از گیاهانی که در طب سنتی از آن استفاده می شد، شاهدانه است. شاهدانه با نام علمی Cannabis sativa و با نام انگلیسی Marijuana, Indian hemp گیاهی ۲ پایه، علفی یکساله و به ارتفاع ۱ تا ۴ متر است. شاهدانه برگهائی متقابل در طول ساقه دارد ولی هر چه به انتهای ساقه نزدیک می شویم برگهای آن وضع منفرد پیدا می کنند. گلهای آن در حالت طبیعی بر دو نوع نر و ماده، واقع بر روی دو پایه جداگانه اند. گلهای ماده و برگ های اطراف گل، رزین پایه ماده و دانه های این گیاه استفاده دارویی دارند. ترکیبات شیمیایی آن کولین، ترگونلین، اسیدها، کانابینوئیدها نظیر: کانابینول و کانابیدیول می باشد. اما اثر توهم زایی موجود در این گیاه فقط به ماده تترا هیدروکانابینول (THC=TetrahydrocanNabidol) نسبت داده شده است. ماری جوانا حاوی حدود ۱٪ و حشیش حاوی ۵٪ از ماده اخیر می باشد. علاوه براین فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها نیز در این گیاه وجود دارند. از شاهدانه بصورت سنتی در درمان روماتیسم و آسم، بیماریهای التهابی مانند بیماریهای پوستی و بیماریهای قلبی و عروقی استفاده می شود. این گیاه دارای خواص آرامبخش، مسکن، خواب آور می باشد با در نظر گرفتن خواص آرام بخشی این گیاه و همچنین با توجه به اینکه اثرات ضد تشنجی ترکیبات حاوی کولین، آلکالوئیدها، فلاونووئید ها نشان داده شده است (۲۰). هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد تشنجی عصاره گیاه شاهدانه در مدل کیندلینگ شیمیایی می باشد

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه تجربی و آزمایشگاهی از ۴۰ سر موش سوری نر بالغ با وزنی حدود ۳۱-۲۵ گرم که از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز خریداری شده بودند، استفاده گردید. برای اینکه موش های مورد مطالعه با شرایط جدید اتاق حیوانات سازگاری پیدا کنند پنج روز پس از استقرار، کارهای آزمایشگاهی بر روی آنها انجام نشد. موش ها در اتاقی با دمای تقریبا ۲۲ درجه، رطوبت ۴۰ درصد و در دوره ۱۲ ساعت روشنایی-تاریکی نگه داری شدند. آب و غذای کافی به استثنای زمان آزمایش به راحتی در دسترس آنها قرار داشت. در تمام مراحل انجام کار، اصول اخلاقی مصوب IASP رعایت شده است (۲۱). حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه ۸ تایی شامل یک گروه کنترل، یک گروه شم و سه گروه درمان تقسیم بندی شدند.

عصاره گیری: پس از تهیه گیاه شاهدانه ازفروشگاه های محلی و تائید آن توسط اساتید گروه فیتوشیمی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، ناخالصی های دانه‌های شاهدانه جداسازی شدند و سپس به منظور بالا بردن بازده استخراج عصاره، دانه های خشک شده گیاه به وسیله دستگاه آسیاب کن برقی پودر شد. مقدار ۵۰۰ گرم از پودر در۵ لیتر آب مقطر استریل به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. سپس به مدت ۴ ساعت بر روی دستگاه Hot Plate magnetic Stirrer (هیتر استایر: سهند آذر-ایران) حرارت داده شده و هم خورد. محلول بدست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد و بعد به وسیله دستگاه Rotary Evaporator (روتاری: Heidolph- آلمان) متصل به پمپ به روش تقطیر در خلا چرخان در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شد و در نهایت برای حذف کامل آب در دستگاهFreez Drying (خشک کننده با دمای پایین: christ-آلمان) به مدت ۳ روز قرار گرفت تا خشک شود. وزن عصاره خشک حاصل از گیاه ۲۰ گرم بود. ۶۰۰۰ میلی گرم از پودر عصاره آبی گیاه شاهدانه در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل گردید تا ۲۰۰ میلی لیتر محلول استوک تهیه شود. هر میلی لیتر از محلول استوک حاوی ۳۰ میلی گرم از پودر عصاره آن گیاه بود (۲۲).

