مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره شانزدهم، شمارهٔ ۱۰، مهر ۱۳۹۳، صفحه ۴۴-۳۸

اثر عصاره رزماری بر علیه سمیت القا شده توسط اسید کاینیک در موش صحرایی

الهه نادرعلی(MSc) [۱]، هما رسولی جزی(PhD)*[۲]، فرناز نیکبخت(PhD)[۳]،
منصوره سلیمانی(PhD)[۲]، ملیحه نوبخت(PhD)[۲]

۱- گروه آناتومی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- گروه آناتومی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
۳- گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران

دریافت: ۹۲/۱۱/۱۲، اصلاح:۹۲/۱۲/۱۵، پذیرش: ۹۳/۴/۴

خلاصه

سابقه و هدف: در بیماری صرع روند مزمن نورودژنراتیو در مغز رخ می دهد و آنتی اکسیدانها می توانند باعث کاهش این اثر شوند.. این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی عصاره رزماری در ناحیه هیپوکامپ در مدل تخریبی نورونهای هیپوکامپ در اثر سمیت اسید کاینیک انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی ۳۴ راس موش صحرائی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم بطور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند.: گروه کنترل ۱ (۵ راس و دست نخورده)، گروه کنترل ۲ (۵ راس و دریافت کننده حلال اسیدکاینیک و حلال عصاره رزماری)، گروه عصاره رزماری (۱۰ راس و دریافت کننده عصاره رزماری محلول در آب مقطر به میزان mg/kg ۱۰۰ روزانه تا ۲۳ روز، به صورت گاواژ)، گروه آسیب (۷ راس و دریافت کننده تک دوز اسید کائینیک به میزان mg/kg ۹/۵ به صورت داخل صفاقی)، گروه درمان (۷ راس و دریافت کننده اسید کائینیک و عصاره رزماری) تقسیم شدند. رفتارهای تشنجی به مدت ۳-۲ ساعت پس از تزریق اسید کاینیک مشاهده و ثبت شد و بین دو گروه آسیب و درمان مقایسه شد. برای بررسی وقوع آپپتوز در ناحیه هیپوکامپ از رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی کاسپاز ۳(Caspase3) استفاده شد.

یافته ها: نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز عصاره رزماری در موشهای صرعی شده با اسید کائینیک باعث کاهش رفتارهای تشنجی به میزان معنی داری ($p<۰/۰۱$) به ترتیب (۴/۲۹±۰/۴۷ درگروه اسید کائینیک در مقابل ۲/۱۴±۰/۳۴ در گروه اسید کائینیک رزماری). همچنین توسط رنگ آمیزی کاسپاز ۳، وقوع آپوپتوز در ناحیه CA1 هیپوکامپ گروه آسیب تائید شد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره رزماری می تواند دارای تاثیرات ضد صرعی و نوروپروتکتیو برعلیه نوروتوکسیتی القا شده توسط اسید کائینیک باشد.

واژه های کلیدی: اسیدکائینیک، عصاره رزماری، صرع، هیپوکامپ.

مقدمه

به فعالیت الکتریکی غیر طبیعی و همزمان و آشفته دسته ای از نورونها، بطور کلی تشنج گفته می شود و چنانچه تشنج ها به صورت خودبخودی، غیرقابل پیش بینی و قابل برگشت بروز کنند، نوعی اختلال عصبی به نام صرع ایجاد می‌شود (۱). در یک تحقیق دیده شده است که شایعترین عامل بستری شدن بیماران نورواکتودرمال مراجعه کننده به درمانگاه و بخش اعصاب بیمارستان کودکان امیرکلا بابل طی ۶ سال، تشنج می بود(۲). اسید کائینیک (KA) یکی از آنولوگ های حلقوی گلوتامات است. اخیرا به نقش این ماده در القاء تشنج در جوندگان توجه خاص شده است (۴و۳). این ماده آگونیست گیرنده های یونوتروپیک KA, AMPA, NMDA بوده، حدودا ۱۰۰ برابر از گلوتامات قوی تر است و همانند آنچه که در اپی لپسی لوب تمپورال رخ می دهد، اسید کائینیک باعث از بین رفتن نورونها می شود (۶و۵). اسید کائینیک همچنین یک اسید پیرولیدین است که بعنوان عامل مخرب و القاء کننده مرگ سلولی بخصوص در نواحی CA1 و CA3 می باشد (۷). تزریق اسید کائینیک با افزایش قابل توجه در میزان NO و در نتیجه استرس اکسیداتیو موجب نوروتوکسیتی در مغز می شود(۸). از آنجایی که مغز در برابر سایر ارگانها بیشترین مقدار اکسیژن را مصرف می کند و همچنین اسیدهای چرب غیر اشباع زیادی را در بر میگیرد که مستعد پراکسیداسیون لیپیدی هستند، بشدت در معرض استرس اکسیداتیو است (۱۱-۹). القای آسیب اکسیداتیو بوسیله اسید کائینیک وابسته به ناحیه است چنانکه هیپوکامپ از جمله نواحی بسیار آسیب پذیر است (۱۲) در جریان استرس اکسیداتیو برخی شاخص های بیوشیمیایی در هیپوکامپ مانند نیتریت افزایش یافته و سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بعنوان سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی کاهش می یابد (۱۳). از آنجا که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برخلاف

