بررسی اثرات ضدتشنجی و آرام‌بخشی عصاره آبی - الکلی برگ گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) بر تشنجات القائی ناشی از کاربرد پنتیلن تترازول در موش صحرایی

محمدباقر غیور[1]، مرتضی بهنام رسولی[2]*، نرگس غیور[1]، مریم طهرانی‌پور[3]، عبدالصالح کامیابی‌آبکوه[1]

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد
۲- دکترا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
۳- دکترا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد
*آدرس مکاتبه: مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی
تلفن: ۰۹۱۵۱۱۱٤۰۳۷، نمابر: ۸۷٦۲۲۲۷ (۰۵۱۱)
پست الکترونیک: behnam@ferdowsi.um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲٦ **تاریخ تصویب:** ۹۰/٦/۲۰

چکیده

مقدمه: کنترل و درمان بیماری‌های تشنجی مستلزم مصرف دراز مدت داروهای ضدتشنج است که با عوارض جانبی ناخواسته همراه می‌باشد. از این‌رو در دهه‌های اخیر تحقیقات وسیعی در زمینه استفاده از گیاهان دارویی جایگزین انجام گرفته است.

هدف: هدف از اجرای این تحقیق بررسی اثرات ضدتشنجی عصاره آبی- الکلی برگ گیاه بادرنجبویه (***Melissa officinalis***) بر تشنجات القائی ناشی از کاربرد پنتیلن تترازول در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بوده است.

روش بررسی: پس از یکدست‌سازی حیوانات، به موش‌های صحرایی گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۵۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی الکلی بادرنجبویه به صورت درون صفاقی تزریق شد. به موش‌های صحرایی گروه کنترل حلال عصاره به روش مشابه تزریق شد. نیم ساعت پس از تزریق عصاره، به موش‌های صحرایی کلیه گروه‌ها پنتیلن تترازول با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی تزریق شد و پس از آن رفتارهای اپیلپتیفورم حیوانات به مدت ٦۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. میزان مرگ و میر حیوانات نیز تا ۲٤ ساعت بعد ثبت شد.

نتایج: در مقایسه با گروه کنترل، تجویز درون صفاقی عصاره در هر سه گروه تجربی موجب افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) دوره تأخیری بروز مراحل مختلف تشنج شد. علاوه‌بر این میزان مرگ و میر از ۹۰ درصد در گروه کنترل به ترتیب به ۳۰، ۵۰ و ٦۰ درصد در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ تقلیل یافت.

نتیجه‌گیری: از نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که عصاره آبی الکلی گیاه بادرنجبویه دارای اثرات بالقوه آرام‌بخشی و ضدتشنجی است و احتمالاً از طریق سیستم گابارژیک اثرات خود را اعمال می‌کند.

گل‌واژگان: بادرنجبویه، صرع، حملات ناگهانی، پنتیلن تترازول، موش صحرایی

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

مقدمه

بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) گیاهی است علفی و پایا، پرشاخه و پرپشت که بسته به شرایط اقلیمی ارتفاع آن به ۳۰ تا ۸۰ سانتی‌متر می‌رسد. برگ‌های این گیاه پوشیده از تار، متقابل، بیضوی، به شکل قلب و دندانه‌دار است. پرورش این گیاه از زمان‌های بسیار قدیم در بین ملل مختلف جهان به منظور درمان بیماری‌ها، معمول بوده است. ابوعلی‌سینا این گیاه را در ردیف داروهای مقوی قلب جای داده و در کتاب الادویه القلبیه چنین می‌گوید که بادرنجبویه «خاصیتی عجیب هم در تفریح و هم در تقویت قلب دارد». بادرنجبویه در طب سنتی ایران به عنوان تسکین‌دهنده، تب بر، ضداسپاسم و ضدتشنج، معرق، خوشبوکننده، بادشکن (ضدنفخ) کاربرد دارد. همچنین از این گیاه در درمان بی‌خوابی و اختلالات خواب، اضطراب، افسردگی، بیماری‌های عصبی، میگرن، حالت تهوع، ناراحتی عصبی معده، کم اشتهایی، کولیک (قولنج)، سرفه، قاعدگی نامنظم، دندان درد و لرزش‌های عصبی استفاده می‌شود [۱،۲]. تحقیقات علمی به عمل آمده بر روی این گیاه نشان می‌دهد بادرنجبویه دارای اثرات آرام‌بخشی و تسکین‌دهندگی [۳]، خواب‌آوری [٤]، تقویت‌کننده حافظه [۳]، ضدترومبوز و تجمع پلاکتی [۵]، آنتی‌تیروتروپیک [٦]، ضداسپاسمی، اتساع‌دهندگی عروق [۷،۸]، ضدویروسی، ضدباکتریایی و ضدقارچی [۹،۱۱]، ضدالتهابی و ضدتوموری می‌باشد. [۱۲]. علاوه‌بر این گزارش‌های علمی جدید خواص ضدافسردگی [۱۳،۱٤]، اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی، اثرات حفاظتی بر سیستم عصبی [۱۳،۱۵،۱٦،۱۷،۱۸] و اثرات ضددیابتی [۱۹] بادرنجبویه را به خوبی نشان داده‌اند.