ارزیابی اثر عصاره بر روی تشنج القا شده با پنتیلن تترازول: به گروه‌های درمان و شم به ترتیب ۳۰ دقیقه بعد از گاواژ دوزهای ۴۰۰،۶۰۰،۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (با حجم های ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی لیتر) عصاره آبی شاهدانه و آب مقطر استریل، پنتیلن تترازول (PTZ) با دوز ۴۵ میلی گرم بر کیلوگرم برای القای تشنج تزریق شد. گروه کنترل فقط داروی پنتیلن تترازول دریافت می کرد. این محلول دارویی به روش تزریق داخل صفاقی به وسیله سرنگ های انسولین به موش ها تجویز شد. این نوع تزریق معمول ترین و مهم ترین روش تجویز داروها در جوندگان می باشد. پس از حل کردن ۴۵ میلی گرم بر کیلوگرم از داروی پنتیلن تترازول در حلال نرمال سالین ایزوتونیک، به ازای هر ۱۰ گرم وزن موش حداکثر ۰/۱ سی سی از این محلول دارویی آماده شده به هر موش طی ۱۲ نوبت و هر ۴۸ ساعت یک بار تزریق شد. بعد از تجویز داروی پنتیلن تترازول، رفتارهای حیوان برای مدت ۲۵ دقیقه زیر نظر گرفته شد و پاسخهای تشنجی حیوان (مراحل حمله) به شکل زیر طبقه بندی گردید(۲۳): مرحله صفر: هیچ نشانه رفتاری دیده نشد، مرحله اول: انقباض کلونیک عضلات گوش ها، صورت و راست شدن دم، مرحله دوم: حرکات تشنجی سرحیوان به بالا و پایین و حرکات ریتمیک دست ها، مرحله سوم: انقباض میوکلونیک بدن، مرحله چهارم: تشنجات کلونیک عمومی و چرخیدن روی پهلو، مرحله پنجم: تشنجات عمومی با بسط تونیک و حالت تشنجی و مرحله ششم: مرگ و میر

تجزیه و تحلیل آماری: مقایسه آماری بین گروه های آزمایشی با نرم افزار SPSS با استفاده از ANOVA one way (آنالیز واریانس یک طرفه) و مقایسه بین تک تک گروه های آزمایشی با استفاده از آزمون تعقیبی Tukey t انجام شد و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