این مقاله حاصل پایان نامه الهه نادرعلی دانشجوی کارشناسی ارشد و طرح تحقیقاتی ۹۱/۰۳/۳۰/۱۵۰۰۸ دانشگاه علوم پزشکی ایران می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر هما رسولی جزی
آدرس: تهران، اتوبان همت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح. تلفن و فکس: ۸۸۶۲۲۶۸۹-۰۲۱
E-mail: rasooli.h@iums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.10.5.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.10.38]

آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی، سمیتی را در فرآورده‌های غذایی به‌وجود نمی‌آورند، به همین دلیل، استفاده از آنها در سالهای اخیر به طور گسترده ای در صنایع غذایی افزایش یافته است (۱۴). ترکیبات طبیعی مواد گیاهی که در رژیم غذایی انسانها استفاده می شوند ممکن است در حفاظت از بدن مفید باشند. یکی از این گیاهان مشهور که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است، رزماری می باشد(۱۵). رزماری از جمله گیاهانی است که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی به فراوانی در صنایع مواد غذایی و داروسازی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۶).

در طب ایران قدیم به دلیل اثرات آرامش بخش روی سیستم عصبی مرکزی و فعالیت ضد صرع، از آن استفاده می شده است. همچنین این گیاه برای رفع سردردهای عصبی و اثرات مفید آن در کاهش فشارهای عصبی و بهبود عملکرد مغز استفاده می شده است (۱۷). فعالیت آنتی اکسیدانتی رزماری بطور اصلی به کارنوسیک اسید و ترکیبات کارنوزال و اسید رزماریک نسبت داده می شود. کارنوسیک اسید به وفور در برگهای رزماری یافت می شود (۱۸). کارنوسیک اسید یک کاتکول طبیعی نوع پلی فنولیک دیترپن می باشد که در رزماری موجود است و یک فعالیت گسترده فارماکولوژیکی و بیولوژیکی بعنوان آنتی اکسیدان دارد (۱۹). گزارش شده است که کارنوسیک اسید از اجزا بیولوژیک حفاظت می کند و از پراکسید لیپیدها جلوگیری می کند. کارنوسیک اسید انواع اکسیداسیون واکنشی شامل رادیکال هیدروکسیل و رادیکالهای لیپید پراکسی را از بین می برد. Cuppett & Wijeratne گزارش کرده اند که کارنوسیک اسید مانع از پراکسیداسیون لیپیدها تحت شرایط استرس اکسیداتیو به میزان ۱۰۰-۸۰٪ می شود (۱۸). این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی عصاره رزماری در ناحیه هیپوکامپ در مدل تخریبی نورونهای هیپوکامپ در اثر سمیت اسید کاینیک انجام شد.

مواد و روشها

مواد: اسید کاینیک از شرکت سیگما (Sigma co., Saint Louis, Missouri USA)، عصاره هیدروکلریک رزماری حاوی ۴۰٪ اسید کاینیک از شرکت هونان ژنهام چین (Geneham biomedical technology, China)، آنتی بادی اولیه کاسپاز ۳ (Rb mAb to caspase 3 (E 87) ab 32351) و آنتی بادی ثانویه (Coat PAb to Rb IgG(HRP) ab 97051) از شرکت ابکم (abcam, Cambridge, England) خریداری شدند.