صرع اختلال عصبی مزمن و شایعی است که با وقوع مکررحملات ناگهانی (Seizures) ناشی از اختلال در سلول‌های مغزی روی می‌دهد و با تظاهراتی مانند وقایع حسی، حرکتی، پدیده‌های اتونوم و اختلال و یا عدم اختلال در سطح هوشیاری مشخص می‌شود [۲۰،۲۱]. پیش از کشف داروهای ضدتشنج، درمان بیماران صرعی با جراحی مغز، حجامت و استفاده از گیاهان دارویی صورت می‌گرفت. در این رابطه نخستین درمان دارویی در سال ۱۸۵۷ با برومور پتاسیم صورت گرفت و سپس در سال ۱۹۱۲ فنوباربیتال، به عنوان اولین داروی معتبر جهت درمان حملات تشنجی وارد بازار مصرف شد [۲۲]. امروزه با توجه به اثرات جانبی منفی داروهای سنتتیک رویکرد مثبتی نسبت به گیاهان دارویی شکل گرفته است. با توجه به اینکه در طب سنتی برای گیاه بادرنجبویه خواص آرام بخشی و ضدتشنجی ذکر شده است در این پروژه تحقیقاتی اثرات احتمالی عصاره آبی – الکلی این گیاه بر تشنجات فراخوانده توسط پنتیلن تترازول در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت. هدف از انجام تحقیق حاضر این بود که علاوه بر بررسی تاثیر احتمالی عصاره بر روند ظهور و دوام مراحل تشنج مشخص شود که آیا اثرات عصاره وابسته به دوز است یا خیر.

مواد و روش‌ها

حیوان: موش‌های صحرایی نر بالغ آلبینو نژاد ویستار با سن تقریبی ۲/۵ ماه و وزن تقریبی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از مؤسسه سرم سازی رازی مشهد تهیه شود. موش‌های صحرایی در اتاق نگهداری حیوانات دانشکده علوم، در شرایط استاندارد دما (حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد) و نور (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و در قفس‌های پی.وی.سی نگهداری و تنها برای آزمایش‌های مربوط به تحقیق از قفس خارج می‌شدند. تغذیه موش‌های صحرایی با غذای فشرده استاندارد (شرکت جوانه خراسان) و آب معمولی صورت گرفت. جهت سازگاری نمونه‌ها با محیط دو هفته پس از استقرار موش‌های صحرایی در اتاق حیوانات، کارهای آزمایشگاهی بر روی آنها انجام شد.

تهیه گیاه

برگ‌های گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) که در اواخر فصل بهار از انستیتو تحقیقات گیاهان دارویی کرج

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

(هلجرد) تهیه شده بود در مجاورت هوا و به دور از تابش نور خورشید خشک شد. پس از خشک شدن، برگ‌ها پودر و از الک گذرانده شد. پودر یکدست شده جهت عصاره‌گیری مورد استفاده قرار گرفت.

روش استخراج عصاره گیاه بادرنجبویه

عصاره‌گیری به روش سوکسله و با اتانول ۷۰ درصد انجام گرفت. بدین منظور ۱۰۰ گرم برگ پودر شده گیاه بادرنجبویه داخل کاغذ صافی قرار داده شد و سپس اتانول ۷۰ درصد در فلاسک ریخته و درجه حرارت مطابق نقطه جوش حلال تنظیم شد. عصاره گیری به مدت ۱۲ ساعت انجام شد (راندومان ۱۳٤ میلی‌گرم عصاره درازاء هر یک گرم عصاره). عصاره پس از تغلیظ و حذف حلال، بر روی ورقه‌ای از جنس فویل آلومنیومی که پیش از آن وزن شده بود قرار گرفت و پس از توزین به منظور خشک کردن درون آون با حرارت ٤۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از نیم ساعت ورقه آلومنیومی به همراه عصاره از آون خارج شده و مجدداً وزن و پس از آن دوباره به آون منتقل شد. این عمل به فاصله زمانی هر نیم ساعت یکبار، چندین بار تکرار شد تا سرانجام وزن فویل و عصاره ثابت شد. پس از خشک شدن کامل عصاره، مقداری از آن وزن و در حجمی معین از نرمال سالین حل شد تا غلظت‌های مورد نظر برای تزریق به حیوانات حاصل شود. به محلول حاصل به ازای هر ۳۰ درجه سانتی‌گراد نرمالین سالین ۰/۳ درجه سانتی‌گراد توئین ۸۰ افزوده شد تا فاز الکلی عصاره به خوبی به صورت محلول در آید. حجم تزریق مورد نیاز هر موش صحرایی با توجه به وزن بدن و دوز تزریقی عصاره (۵۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) محاسبه و نیم ساعت پیش از تزریق پنتیلن تترازول، به صورت درون صفاقی تزریق شد.