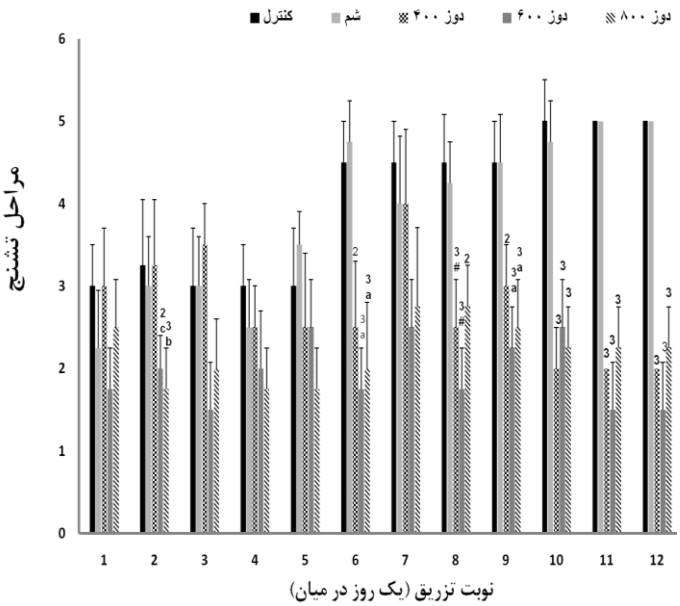
یافته ها

اثر دوزهای مختلف شاهدانه بر پیشرفت مراحل تشنج: اثرات مهاری شاهدانه بر مراحل تشنج در روزهای آخر تیمار بیشتر از روزهای اول می باشد. مکانیسم های دخیل در ایجاد اثرات مهاری با گذشت زمان تقویت می شود. مراحل تشنج در آخرین روز تحریک در دوز۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ (۲±۰)،(۱/۵±۰/۵) و (۲/۲۵±۰/۵) نسبت به گروه کنترل(۵±۰) مهار بارزی را نشان می‌دهد (نمودار ۱). دوزهای مختلف شاهدانه درمرحله نهایی تحریک در گروه‌های درمان بطور یکسانی (۱/۹۱±۰/۵) نسبت به کنترل(۵±۰) پیشرفت مراحل تشنجی را مهار کرد ($p<0/05$). در روزهای سوم، ششم، هشتم و نهم بین گروه های تیمار اختلاف معنی دار وجود دارد. این اختلاف با کیندل شدن حیوانات و تثبیت مراحل تشنجی از بین می رود بطوریکه در سه روز آخر تیمار، دوز های ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ اثرات مهاری یکسانی اعمال کرده و اختلاف معنی داری بین این ۳ گروه وجود ندارد.

اثر دوزهای مختلف شاهدانه بر مدت زمان لازم برای شروع تشنج: مدت زمان لازم برای شروع تشنج بر حسب ثانیه در گروه های دوز ۴۰۰، ۶۰۰ و

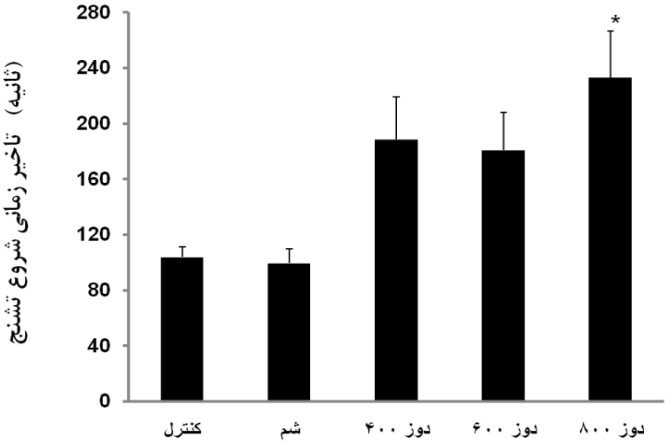
[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.4.1.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.4.7]

۸۰۰ (۱۸۸/۵۶±۳۰/۴۳)، (۱۸۰/۷۰±۲۷/۵۶) و (۲۳۲/۸۷±۳۳/۷۶) نسبت به گروه کنترل (۱۰۳/۸۴±۷/۵۰) و شم (۹۹/۴۵±۱۰/۵۶) افزایش پیدا کرده است (نمودار ۲). نتایج نشان می دهد که دوز ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشترین اثر گذاری را دارد شاید با افزایش مقدار عصاره مواد موثر آن نیز افزایش می یابد. آنالیز آماری نشان می دهد اختلاف معنی داری بین گروه دوز ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه های کنترل و شم وجود دارد ($p<۰/۰۵$) ولی بین گروه های درمان اختلاف معنی داری مشاهده نشد.



نمودار۱. اثر عصاره آبی دوزهای ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش بر مراحل تشنج. $p<۰/۰۵$ ۱، $p<۰/۰۱$ ۲و $p<۰/۰۰۱$ ۳ نشان دهنده اختلاف معنی داری با گروه کنترل می باشد

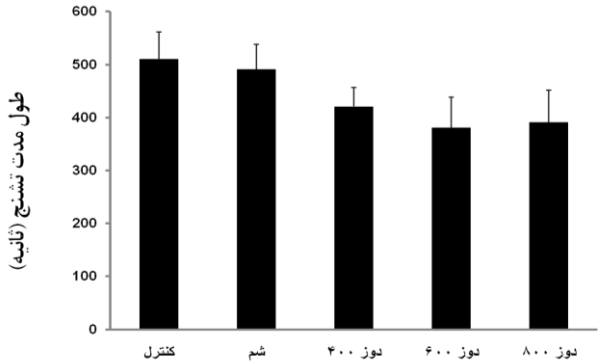
$p<۰/۰۵$ ، ^{a} $p<۰/۰۱$ ^{b}و $p<۰/۰۰۱$ ^{c} نشان دهنده اختلاف معنی داری بین گروهای درمان ۶۰۰ و ۸۰۰ با گروه ۴۰۰ mg/kg می باشد. $p<۰/۰۵$# نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه های ۴۰۰ و ۶۰۰ با ۸۰۰ mg/kg می باشد.