حیوانات: برای انجام این پژوهش تجربی تعداد ۳۴ راس موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار و محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی ایران خریداری شده و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دسترسی آزاد به آب و غذا، در قفس های مخصوص در اتاق حیوانات نگهداری شدند. تمام آزمایشات با توجه به دستورالعمل های جهانی نگهداری حیوانات (national institutes of health=NIH) انجام گردید. موشها بطور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل ۱ (control ۱) که حیوانات دست نخورده بودند (n=۵)، ۲- گروه کنترل ۲ (control ۲) که دریافت کننده حلال اسیدکاینیک و حلال عصاره رزماری بودند (n=۵)، ۳- گروه عصاره رزماری (RE) که دریافت کننده عصاره رزماری محلول در آب مقطر به میزان ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت گاواژ بودند (n=۱۰)، ۴- گروه آسیب یا اسید کاینیک (KA) که دریافت کننده اسید کائینیک به میزان ۹/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت داخل صفاقی بودند (n=۷) و ۵- گروه درمان یا اسید کاینیک+عصاره رزماری (KA+RE) که دریافت کننده اسید کائینیک و عصاره رزماری بودند(n=۷).

رفتارهای تشنجی به مدت ۴-۲ ساعت پس از تزریق اسید کاینیک مشاهده و ثبت شد و بین دو گروه آسیب و درمان مقایسه شد. کمیت رفتار تشنجی حیوان بر اساس طبقه ۵-۰ در گروه های مختلف نشان می دهد. بر طبق طبقه بندی ریسین: مرحله صفر: عدم پاسخ تشنجی، مرحله ۱: حرکات دهان و صورت (Mouth and Facial movement)، مرحله ۲: تکان دادن سر به طرف بالا و پایین (Head Nodding)، مرحله ۳: حرکات کلونوس در اندام جلوئی(Forelimb clonus)، مرحله ۴: بلند شدن روی دوپا همراه با کلونوس در اندام جلوئی (Rearing)، مرحله ۵: بلند شدن روی دوپا و از دست دادن تعادل (Rearing and Falling). برای بررسی وقوع آپپتوز در ناحیه هیپوکامپ از رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی کاسپاز ۳ (Caspase3) استفاده شد.

القا نورودژنراسیون بوسیله اسید کائینیک: به منظور القا نورودژنراسیون بر اساس مقالات (۵) و اعمال تغییرات اندکی بر اساس دزیمتری موثر بر حسب مشاهده علائم صرع بدون مرگ، تحت شرایط استریل، مقدار دوز موثر اسید کاینیک (۹/۵ mg/kg) حل شده در نرمالین سالین را بصورت داخل صفاقی تزریق نموده و رفتار آنها را مورد مشاهده قرار گرفت. علائمی مثل جنباندن سر در هنگام خیس شدن (WSD) ،دندان قروچه، تشنج دستها و تونیک کلونیک ۳-۲ ساعت بعد از تزریق مشاهده و ثبت شد.

پیش درمانی و درمان با عصاره هیدروالکلی رزماری (۴۰٪اسید کارنوسیک): عصاره رزماری (حاوی ۴۰٪اسید کارنوسیک) و با دوز ۱۰۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن را در آب مقطر حل نموده و یک هفته قبل از تزریق اسید کاینیک به صورت روزانه گاواژ شد. تجویز عصاره به مدت ۲۳ روز (تا روز کشتن آنها)، روزانه تکرار شد. این نحوه تجویز با استفاده از مطالعات قبلی روی عصاره رزماری (۱۵) و نیز روی اسیدکارنوسیک (۲۸) انجام شد.

جهت مطالعه بافت شناسی، رت ها را با استفاده از دوز بالای کتامین (۱۵۰mg/kg) و گزیلازین (۱۵mg/kg) به طور عمیق بیهوش نموده و به روش ترانس کاردیاک و با استفاده از محلول فیکساتیو پارافرمالدئید ۴ درصد بافر شده (۰/۱ مولار) حل شده در محلول بافر فسفات و با PH=۷/۴ پرفیوژن شدند. پس از پایان پرفیوژن، مغز را با دقت خارج کرده و در محلول post fix قرار گرفت. جهت بررسی تغییرات احتمالی آپوپتوتیک در ناحیه هیپوکامپ، نمونه های مغز را پس از طی مراحل پروسس، با پارافین قالب گیری نموده و برش های کرونال مغز با ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید و روی لام های سیلانه قرار گرفت و در نهایت رنگ آمیزی به روش ایمونوهیستوشیمی caspase3 انجام شد.

رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی Caspase3: ابتدا، لامها در گزیلل قرار گرفتند، سپس از الکل های نزولی برای آب دهی استفاده شد. برای بلاک کردن مقاطع بافتی، لامها در محلول ۱۰ درصد پراکسید هیدروژن، به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و پس از احیای آنتی ژن با سیترات بافر و برداشتن آنتی ژنهای نا مربوط با BSA، لام ها با آنتی بادی اولیه (1:50, abcam, Rb mAb to caspase-3 (E 87), ab 32351) بصورت overnight در 4°C انکوبه شدند و به دنبال آن مقاطع توسط آنتی بادی ثانویه (1:1000,

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.10.5.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.10.38]

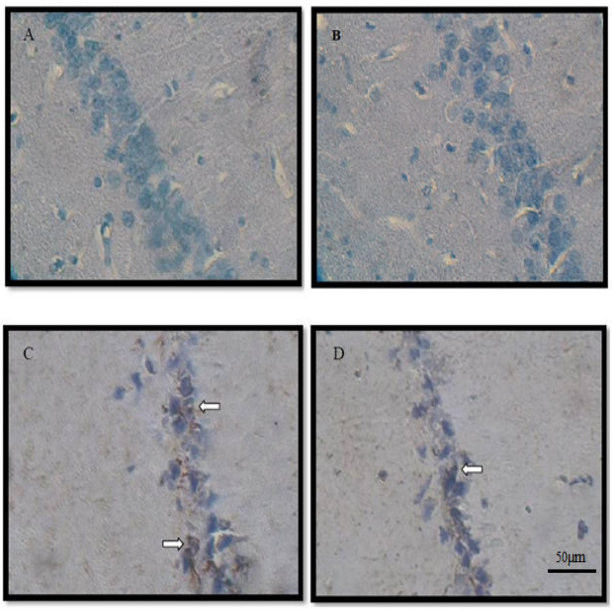
abcam, Coat PAb to Rb IgG(HRP) ab 97051) به مدت ۱ ساعت قرار داده شدند و سپس با DAB substrate kit به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شدند و در نهایت برای رنگ آمیزی متضاد از رنگ هماتوکسیلین (برای رنگ آمیزی هسته نورون ها) استفاده شد.

یافته ها

از آنجائیکه نتایج دو گروه کنترل کاملا مشابه یکدیگر بود، نتایج این دو گروه به عنوان "گروه کنترل" گزارش شده است.

نتایج بررسی رفتار تشنجی حیوان: نتایج نشان داد که میانگین علائم شبه صرعی در دو گروه اصلی KA و KA+RE به ترتیب عبارت از: ۴/۲۹±۰/۴۷ و ۲/۱۴±۰/۳۴ بوده است. علائم شبه صرعی به طور معنی داری در گروه KA+RE کمتر از گروه KA بود ($p<0/01$). با توجه به اینکه در گروه کنترل و شم هیچ رفتار تشنجی مشاهده نشد، از مقایسه این دو گروه صرف نظر شده است. در ضمن تعداد ۳ مورد مرگ و میر در گروه KA داشتیم که این میزان در گروه KA+RE ۱ مورد بود که البته این تعداد حیوانات در آزمایش لحاظ نشدند.

نتایج ایمونوهیستوشیمی Caspase3: در بررسی ایمونوهیستوشیمی Caspase3 در ناحیه CA1 هیپوکامپ، رنگ قهوه ای روشن نشانگر واکنش مثبت Caspase3 در سیتوپلاسم سلولهای در حال آپوپتوز است. سلول های بیان کننده کاسپاز ۳ در گروه دریافت کننده اسید کائینیک (گروه KA) در ناحیه CA1 هیپوکامپ به وفور دیده می شود. در حالی که در گروه KA+ RE از تعداد این سلول ها به نسبت کاسته شده و در گروه های کنترل و RE به ندرت دیده می شوند (شکل ۱).