روش ایجاد تشنج

کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه انجام شد. جهت ایجاد تشنج از پنتیلن تترازول (شرکت سیگما) استفاده شد. به منظور ایجاد حملات تجربی در موش‌های صحرایی، نیم ساعت پس از تزریق عصاره گیاه، محلول پنتیلن تترازول با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد. پنتیلن تترازول با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب ایجاد انقباضات میوکلونیک و تولید حملات ژنرالیزه تونیک-کلونیک می‌شود که در نهایت در ۹۰ درصد موارد به مرگ حیوان منتهی می‌شود [۲۳]. در این تحقیق تشنج به پنج مرحله تقسیم‌بندی شد و زمان شروع هر مرحله و طول دوره زمانی هر مرحله ثبت شد. در هر نوبت آزمایش ابتدا محلول پایه (استوک) از پنتیلن تترازول در نرمالین سالین استریل تهیه شد. غلظت محلول به گونه‌ای انتخاب گردید که هر ۰/۵ سی‌سی محلول حاوی ۱۵ میلی‌گرم پنتیلن تترازول باشد.

یکسان‌سازی موش‌های صحرایی مورد مطالعه از نظر پاسخ به پنتیلن تترازول

از آنجا که میزان حساسیت و پاسخ نمونه‌های آزمایشگاهی به دوز ثابتی از پنتیلن تترازول، به دلیل تفاوت‌های فردی و خصوصیات ژنتیکی متنوع بوده و دارای پراکندگی نامنظم و بی‌ضابطه‌ای است، موش‌های صحرایی نژاد ویستار پس از یکدست‌سازی از نظر پاسخ به پنتیلن تترازول، جهت بررسی دوز موردنظر عصاره گیاه بادرنجبویه مورد آزمایش قرار گرفتند. بدین‌منظور نمونه‌ها پیش از آزمایش اصلی با دوز ٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنتیلن تترازول تیمار و سپس رفتارهای اپی لپتی فورم حیوان به مدت یک ساعت زیرنظر گرفته شد. در نهایت نمونه‌هایی که پاسخ یکسانی را بروز دادند برای آزمایش اصلی انتخاب و به طور تصادفی در گروه‌های تجربی و کنترل قرار گرفتند. فاصله زمانی میان یکدست‌سازی و آزمایش اصلی دو هفته بود تا زمان لازم برای رفع اثرات پنتیلن تترازول مرحله یکسان‌سازی فراهم باشد.

گروه‌های آزمایشی و نحوه تیمار آنها

۱- گروه کنترل: حلال عصاره (سرم فیزیولوژیک + توئین) و نیم ساعت پس از آن پنتیلن تترازول.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

۲- گروه‌های آزمایشی ۱، ۲ و ۳: به ترتیب مقادیر ۵۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی- الکلی گیاه و نیم ساعت پس از آن پنتیلن تترازول. در همه گروه‌ها پنتیلن تترازول با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق و بلافاصله پس از آن رفتارهای اپی‌لپتی فورم حیوان بر اساس زمان ظهور و دوره دوام مراحل مختلف تشنج ثبت شد. بدین‌ترتیب هر نمونه به مدت یک ساعت جهت بررسی مشخصه‌های رفتاری مراحل مختلف تشنج تحت مشاهده مستقیم و پس از آن تا ٢٤ ساعت در حیوانخانه جهت کنترل مرگ و میر مورد کنترل قرار گرفت. با توجه به سیکل شبانه روزی فعالیت‌های حیاتی (ساعت‌های بیولوژیک) تمامی مراحل آزمایش در بازه زمانی ساعت ۹ صبح الی ١٤ انجام گرفت.

مراحل مختلف و ملاک‌های تشخیص هر مرحله

مرحله صفر: رفتارهای عادی.

مرحله یک: تشنجات منفرد میوکلونیک سر.

مرحله دو: تشنجات بیشتر سر همراه با تکان‌های اندام قدامی.

مرحله سه: تشنج کل بدن و اندام حرکتی قدامی، معمولاً دست‌ها کمی از تکیه‌گاه بلند می‌شود.

مرحله چهار: تشنجات تونیک – کلونیک ژنرالیزه در کل بدن همراه با کلونوس مکرر دست‌ها.

مرحله پنج: چرخش و پرش مکرر حیوان و افتادن به پهلو.

مرحله شش: مرگ

روش‌های آماری

جهت مقایسه نتایج حاصل از بررسی گروه‌های مختلف و تأیید وجود و یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار میان میانگین زمان‌های وقوع مراحل مختلف تشنج از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌ها و به منظور تفکیک گروه‌هایی که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند از آزمون Student's *t*-test بهره گرفته شد. از نظر آماری مقادیر ۰/۰۵ >p معنی‌دار در نظر گرفته شد. کلیه تحلیل‌های آماری و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل انجام شد.

نتایج

نتایج تست آماری ANOVA میان میانگین زمان بروز مراحل مختلف تشنج در بین گروه‌های تجربی و کنترل حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) در بین گروه‌ها می‌باشد. بر این اساس برای تفکیک گروه‌هایی که با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند از آزمون Student's *t*-test استفاده شد.