نمودار۲. اثر عصاره آبی دوز های ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش بر مدت زمان لازم برای شروع تشنج

$p<۰/۰۵$ * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل می باشد. بین گروه های درمان اختلاف معنی داری وجود ندارد

اثر دوز های مختلف شاهدانه بر طول مدت تشنج: شاهدانه طول مدت تشنج بر حسب ثانیه را در گروه های دوز ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ (۴۲۰/۷۸±۳۵/۹۸)، (۳۸۰/۹۸±۵۷/۰۹۵۶) و (۳۹۰/۸۷±۶۰/۴۶) نسبت به گروه های کنترل (۵۱۰/۸۷±۵۰/۷۸) و شم (۴۹۰/۷۶±۴۷/۹۸) کاهش داده است(نمودار ۳). تمام دوزهای شاهدانه اثر کاهندگی بر مدت تشنج اعمال کردند ولی در دوز های ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش مدت تشنج بیشتر بود با این حال اختلاف معنی داری بین گروه های درمان و گروه های کنترل و شم وجود ندارد. همچنین بین گروه های درمان نیز اختلاف معنی داری مشاهده نشد.



نمودار۳. اثر عصاره آبی دوز های ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش بر مدت طول مدت تشنج

بحث و نتیجه گیری

یافته ها نشان داد که دانه گیاه شاهدانه دارای اثر ات ضد تشنجی در مدل کیندلینگ شیمیایی حاصل از تزریق پنتیلن تترازول است. در این آزمایش تا حدودی همه دوزهای مورد نظر عصاره گیاه توانستند تا حدودی جلوی گسترش صرع را بگیرند. اما دوز ۸۰۰ بیشترین تاثیر را داشت. زیرا علاوه بر مراحل تشنج بر مدت زمان لازم بر شروع تشنج نیز موثر بود. که نشان می دهد مقادیر بالاتر مواد تاثیر بیشتری دارند. ولی هیچ کدام از دوز های مختلف عصاره طول مدت تشنج را بطور معنی داری تغییر نداد.

گیاه شاهدانه دارای ترکیبات کانابینوئیدی می باشد. در یک بررسی نشان داده شد که کانابیدول بر تشنج های القاء شده با کافئین اثر بازدارنگی دارد که اثر ضد تشنجی خود را از طریق کاهش رهایش گلوتامات اعمال می‌کند(۲۴). همچنین نشان داده شده است که پالمیتوئیل اتانول آمید از طریق گیرنده های کانابینوئیدی CB1, CB2 اثر ضد تشنجی ایجاد می کند زیرا پیش درمانی با آنتاگونیست این گیرنده اثر ضد تشنجی ان را کاهش می دهد(۲۵). مطالعه اثر تجویز آنتاگونیست های کانابینوئید در موش های سالم و بدون تشنج نشان داده که سیستم آندوکانابینوئیدی در برابر تشنج های کریپتوژنیک اثر محافظتی دارد(۲۶). این مطالعات نتیجه حاصل از این آزمایش را تایید می کند.

مکانیسم های متعددی اثرات گیاه شاهدانه را توجیه می کنند. یکی از مکانیسم های موجود سیستم اندوکانابینوئید (ECS) می باشد. سیستم اندوکانابینوئید تقریبا در تمام سیناپس های تحریکی و مهاری محتوی انواع مختلف نوترانسمیتر در سیستم عصبی محیطی و مرکزی وجود دارد. (۲۸و ۲۷). بررسی ها نشان داده اند که سیستم کانابینوئیدی داخلی و کانابینوئید های اگزوژن سبب رشد نورونی، بلوغ مغزی، حفاظت مغز در برابر سموم و ضربات می شوند.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.4.1.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.4.7]

سیستم کانابینوئیدی در مسیرهای حسی، کنترل حرکتی، شکل خواب و بیداری، عملکردهای شناختی و یادگیری نقش دارد(۲۷). اثرات آن در مسیرهای مختلف می تواند مهاری یا تحریکی باشد با توجه به اینکه در آن مسیر در حالت طبیعی تعدیل مهاری (گابائرژیک) یا تحریکی (گلوتاماترژیک) غالب است. با این وجود منحنی های وابسته به دوز فعالیت سیستم کانابینوئید در بیشتر موارد دی فازیک است. فعالیت شدید و مداوم سیستم EC منجر به حساسیت زدایی و تنظیم کاهشی رسپتورها می شود. در نتیجه سبب کاهش پیشرونده اثرات و حتی معکوس شدن عملکرد آن می شود (۲۷).