شکل ۱. بخشی از ناحیه CA1 در گروه های مورد مطالعه، تحت بررسی با ایمونوهیستوشیمی کاسپاز۳، میزان آپوپتوز نورونی را در ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه های مورد مطاله نشان میدهد

شکل A: گروهControl، B: گروه RE، C: گروه KA و D: گروه KA+RE. علامت فلش سفید نشان دهنده سلول های بیان کننده کاسپاز ۳ در ناحیه CA1 است. همانطور که در تصاویر دیده می شود، تراکم سلول های آپوپتوز شده در گروه KA نسبت به سایر گروهها بیشتر است و در گروه KA+RE تجویز عصاره رزماری از میزان آپوپتوز نورونها کاسته است. (بزرگنمایی 400X)

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق داخل صفاقی اسیدکاینیک می تواند موجب بروز آپوپتوز و مرگ سلولی در ناحیه هیپوکامپ موش صحرایی و بروز علائم صرع در این حیوانات شود. از طرف دیگر، تجویز عصاره گیاه رزماری (حاوی ۴۰ درصد اسید کارنوسیک) می تواند سبب کاهش میزان رفتارهای تشنجی ایجاد شده بر اثر سمیت اسید کاینیک شود.

تزریق سیستمیک KA در جوندگان سبب ایجاد سندرمی با علائم شبه صرع لوب تمپورال در انسان می شود که همراه با وجود ضایعه در لوب تمپورال، تشنج خودبخودی و نیز نقص قابل توجهی در یادگیری و حافظه است (۲۰). تزریق زیر جلدی یا داخل صفاقی KA در موش صحرایی بالغ، علائمی شامل جنباندن سر در هنگام خیس شدن(Wet dog shake=WSD)، تشنج، بزاق بیش از حد، لرزش تمام بدن، رفتارهای تهاجمی و بیش فعالانه و تخریب مغز را القا می کند. در حال حاضر مکانیسم تخریب نورونی توسط KA، ناشناخته است. ولی پیشنهاده شده که مرگ سلولی القاء شده بوسیله KA ممکن است در اثر توکسیسیتی مستقیم و یا از طریق طولانی شدن و تکرار دپلاریزاسیون که منجر به نامتعادل شدن یونی غیر قابل برگشت یا نفوذ بیش از حد یون کلسیم به سیتوپلاسم نورون می شود، سبب وقوع این امر شود.

مطالعات دیگر پیشنهاد می کنند که تاثیرات نوروتوکسیسیته KA ممکن است به رها سازی آمینواسیدهای تحریکی مانند آسپارتیت و گلوتامیت از پایانه های سیناپسی مرتبط باشد. به نظر می رسد، توزیع سلولهای متاثر همیشه با دانسیته بالای رسپتورهای KA، مرتبط نیست. برای مثال، بعد از تزریق داخل بطنی KA، تخریب شدیدی در ناحیه CA3 (ناحیه ای از هیپوکامپ که تمرکز بالایی از رسپتورهای KA دارد) مشاهده می شود. از طرفی، بعد از تزریق سیستمیک دارو ناحیه ای که علی رغم دانسیته پایین رسپتورهای KA، بصورت مقایسه ای بشدت تخریب می شود، ناحیه CA1 است.

تخریب ناحیه متاثر در اصل محدود به نورون ها نیست، بلکه درجات گوناگونی از تخریب در بخش های دیگر مثل غلاف میلین، الیگودندروسیتها و آستروسیتها نیز دیده می شود (۲۱). مطالعات نشان داده اند که اسید کائینیک فعالیت کاسپاز ۳ را از طریق آزاد کردن سیتوکروم C تقویت کرده و از این طریق موجب دژنراسیون نورونی می شود (۲۲). تصور می شود که در حدود بیش از ۹۴ درصد خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره رزماری مربوط به کارنوسیک اسید و کارنوزول، که از ترکیبات فنولی موجود در آن است، می باشد (۱۴). ترکیبات فنولیک می توانند با به دام انداختن (chelating) یونهای فلزی، جلوگیری از تشکیل رادیکالهای آزاد و بطور غیر مستقیم بواسطه فعالیتهای آنزیمی و تغییر سطح بیان آنزیمهای مهم بعنوان آنتی اکسیدان عمل کنند (۲۴و۲۳). از طرف

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.10.5.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.10.38]

دیگر، سایر مطالعات نشان داده اند که فعالیت آنتی اکسیدانی بیولوژیکی ترکیبات فنولیک به خاصیت قطبی بودن، آبگریزی و نیز قابل دسترسی زیستی (bioavailability)آنها نیز مربوط است (۲۷-۲۵).

همچنین، محققین نشان داده اند که اسید کارنوسیک توانسته سبب پروتکشن نورون های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ در مدل آلزایمر موش صحرایی شود (۲۸).