نتایج مشاهدات مربوط به گروه‌های آزمایشی اول و دوم که نیم ساعت پیش از تزریق پنتیلن تترازول با دوزهای ۵۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی – الکلی گیاه بادرنجبویه تیمار شده بودند نشان می‌دهد که میانگین زمان شروع حملات در تمامی مراحل پنج‌گانه تشنج در مقیاسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) افزایش یافته است (جدول شماره ۱). در گروه آزمایشی سوم (دوز ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به جز در مرحله نخست که میانگین زمان آغاز حملات با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد در سایر مراحل تشنج تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. تجویز عصاره گیاه زمان شروع تشنج تونیک – کلونیک (مرحله چهار تشنج) را از حدود ۷۸ ثانیه در گروه کنترل به ١٠٢/٤ در دوز ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (p<۰/۰۵)، ١٠٥/٦ در دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (p<۰/۰۱) و ٥/١٤٠ در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (p<۰/۰۱) افزایش می‌دهد. از نظر تعداد نمونه‌هایی که حملات تشنجی تونیک – کلونیک (مرحله ٤) را نشان دادند دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعداد وقوع حملات تونیک – کلونیک را از ۱۰۰ درصد در گروه کنترل به ٤٠ درصد کاهش داد. علاوه بر این هر سه دوز مورد آزمایش میزان مرگ و میر را در بازه زمانی ٢٤ ساعت پس از تزریق درون صفاقی پنتیلن تترازول نسبت به گروه کنترل کاهش دادند به طوری که میزان ۹۰ درصد مرگ و میر در گروه کنترل به ٦٠ درصد در دوز ۱۲۰، ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درصد در دوز ۸۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درصد در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش یافت (نمودار شماره ۱).

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

جدول شماره ۱- مقایسه اثرات تجویز درون صفاقی دوزهای ۵۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی- الکلی بادرنجبویه در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار، بر میانگین زمان شروع مراحل مختلف تشنج (بر حسب ثانیه) ناشی از تزریق درون صفاقی دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنتیلن تترازول به مدت نیم ساعت پس از تجویز عصاره بادرنجبویه در گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل

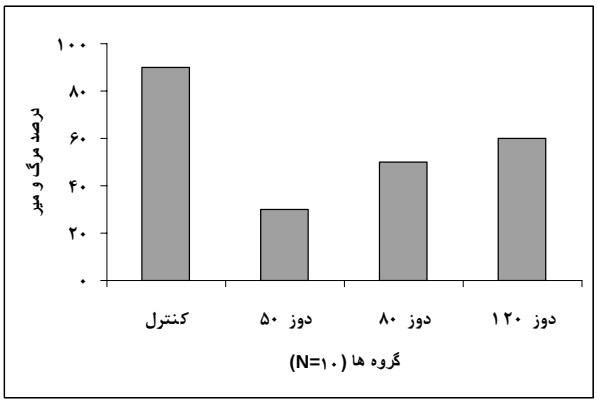
مراحل تشنج / گروه‌ها	مرحله ۱	مرحله ۲	مرحله۳	مرحله ٤	مرحله ٥
گروه کنترل	٦٠/٨ (±٣/٠٥) N=١٠	٦٩/٥ (±٤/٩٦) N=١٠	٧٣/٤ (±٤/٤٨) N=١٠	٧٨/١ (±٥/١٣) N=١٠	٨١/٩ (±٥/٤٩) N=١٠
گروه آزمایشی ۱ (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	٧٤/٥ (± ١/٥٨) *** N=١٠	٨٤/٥ (±٣/٧٣) * N=١٠	٩٧/٤ (±٣/٦٣) *** N=١٠	١٤٠/٥ (±١٤/٣) *** N= ٤	١٤٤ (±١٤/٣٥) *** N= ٤
گروه آزمایشی ۲ (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	٨١/٤ (±٥/٨١) ** N=١٠	٩٠/٧ (±٦/٩) * N=١٠	٩٨ (±٧/٥٨) ** N=١٠	١٠٥/٦ (±٧/٢٥) ** ■ N=١٠	١١٠/٥ (±٨) ** ■ N=١٠
گروه آزمایشی ۳ (۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	٦٨/٧ (±٣/٦٤)	٨٦/٩ (±٥/٧٥) *	٩٧ (± ٨/٠٢) *	١٠٢/٤ (±٨/٤٤) * ■ N=١٠	١٠٥/٦ (٨/٥٢) * ■ N=١٠

داده‌های جدول میانگین (± خطای معیار) مربوط به ده موش صحرایی نر نژاد ویستار در هر یک از گروه‌هاست.

مقایسه گروه کنترل با گروه‌های آزمایشی (Student's *t*-test): $p < ٠/٠٥$ *، $p < ٠/٠١$ **، $p < ٠/٠٠١$ ***

مقایسه گروه آزمایشی ۱ با گروه‌های آزمایشی ۲ و ۳ (Student's *t*-test): $p < ٠/٠٥$ ■

N تعداد نمونه‌هایی که مرحله تشنجی موردنظر را نشان دادند



نمودار شماره ۱- میزان مرگ و میر در بازه زمانی ٢٤ ساعت پس از تزریق درون صفاقی دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنتیلن تترازول برحسب درصد در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار تیمار شده با تزریق درون صفاقی دوزهای ۵۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی - الکلی بادرنجبویه و گروه کنترل

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

اثرات عصاره بادرنجبویه بر طول دوره هر مرحله از تشنج

نتیجه تست آماری ANOVA میان میانگین دوره دوام مراحل مختلف تشنج حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار در مراحل اول تا چهارم تشنج می‌باشد. بر این اساس برای تفکیک گروه‌هایی که با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند از آزمون Student's *t*-test استفاده شد.