سیستم اندوکانابینوئید از طریق گیرنده های خود بنام گیرنده اندوکانابینوئید نوع یک و دو (CB1, CB2) اثرات خود را اعمال می کنند. این گیرنده ها متعلق به خانواده GPCR می باشند. گیرنده CB1 بطور فراوانی در سیستم عصبی مرکزی بیان می شود و از طریق G_i و مهار آدنیلات سیکلاز و کاهش cAMP عمل می کند. گیرنده های نوع یک و دو از طریق Gq نیز عمل می کنند که سبب مهار کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ و فعال شدن کانالهای پتاسیمی می شوند(۲۹). در نتیجه این سیستم از طریق مسیرهای سیگنالینگ فوق سبب افزایش حالت مهاری عملکرد مغز می شوند(۲۹و۲۷). با توجه به اینکه عدم توازن تحریک و مهار مغزی یعنی افزایش تحریک یا کاهش مهار مغز سبب تشنج می شود (۳۰)می توان گفت گیاه شاهدانه به علت دارابودن کانابینوئید فراوان و فعال کردن سیستم EC حالت مهاری مغز را افزایش داده و سبب مهار تشنج می شود. از طرف دیگر گیاه شاهدانه حاوی ترکیبات فلاونوئیدی می باشد. مشخص شده که ترکیبات فلاونوئیدی همانند مولکول‌های شبه بنزودیازپین عمل کرده و لیگاندهایی برای گیرنده های بنزودیازپینی (GABA-A) می باشند. فلاونوئیدها با فعال کردن گیرنده گابا سبب تقویت سیستم گابائرژیک مغز شده و اثرات ضداضطرابی، خواب آوری و ضد تشنجی ایجاد می کنند (۳۴-۳۰). این یافته ها نیز در تایید نتاج تحقیق حاضر است. با توجه به گزارشات بدست آمده از سایر بررسی ها و یافته های حاصل از این تحقیق می توان گفت دانه گیاه شاهدانه از طریق فعال کردن سیستم گاباارژیک و افزایش حالت مهاری مغز و از طریق مهار سیستم گلوتاماترژیک و کاهش حالت تحریک مغز می تواند اثرات ضد تشنجی داشته باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از دانشگاه شهید مدنی آذربایجان جهت حمایت از این تحقیق، تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.4.1.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.4.7]

Study of Anti-Epileptic Effect of Cannabis Sativa Extract on Pentylenetetrazol-Induced Kindling in Male Rats

S. Namvar Aghdash (PhD)*[1], R. Mirzae (MSc)[1], F. Pourabdolhossein (PhD)[2]

1.Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran
2.Neuroscience Research Center, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Scineces, Babol, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(4); Apr 2016; PP: 7-13
Received: Nov 26th 2015, Revised: Jan 6th 2016, Accepted: Mar 2th 2016/

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Epilepsy is one of the most common neurologic disorders that presents in a large number of drug-resistant patients. Given the presence of the anticonvulsant compounds in *Cannabis* and its use in traditional medicine, this study aims to evaluate the effect of *Cannabis sativa* extract on the treatment of seizures.

METHODS: In this experimental study, 40 Syrian male rats were selected and randomly divided into five groups, including one control, one sham, and three experimental groups. The control group only received pentylentetrazol (PTZ), the sham group was administered distilled water, and the experimental groups were gavaged with 400, 600, and 800 mg/kg of body weight of the aqueous extract of Cannabis sativa for four weeks. Moreover, 45 mg/kg of PTZ was intraperitoneally administered 30 minutes later in the experimental and sham groups. Finally, the convulsive behaviors and the relevant parameters were recorded using a camera inside a specific cage for 25 minutes.

FINDINGS: Aqueous extract of Cannabis sativa increased the delay of seizure onset at the dose of 800 mg/kg compared to the control group (232.87±33.76 sec vs. 103.84±7.50 sec; $p<0.05$) and inhibited the progression of epilepsy phases equally at each three doses compared to the control group (1.91±0.5 vs. 5±0; $p<0.00$).