این تحقیق نشان داد که عصاره گیاه رزماری (حاوی ۴۰ درصد اسید کارنوسیک) می تواند سبب کاهش میزان رفتارهای تشنجی ایجاد شده بر اثر سمیت اسید کاینیک شود. رنگ آمیزی کاسپاز ۳ نشان داد که بخشی از سمیت القا شده توسط اسید کاینیک باعث وقوع آپپتوز در نورون های هیپوکامپ می شود و ممکن است مربوط به بروز رفتارهای تشنجی بوجود آمده، باشد. به نظر می رسد که اثرات حفاظتی عصاره رزماری مربوط به خواص آنتی اکسیدانی فنل های موجود در عصاره (اسید کارنوسیک ۴۰٪) باشد. بنابراین با تکیه بر مطالعات آتی، شاید در آینده بتوان از این عصاره به عنوان داروی پیش گیرنده تکرار حملات صرع و یا عوارض منتج از این حملات استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری صمیمانه خانم شیما آب آب زاده در پیشبرد این تحقیق قدردانی می شود.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.10.5.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.10.38]

Effect of Rosemary Extract against the Toxicity of Kainic Acid in Rats

E. Naderali (MSc)[1], H. Rasoolijazi (PhD)*[2], F. Nikbakht (PhD)[3], M. Soleimani (PhD)[2], M. Nobakht (PhD)[2]

1. Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.
2. Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.
3. Department of Physiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 16(10); Oct 2014; pp: 38-44

Received: Feb 1st 2014, Revised: Mar 6th 2014, Accepted: Jun 25th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Chronic neurodegenerative process of epilepsy occurs in the brain. Antioxidants may reduce the neurodegenerative process.

METHODS: In the present study, the male Wistar rats weighing 200-250 gr. (n= 34) were randomly divided into five groups: 1- control group A contains 5 intact animals, 2- control group B contains 5 rats which received the solvents of rosemary extracts (RE) and Kainic Acid (KA) 3- RE group contains 10 animals received daily,100 mg/kg RE dissolved in distilled water and administered by gavage 4- lesion group contains 7 rats received intraperitoneally a single dose of 9.5 mg/kg of KA and treatment group contains 7 animals received KA and RE. The seizure signs of the rats were observed and recorded for 2-3 h after injection of KA and compared them between lesion and treatment groups. Caspase 3 immunohistochemistry was used for detection of apoptosis in hippocampus.

FINDINGS:. The results of this study showed that the administration of RE in rats with epilepsy caused by KA may reduce significantly ($p<0.01$) the seizures behaviors scores (4/29± 0/47 in lesion group and 2/14± 0/34 in treatment group). The occurrence of apoptosis was observed in the CA1 region of hippocampus by using caspase 3 staining.

CONCLUSION: This study showed that the RE could have antiepileptic and neuroprotective effects against the toxicity induced by KA.

KEY WORDS: *Kainic acid, Rosemary extract, Epilepsy, Hippocampus.*

Please cite this article as follows:

Naderali E, Rasoolijazi H, Nikbakht F, Soleimani M, Nobakht M. Effect of Rosemary Extract against the Toxicity of Kainic Acid in Rats. J Babol Univ Med Sci 2014;16(10):38-44.

* **Corresponding Author; H. Rasoolijazi (PhD)**

Address: Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Hemmat Highway, Tehran, Iran.

Tel: + 98 21 86704565

E-mail: rasooli.h@iums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.10.5.3]

[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.10.38]

References

1. Ahmadi Ahangar A, Izadpanah F, Aghajanipour A, Baay MR. Etiology of Seizure Disorder in Cases Admitted to Emergency Department of Ayatollah Roohani Hospital in Babol, Iran 2009-2011. J Babol Univ Med Sci 2013; 15(2):102-8.

2. Salehiomran MR, Shahhoseini R. Frequency of Neuroectodermal Diseases (Tuberous Sclerosis Complex, Sturge-Weber Syndrom and Neurofibromatosis) and its Main Clinical Manifestations. J Babol Univ Med Sci 2013; 15(5):72-6.

3. Tauck DL, Nadler JV. Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. J neurosci 1985; 5(4):1016-22.

4. Okazaki MM, Molnár P, Nadler JV. Recurrent mossy fiber pathway in rat dentate gyrus: synaptic currents evoked in presence and absence of seizure-induced growth. J Neurophysiol 1999; 81(4):1645-60.