بحث

امروزه با توجه به اثرات جانبی منفی داروهای سنتتیک نیاز به یافتن داروهای جدید به ویژه داروهای با منشاء طبیعی که بدون عوارض و یا همراه با عوارض جانبی کم باشند کاملاً احساس می‌شود. در این راستا بررسی علمی بر روی گیاهان دارویی که در طب سنتی کاربرد دارند در حال توسعه و گسترش است. بادرنجبویه گیاهی است که در طب سنتی ایران و دیگر کشورها کاربرد درمانی گسترده‌ای دارد و جزو گیاهان دارویی درجه یک محسوب می‌شود. یکی از خواص ذکر شده برای این گیاه خصوصیت آرام‌بخشی و ضدتشنجی آن است. به همین دلیل در این تحقیق اثرات ضدتشنجی احتمالی عصاره آبی - الکلی این گیاه بر تشنجات فراخوانده توسط پنتیلن تترازول در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت. در این رابطه از میان روش‌های مختلف القاء کننده تشنج، روش شیمیایی به دلیل سهل‌الوصول بودن و ایجاد تغییرات رفتاری اپیلپتیفورم مشهود انتخاب شد. بدین‌منظور از پنتیلن تترازول که ماده‌ای رایج در ایجاد تشنجات تونیک - کلونیک در مدل‌های حیوانی با تجویز سیستمیک است استفاده شد.

پنتیلن تترازول تعادل سیستم‌های مهاری و تحریکی دستگاه عصبی مرکزی را بر هم می‌زند [۲٤]. این ماده آنتاگونیست گابا است و از طریق اتصال به گیرنده گابای A فعالیت کانال کلری جفت شده با این گیرنده را مختل می‌کند. افزون بر این پنتیلن تترازول موجب فعالسازی مدارهای گلوتاماترژیک مرتبط با مسیر Calcium-calmodulin/NOS/NO می‌شود [۲٤]. با توجه به اینکه پنتیلن تترازول با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب ایجاد انقباضات میوکلونیک و تولید حملات ژنرالیزه تونیک - کلونیک منجر به مرگ می‌شود [۲۳]، در تحقیق حاضر از این دوز برای القاء تشنج استفاده شد.

نتایج حاصل تحقیق حاضر نشان می‌دهد که دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر دوزها اثرات ضدتشنجی بیشتری داشته است. با افزایش دوز عصاره گیاه اثرات ضدتشنجی آن کاهش می‌یابد (جدول شماره ۱). داده‌های ارائه شده در جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که عصاره بادرنجبویه دوره زمانی (دوام) مراحل مختلف تشنج را نسبت به گروه کنترل به طور چشمگیری زیاد می‌کند. این نتیجه ممکن است در ابتدا غیرمنتظره به نظر آید. در توضیح این یافته می‌توان چنین استدلال کرد که تجویز عصاره با طولانی کردن دوره زمانی هر مرحله، زمان ورود به مراحل بعدی و در نهایت ورود به مرحله تونیک - کلونیک را به تأخیر می‌اندازد. در گروه کنترل موش‌های صحرایی به سرعت مراحل مختلف تشنج را پشت سر گذاشته و در زمان کوتاهی به مرحله تونیک - کلونیک و سرانجام مرگ وارد می‌شوند. تأخیر در ورود به هر مرحله و یا به عبارت دیگر طولانی شدن دوره زمانی هر مرحله به سیستم‌های دفاعی بدن این فرصت را می‌دهد تا مکانیسم‌های مناسب برای مقابله با اثرات پنتیلن تترازول را فعال نماید. علاوه بر این با خروج تدریجی پنتیلن تترازول از گردش خون اثرات تشنج‌زایی آن رفته رفته کاهش می‌یابد. بنابراین طولانی شدن دوره زمانی مراحل مختلف تشنج در گروه‌های آزمایشی را می‌توان به عنوان یکی از اثرات مثبت عصاره بادرنجبویه تلقی کرد.

گزارش‌های معدود تحقیقات به عمل آمده بر روی اثرات ضدتشنجی عصاره در بعضی موارد موافق و در بعضی موارد دیگر مغایر با نتایج حاصل از تحقیق حاضر است. به عنوان نمونه در تحقیقی که بر روی موش‌های صحرایی ماده انجام شده است دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را مؤثرترین دوز و دوز ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را غیر مؤثر ذکر کرده‌اند [۲۵]. یکی از

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

جدول شماره ۲- مقایسه کلی اثرات تزریق درون صفاقی دوزهای ۵۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی - الکلی بادرنجبویه بر میانگین زمان دوام مراحل مختلف تشنج ناشی از تزریق درون صفاقی دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنتیلن تترازول برحسب ثانیه (± خطای معیار) در گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل

گروه‌ها	مرحله نخست	مرحله دوم	مرحله سوم	مرحله چهارم
گروه کنترل	۸/۷ (±۱/۹۹)	۳/۹ (±۰/۷۳)	٤/۷ (±۱/٤۲)	۳/۸ (±۰/۷۵)
	N=۱۰	N=۱۰	N=۱۰	N=۱۰
گروه آزمایشی ۱	۱۰ (±۲/۹)	۱۳ (±۱/٦۵)	٤۳/۲۵ (±۱٤/۳)	۳/۲۵ (±۰/۲۵)
(۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)		***	***	
	N=۱۰	N=۱۰	N=٤	N=٤
گروه آزمایشی ۲	۹/۱ (±۲/۲۵)	۷/۳ (±۱/۷۷)	۷/٦ (±۲/۳۲)	٤/۹ (±۱/۳۳)
(۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	N=۱۰	N=۱۰	N=۱۰	N=۱۰
گروه آزمایشی ۳	۱۸/۲ (±۱/٦۵)	۱۰/۱ (± ۲/۵۹)	۵/٤ (±۰/۵۹)	۳/۲ (±۰/۲۲)
(۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	**	*		
	N=۱۰	N=۱۰	N=۱۰	N=۱۰

مقایسه گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل (Student 's *t*-test): ۰/۰۵ > *p، ۰/۰۱ > p **، ۰/۰۰۱ > p ***

N تعداد نمونه‌هایی که مرحله تشنجی موردنظر را نشان دادند.

دلایل احتمالی تناقض میان نتایج حاصل از تحقیق حاضر با تحقیقات مشابه قبلی ممکن است به تکنیک‌های آزمایشگاهی به کار رفته در دو تحقیق مربوط باشد. بدیهی است که استفاده از مدل‌های جانوری ماده به دلیل سیکل جنسی و عدم ثبات هورمونی جنس ماده در طول سیکل جنسی نمی‌تواند مدل جانوری مناسبی برای تحقیق باشد. در این رابطه پروژسترون به عنوان یک ضدتشنج طبیعی موجب تقویت سیستم مهاری گابارژیک شده و سنتز گابا و تعداد گیرنده‌های گابای A را افزایش می‌دهد و بالعکس، استروژن به عنوان عامل ایجادکننده تشنج با کاهش کنداکتانس کلری موجب تقلیل اثرات مهاری سیستم گابارژیک و با عمل به عنوان آگونیست گیرنده‌های NMDA موجب تقویت سیستم تحریکی گلوتاماترژیک می‌گردد. علاوه بر این استروژن تعداد سیناپس‌های عصبی تحریکی را نیز افزایش می‌دهد [۲٦]. عدم یکدست‌سازی نمونه‌ها پیش از آزمایش اصلی نیز ممکن است در نتیجه نهایی آزمایش تأثیر بگذارد. موش‌های صحرایی هرچند هم که در شرایط یکسان و از نژاد یکسانی باشند باز هم تفاوت‌های ژنتیکی و فردی میان آنها باعث بروز پاسخ‌های متفاوتی می‌شود.

شواهد موجود نشان می‌دهند که سیستم هدایت کولینرژیک به طریقی پیچیده با صرع در ارتباط است و نقش این سیستم در تولید و گسترش تخلیه‌های الکتریکی صرعی توسط چندین تحقیق آشکار شده است [۲۷،۲۸]. از طرف دیگر عصاره بادرنجبویه به دلیل دارا بودن منوترپن‌ها آنزیم استیل کولین استراز را مهار می‌کند و علاوه‌بر این با اتصال به هر دو گیرنده نیکوتینی و موسکارینی استیل کولین و در نتیجه تنظیم سیستم کولینرژیک در فرآیندهای ادراکی موثر است [۳۱-۲۹]. در عین حال این ویژگی‌ها ممکن است دارای اثرات تشدیدکننده‌ای بر حملات صرعی باشند و شاید عدم تأثیر عصاره در دوزهای بالا بر حملات القاء شده در نمونه‌های آزمایشی به دلیل عملکرد همین ویژگی تقویت کنندگی سیستم کولینرژیک باشد.

از طرف دیگر افزایش کارایی سیستم گابارژیک اگرچه حملات ابسانس را شدیدتر می‌کند ولیکن حملات تونیک-کلونیک القاء شده با پنتیلن تترازول را مهار می‌کند [۳۲]. بر این اساس یکی از مکانیسم‌های احتمالی اثر تسکین‌بخشی و آرام‌بخشی بادرنجبویه ممکن است ناشی از عملکرد مهاری گابا در سیستم اعصاب مرکزی باشد (ماده مؤثر به جایگاه بنزودیازپین بر روی گیرنده گابای A متصل می‌شود). عصاره

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

آبی بادرنجبویه دارای اثر مهاری قوی بر گابا ترانس آمیناز (GABA-T) است [۳۳]. در این ارتباط چنین به نظر می‌رسد که برخی از فلاونوئیدها بر روی بعضی از نرون‌های مهاری (GABA) اثر می‌کنند و موجب تقویت این سیستم مهاری می‌شوند. از آنجاکه عصاره الکلی گیاه نسبت به عصاره آبی آن اثر بیشتری بر سیستم گابا دارد [۳٤] بنابراین چنین به نظر می‌رسد که این قابلیت بیشتر ناشی از فلاونوئیدهای محلول در الکل باشد [۳۵]. علاوه‌بر این عصاره گیاه بادرنجبویه دارای ژرانیول با اثرات خواب‌آوری و ضدتشنجی، کافئیک اسید با اثرات ضدتشنجی [۳٦] و ترکیبات آروماتیک است که در کاهش اضطراب و تنش‌های روانی مؤثرند و اثر آرام بخشی بر سیستم عصبی دارند [۳۷]. بنابراین اثرات ضدتشنجی عصاره بادرنجبویه ممکن است ناشی از مجموعه‌ای از ترکیبات موجود در عصاره بادرنجبویه باشد که تعیین سهم هر یک نیازمند تحقیقات بیشتر و جداگانه است.