CONCLUSION: The results showed that cannabis extract had the maximum anticonvulsant effect on PTZ-induced seizures at the dose of 800 mg.kg of body weight. Therefore, the anticonvulsant properties of aqueous extract of *cannabis* are dose-dependent.

KEY WORDS: *Cannabis sativa*, *Epilepsy*, *Pentylenetetrazol*, *Seizure*.

Please cite this article as follows:
Namvar Aghdash S, Mirzae R, Pourabdolhossein F. Study of Anti-Epileptic Effect of Cannabis Sativa Extract on Pentylenetetrazol-Induced Kindling in Male Rats. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(4):7-13.

***Corresponding author: S.Namvar Aghdash**
Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Tabriz, I.R.Iran
Tel: +98 41 34327500
E-mail: siminnamvar2@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.4.1.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.4.7]

References

1.Quintans Júnior J, Almeida RJ, Lima TJ, PNunes X, Siqueira SJ, Oliveira LG, et al. Plants with anticonvulsant properties - a review. Braz J Pharmaco. 2008;18: 798-819.

2. Magiorkinis E, Sidiropoulou K, Diamantis A. Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity. Epilepsy Behav. 2010; 17(1):103-8.

3. Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. Prog Neurobiol. 2004;73(1):1-60.

4. Gelfusoa EA, Liberatoa JL, Cunhaa AS, Mortaric MR, Belebonid RO, Lopese NP, Dos Santosa WF. Parawixin 2, a novel non-selective GABA uptake inhibitor from Parawixia bistriata spider venom, inhibits pentylenetetrazole-induced chemical kindling in rats. Neurosci Lett. 2013; 543:12-6.

5. MacDonald RL, Barker JL. Pentylenetetrazol and penicillin are selective antagonists of GABA-mediated post-synaptic inhibition in cultured mammalian neurones. Nature.1977; 267:720-1.

6. Muazu J , Kaita A H. A review of traditional plants used in the treatment of epilepsy amongst the hausa/Fulani tribes of northern Nigeria. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2008;5(4): 387-90.

7. Raedt R, Van Dycke A, vonck K, Boon P. Cell therapy in models for temporal lobe epilepsy. Seizure. 2007;16(7): 565-78.

8.Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. N Engl J Med. 2000;342(5): 314-9.

9. Kim HJ, Jee EH, Ahn KS, Choi HS, Jang YP. Identification of marker compounds in herbal drugs on TLC with DART-MS. Arch Pharm Res. 2010;33(9): 1355-9.

10. Reyes-García V. The relevance of traditional knowledge systems for ethnopharmacological research: theoretical and methodological contributions. J Ethnobiol Ethnomed. 2010;6: 32.

11. Moussally K, Oraichi D, Bérard A. Herbal products use during pregnancy: prevalence and predictors.Pharmacoepidemiol Drug Saf. 2009;18(6): 454-61.

12. Kiasalari Z, Khalili M, Heidari H. Investigation of anticonvulsant effect of alcoholic Ferula Assa Foetida gum extract PTZ-induced kindling model in mice. Daneshvar Med.2011;18(90): 25-32.[In Persian]

13. Abdanipour AR, Shadman B, Nanehkaran F, Bonabi R, Norian A. In Vitro Evaluation Hydroethanolic Extracts of Citrus Aurantiu on Proliferative Rate of NSCs. J Babol Univ Med Sci.2014; 16(7);36-40.[In Persian]

14. Shahraki A, Rezazehi AR. Neuroprotective Effect of Aqueous Extract of Achillea millifolium Against Retrograde Destruction of Neurons of Ventral Horn of the Spinal Cord After Sciatic Nerve Compression in Rats. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(6);40-7.[In Persian]

15. Azhdari Zarmehri H, Naderi F, Erami E, Mohammad Zadeh M. Effects of Salvia Sahendica hydroalcoholic extract on PTZ induced seizure in male mice. Koomesh.2013;14(4): 497-504.[In Persian]

16. Mahmoodi M, Heidari MR, Zohoor AR. Experimental study of evaluate the pretreatment of Melissa officinalis extract against lethal seizures induced pentylenetetrazole in wistar rats. J Kerman Univ Med Sci. 2001; 8(1):88-94. [In Persian].