5. Ben-Ari Y, R. Cossart. Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress. Trends Neurosci 2000; 23(11): 580-7.

6. Nadler JV. The recurrent mossy fiber pathway of the epileptic brain. Neurochem Res 2003; 28(11): 1649-58.

7. Sharma S, Rakoczy S, Dahlheimer K, Brown-Borg H. The hippocampus of Ames dwarf mice exhibits enhanced antioxidative defenses following kainic acid-induced oxidative stress. Exp Gerontol 2010; 45(12):936-49.

8.Wolf OT, Dyakin V, Patel A, Vadasz C, de Leon MJ, McEwen BS, et al. Volumetric structural magnetic resonance imaging (MRI) of the rat hippocampus following kainic acid (KA) treatment. Brain Res 2002; 934(2):87-96.

9. Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). Free radic Res 1999; 31(4):261-72.

10. Jellinger KA. General aspects of neurodegeneration. J Neural Transm Suppl 2003; (65):101-44.

11. Mariani E, Polidori M, Cherubini A, Mecocci P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2005; 827(1):65-75.

12. Candelario-Jalil E, Al-Dalain SM, Castillo R, Martinez G, León Fernández OS. Selective vulnerability to kainate-induced oxidative damage in different rat brain regions. J Appl toxicol 2001; 21(5):403-7.

13. Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. Trends Neurosci 1991; 14(2):60-7.

14. Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L).essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemist 2008; 110(1):76-82 .

15. Waggas AM, Balawi AE. Neurophysiological Study on Possible Protective Effect of Rosemary (Rosemarinus officinalis) Leaves Extract in Male Albino Rats Treated with Acrylamide. Am-Euras J Sci Res 2008; 3(2):163-71.

16. Romano CS, Abadi K, Reppeto V, Vojnov AA, Moreno S. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. Food Chemis 2009; 115(2):456-61.

17. Heidari MR, Assadipour A, Rashid-Farokhi P, Assad H, Mandegary. Effect of Rosmarinus officinalis extract on the seizure induced by picrotoxin in mice. Pakistan J Biol Sci 2005; 8(12):1807-11.

18. Manoharan S, Vasanthaselvan M, Silvan S, Baskaran N, Kumar Singh A, Vinoth Kumar V. Carnosic acid: A potent chemopreventive agent against oral carcinogenesis. Chem Biol Interact 2010; 188(3): 616-22.

19. Sahu BD, Rentam KK, Putcha UK, Kuncha M, Vegi GM, Sistla R. Carnosic acid attenuates renal injury in an experimental model of rat cisplatin-induced nephrotoxicity. Food Chemical Toxicol 2011; 49(12): 30907.

20. Bortolatto CF, Jesse CR, Wilhelm EA, Ribeiro LR, Rambo LM, Royes LF. Protective effect of 2,2'-dithienyl diselenide on kainic acid-induced neurotoxicity in rat hippocampus. Neuroscience 2011; 193:300-9.

21. Velázquez RA, Sun X, Kurtz HJ, Larson AA. Possible role of the N-terminus of substance P in kainic acid-induced toxicity in rats. Brain Res 1993; 624(1-2):109-14.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.10.5.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.10.38]

22. Shin EJ1, Ko KH, Kim WK, Chae JS, Yen TP, Kim HJ, et al. Role of glutathione peroxidase in the ontogeny of hippocampal oxidative stress and kainate seizure sensitivity in the genetically epilepsy-prone rats. Neurochem Int 2008; 52(6):1134-47.

23. Ferguson LR, Chavan RR, Harris PJ. Changing concepts of dietary fiber: implications for carcinogenesis. Nutr Cancer 2001; 39(2):155–69.

24. Ferguson LR, Philpott M, Karunasinghe N. Dietary cancer and prevention using antimutagens. Toxicology 2004; 198(1-3):147–59.

25. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radic Biol Med 1996; 20(7):933–56.

26. Spencer JP, Abd-el-Mohsen MM, Rice-Evans C. Cellular uptake and metabolism of flavonoids and their metabolites: Implications for their bioactivity. Arch Biochem Biophys 2004; 423(1):148-61.

27. Lima CF, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C. Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: relevance of glutathione levels. Life Sci 2006; 79(21): 2056-68.

28. Azad N, Rasoolijazi H, Joghataie MT, Soleimani S. Neuroprotective Effects of Carnosic Acid in an Experimental Model of Alzheimer's Disease in Rats. Cell J 2011; 13(1):39-44.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.10.5.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.10.38]