در تحقیق مشابهی که بروشکی و همکاران (۱۳۸۲) بر روی موش سوری انجام داده‌اند و در آن یک گروه از موش‌ها به عنوان گروه کنترل مثبت تحت تأثیر فنوباربیتال قرار داده شده بودند نشان داده شده است که اثرات ضدتشنجی عصاره بادرنجبویه کمتر از فنوباربیتال است [۳۸]. با این حال عدم وجود عوارض جانبی و یا عوارض جانبی کم فرآورده‌های طبیعی از جمله عصاره بادرنجبویه نقطه قوت تمایل به استفاده بیشتر از طب گیاهی در مقایسه با طب شیمیایی است.

نتیجه‌گیری

در مجموع، باتوجه به ویژگی‌های عصاره بادرنجبویه و همچنین نتایج حاصل از تحقیق حاضر، بادرنجبویه را می‌توان به عنوان کاندیدایی برای تعدیل حملات صرعی مطرح کرد. عصاره گیاه بادرنجبویه اثرات آرام‌بخشی و خواب‌آوری خوبی دارد ولیکن در مقایسه با داروهای شیمیایی مانند فنوباربیتال عامل ضدتشنج قدرتمندی به حساب نمی‌آید.

منابع

1. Zargari A. Medicinal plants. 4th ed. Tehran University Press. Tehran. 1990, pp: 77 – 81.

2. Anon. Iranian herbal pharmacopoeia. Ministry of Health Publication. Tehran. 2002, pp: 121 – 41.

3. Perry EK, Pickering AT, Wang WW, Houghton P and Perry NS. Medicinal plants and Alzheimer's disease: Integrating ethnobotanical and contemporary scientific evidence [Review]. *J. Alternative and Complementary Medicine* 1998; 4: 419 – 28.

4. Soulimani R, Fleurentin J, Mortier F, Misslin R, Derrieux G and Pelt JM. Neurotropic action of the hydroalcoholic extract of Melissa officinalis in the mouse. *Planta Med*. 1991; 57: 105 – 9.

5. Zou ZW, Xu LN and Tian JY. Antithrombotic and antiplatelet effects of rosmarinic acid, a water-soluble component isolated from radix Salviae miltiorrhizae (danshen). *Yao Hsueh Hsueh Pao*. 1993; 28: 241 – 5.

6. Tagashira M and Ohtake Y. A new antioxidative 1, 3-benzodioxole from Melissa officinalis. *Planta Med*. 1998; 64: 555 – 8.

7. Reiter M and Brandt W. Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea pig. *Arzneim-Forsch/Drug Res*. 1985; 35 (I): 408 – 14.

8. Sadraei H, Ghannadi A and Malekshahi K. Relaxant effect of essential oil of Melissa officinalis and citral on rat ileum contractions. *Fitoterapia* 2003; 74: 445 – 52.

9. May G and Willuhn G. Antiviral effect of aqueous plant extracts in tissue culture. *Arzneimittelforschung*. 1987; 28: 1 – 7.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

10. Dimitrova Z, Dimov B, Manolova N, Pancheva S, Ilieva D and Shishkov S. Antiherpes effect of Melissa officinalis L. extracts. *Acta Microbiologica Bulgarica.* 1993; 29: 65 – 72.

11. Kucera LS and Herrmann EC. Antiviral substances in plants of the mint family (labiatae). I. Tannin of Melissa officinalis. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1967; 124 (3): 865 – 9.

12. Peake PW, Pussell BA, Martyn P, Timmermans V and Charlesworth JA. The inhibitory effect of rosmarinic acid on complement involves the C5 convertase. *J Immunopharmac*. 1991; 13 (7): 853 – 7.

13. López V, Martín S, Gómez-Serranillos MP, Carretero ME, Jäger AK and Calvo MI. Neuroprotective and neurological properties of Melissa officinalis. *Neurochemical Res.* 2009; 34 (11): 1955 – 61.

14. Emam Ghoreyshi M and Talebianpour MS. Antidepressant effect of Melissa officinalis in the forced swimming test. *Daru*. 2009; 17 (1):42 - 7.

15. Dastmalchi K, Damien Dorman HJ, Oinonen PP, Darwis Y, Laakso I and Hiltunen R. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT - Food Science and Technol*. 2008; 41 (3): 391 – 400.

16. Ghayoor N, Behnam-Rassouli M, Afsharian M, Tehranipour M and Ghayoor M. The protective effects of Melissa officinalis leaves usage on learning disorder induced by lead acetate administration during pre and postnatal periods in rats. *Arak Medical University Journal (AMUJ)*. 2010; 13 (1): 97 – 104.