17. Naderi F, Azhdari Zarmehri H , Erami E , Sonboli A, SofiabadiM, Mohammad Zadeh M.The Effect of Tanacetum sonbolii Hydroalcholic Extract on PTZInduced Seizures in Male Mice. j Medicn plants.2011; 44(4):193-201.

18. Namvar Aghdash S, Nasirifard S. The Effect of Equeous Datura Stramonium L Seed Extract on Chemical Kindling Induced by Intraperitoneal Injection of Pentylenetetrazole in Mice. J Shefaye Khatam 2015: 3(2):35-41.[In Persian].

19. Namvar Aghdash S, Nasirifard S. Assessment of Aqueous Extract of Humulus Lupulus Effects on Seizure Induced by Intraperitoneal Injection of Pentylenetetrazole in Mice. J Shefaye Khatam.2015; 3(2):49-55.[In Persian].

20. Borhade SS. Chemical Composition and Characterization of Hemp (Cannabis sativa) Seed oil and essential fatty acids by HPLC Method. Arch Appl Sci Res. 2013; 5(1):5-8.

21. Zimmerman M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain. 1983; 16(2):109-10.

22.Rezvani ME, Roohbakhsh A, Mosaddegh MH, Esmailidehaj M, Khaloobagheri F, Esmaieli H. Anticonvulsant and depressant effects of aqueous extract of carun copticum seeds in male rats. Epilepsy Behav. 2011; 22(2): 220-25.

23. Palizvan MR, Ghaznavi-Rad E. Naloxan enhanced inhibitory effect of verapamil on seizure induced by pentylenetetrazol in male rats. Res pharm sci.2014; 9(4):295-99.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.4.1.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.4.7]

24. Gobira PH, Vilela LR, Goncalves DB, Santo RP, deOlive AC, Vierira LB and et al. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, inhibits cocaine-induced seizures in mice: Possible role of the m TOR pathway and reduction in glutamate release. Neuro Toxicology. 2015; 50:116-21.
25.Aghaei I, Rostampour M, Shabani M, Naderi N, Motamedi F, Babaei P, and et al. Palmitoylethanolamide attenuates PTZ-induced seizures through CB1 and CB2 receptors. Epilepsy Res. 2015; 117: 23-8.
26. van Rijn CM, Perescis F, Lyudmila V, Luijtelaar GV. Endocannabinoid system protects against cryptogenic seizures. Pharmacol Rep. 2011;63: 165-8.
27. Messina F, Rosati O, Curini M, M. Marcotullio C. Cannabis and bioactive cannabinoids. Stud Natural Prod Chem. 2015; 45(2):17-57.
28. Madras B, Kuhar M. The effects of drug abuse on the human nervous system: Effects of cannabis and cannabinoids in the human nervous system, Chapter 13. Elsevier Inc; 2014.p. 387-422.
29. Piscitelli F, diMarzo V. The ever-expanding world of theendocannabinoids: A concise introduction. 2001. p. xxv-xlv. Available from:https://www.researchgate.net/publication/282422417_The_ever-expanding_world_of_the_endocannabinoids_A_concise_introduction
30. Magiorkinis E, Sidiropoulou K, Diamantis A. Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity. Epilepsy Behav. 2010; 17(1):103-8.
31. Arzi A, Kesmati M, Alikhani M. Preventive effect of hydroalcoholic extract of Matricaria Chamomilla on Nicotine induced convulsions in mice. J Babol univ Med sci 2003; 6(2): 12-7.[In Persian].
32. Keihanian F, Rostampour M, Saeidynia A, Elmieh AR. Effect of Ruta Graveolens Hydro-Alcoholic Extract on Pentylenetetrazole-Induced Seizure in Male Mice. J Babol univ Med sci 2012; 14(4): 30-6.[In Persian].
33. Fernandez SP, Wasowski M, Loscalzo CM, Granger RE, Johnston GR, Marder M,et al. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. Eur J Pharmacol. 2006;539(3): 168–76.
34.Gupta R, Singh M, Sharma A. Neuroprotective effect of antioxidants on ischaemia and reperfusion- induced cerebral injury. Pharmacol Res. 2003;48(2):209–15.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.4.1.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.4.7]