17. Momeni Z, Rostami S, Ghayour N and Behnam-Rassouli M. Evaluating the protective effects of Melissa officinalis on learning deficits of rat's offspring exposed to lead acetate during pre- and postnatal periods. *Armaghan Danesh, Yasuj University of Medical Research Sciences J*. 2010; 14 (56): 48 – 57.

18. Rostami S, Momeni Z, Behnam-Rassouli M, Ghayour N. Comparison of antioxidant effect of Melissa officinalis leaf and vitamin C in lead acetate induced learning deficits in rat. *Daneshvar (Medicine) Shahed University* 2010; 86: 49 – 56.

19. Chung MJ, Cho SY and Lee SJ. Low level of Lemon Balm (Melissa officinalis) essential oils showed hypoglycemic effects by altering the expression of glucose metabolism genes in db/db mice. *Faseb J*. 2008; 22: 1113 – 7.

20. Dekker PA. Epilepsy, A manual for medical and clinical officers in Africa. Revised edition, World Health Organization Geneva 2002.

21. Fisher RS. Animal model of epilepsies. *Brain Res. Rev*. 1989; 14 (3): 245 – 78.

22. Hemmatkhah F. Family doctor guide to epilepsy. 5th ed. Asreketab Press. Tehran. 1385, pp: 5 – 63.

23. Del-Be EA, Oliveira PR, Oliveira JAC, Mishra PK, Jobe PC and Garcia-Cairasco N. Anticonvulsant and proconvulsant roles of nitric oxide in experimental epilepsy models. *Braz J. Med. Biol. Res.* 1997; 30 (8): 971 – 9.

24. Bikjdaouene L, Escames G, Camacho E, Leon J, Ferrer JMR, Espinos A, Gallo MA, Luna JD and Castroviejo DA. Effects of some synthetic kynurenines on brain amino acids and nitric oxide after pentylenetetrazole administration to rats. *J. Pineal Res*. 2004; 36 (4): 267 – 77.

25. Mahmoodi M, Heidari MR and Zohoor AR. Experimental study to evaluate the pretereatment of Melissa officinalis extract against lethal seizures induced by pentylentetrazole in wistar rats. *Journal of Kerman University of Medical Sci*. 2001; 8 (2): 88 – 94.

26. Morrell MJ. Epilepsy in women. *American Family Physician*. 2002; 66 (8): 1489 – 94.

27. Schneider PG and Rodríguez de Lores Arnaiz

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]

G. Ligand binding to CNS muscarinic receptor is transiently modified by convulsant 3-mercaptopropionic acid administration. *Neurochemical Res.* 2000; 25 (5): 637 – 43.

28. Khan G M, Smolders I, Ebinger G and Michotte Y. 2-Chloro-*N* 6-cyclopentyladenosine-elicited attenuation of evoked glutamate release is not sufficient to give complete protection against pilocarpine-induced seizures in rat. *Neuropharmacol*. 2001; 40: 657 – 67.

29. Kennedy DO, Wendy L and Scholey AB. Attenuation of laboratory-induced stress in humans after acute administration of Melissa officinalis (Lemon Balm). *Psychosomatic Medicine* 2003; 66: 607 – 13.

30. Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH and Khani M. Melissa officinalis extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomised, placebo controlled trial. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2003; 74: 863 – 6.

31. Kennedy DO and Scholey AB. The psychopharmacology of European herbs with cognition-enhancing properties. *Current Pharmaceutical Design*. 2006; 35: 4613 – 23.

32. Buckmaster PS, Zhang GF and Yamawaki R. Axon sprouting in a model of temporal lobe epilepsy creates a predominantly excitatory feedback circuit. *J. Neurosci*. 2002; 22: 6650 – 8.

33. Awad R, Levac D, Cybulska P, Merali Z, Trudeau VL and Arnason JT. Effects of traditionally used anxiolytic botanicals on enzymes of the gamma-aminobutyric acid (GABA) system. *Canadian J. Physiology and Pharmacol*. 2007; 85 (9): 933 – 42.

34. Medhat Salah S and Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J. Ethnopharmacol*. 2005; 97: 145 – 9.

35. Gracza L, Koch H and Loffler E. Biochemical-pharmacologic studies of medicinal plants. Isolation of rosmarinic acid from *Symphytum officinale* L. and its anti-inflammatory activity in an in vitro model. *Arch Pharm (Weinheim).* 1985; 318: 1090 – 5.

36. Pierce JMS. A disease once scared. A history of the medical understanding of epilepsy. *Brain.* 2002; 125 (2): 441 - 2.

37. Buchbauer G, Jirovetz L, Jager W, Plank C and Dietrich H. Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation. *J. Pharmaceutical Sci*. 1993; 82: 660 – 4.

38. Boroushaki MT, Malek F and Baharloo A. A comparative study on the anticonvulsive effects of the aqueous extract of the Melissa officinalis plant with Phenobarbital in pentylentetrazol-induced seizures on mice. *J. Medical Faculty Guilan University of Medical Sci.* 2004; 48 (12): 14 - 8.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.14.0]