



تأثیر تزریق هم‌زمان درون‌صفافی هارمالین و PTZ بر مسیرهای سروتونرژیک و گابارژیک و آستانه تشنج در موش آزمایشگاهی نر نژاد NMRI

غلامحسن واعظی* و فاطمه نصیرزاده

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران

مسئول مکاتبات: gn_vaezi@yahoo.com

چکیده

صرع یکی از اختلالات عصبی مزمن در انسان می‌باشد. این بیماری در مجموع از روی حملات متناوب حرکتی، حسی، اتونومیک و یا روانی مشخص می‌گردد. در این بیماری عمل مغز دچار اختلال شده و با علایمی مختلف، ناگهانی، زودگذر و عودکننده همراه است که معمولاً سطح هوشیاری دچار اختلال می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی تداخل عمل تزریق درون‌صفافی هارمالین و PTZ بر آستانه تشنج و تأثیر آن بر مسیرهای سروتونرژیک و گابارژیک می‌باشد. آزمایش‌ها روی موش‌های آزمایشگاهی نژاد NMRI از جنس نر با محدوده وزنی ۲۵ الی ۳۰ گرم انجام گرفت. در این مطالعه موش‌ها به پنج گروه هشت‌تایی گروه‌بندی شدند. دو گروه از موش‌ها به عنوان گروه‌های شاهد به تفکیک مورد تزریق درون‌صفافی ۵mg/kg از داروی هارمالین و ۴۵ mg/kg از داروی PTZ قرار گرفتند. سه گروه از موش‌ها نیز به عنوان گروه‌های تیمار مورد تزریق هم‌زمان ۴۵ mg/kg از PTZ و مقادیر ۵, ۱۰, ۲۰ mg/kg از هارمالین قرار گرفتند. پس از تزریق دارو پاسخ‌های تشنجی به صورت مشاهده مستقیم و به مدت ۲۰ دقیقه ثبت شد. بعد از انجام آزمایشات اطلاعات بدست آمده با استفاده از آزمون‌های آماری Tukey و ANOVA آنالیز گردید. نتایج مطالعه نشان داد آستانه تشنج PTZ برابر با ۴۵mg/kg و آستانه تشنج هارمالین دوز ۵mg/kg بود. به طوری که در پیش‌آزمون استفاده از دوزهای پایین‌تر هیچگونه علائم لرزشی و تشنجی را نشان نداد. همچنین هارمالین به صورت وابسته به دوز و به طور معنی‌داری باعث کاهش آستانه تشنجات گردید. نتایج این مطالعه نشان داد تزریق درون‌صفافی و هم‌زمان هارمالین و PTZ باعث کاهش آستانه تشنجات شد و علائم تشنجی زودتر بروز پیدا کرد.

کلمات کلیدی: هارمالین، PTZ، آستانه تشنج، مسیرهای سروتونرژیک، مسیرهای گابارژیک، موش آزمایشگاهی

مقدمه

غیرطبیعی سلول‌های عصبی در نواحی مختلف مغز می‌باشد [۲۱]. در بیماری صرع یک ناحیه محدود مغزی و یا نواحی گسترده‌ای از مغز، فعالیت خودبه-خودی نشان می‌دهند [۹]. بتاکربولین‌ها دسته‌ای از آکالوئیدها هستند که تحت بررسی‌های زیادی قرار گرفته‌اند [۳۱]. این آکالوئیدها شامل یک هسته ایندول و یک حلقه پیرین می‌باشند [۱۵]. آکالوئیدهای

صرع یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عصبی است [۳۳]، به طوری که که بیش از ۵۰ میلیون نفر در دنیا به این بیماری مبتلا هستند [۳۹]. این بیماری یکی از قدیمی‌ترین بیماری‌هایی است که بشر آن را شناخته است [۱۶]. در واقع بیماری صرع یک اختلال عصبی رفتاری پیچیده ناشی از قابلیت تحریک‌پذیری



اتصال به آگونیست $GABA_A$ طیف وسیعی از اثرات مهاری بنزودیازپین‌ها را ایجاد می‌کند، که مهم‌ترین آنها القاء اضطراب، تحریک CNS و تشنج می‌باشد [۱۴]. براساس گزارشات هارمالین نه تنها می‌تواند بر سیکل رفتاری ترس و اضطراب مؤثر باشد، بلکه قادر است لرزش‌های عضلانی را نیز تحریک کند [۲۲]، که در ایجاد این لرزش‌ها، مسیر زیتونی-مخچه‌ای و هسته زیتونی تحتانی مخچه و نوروترانسمیتر سروتونین دارای اهمیت زیادی است [۳۸]. پنتیلین تترازول (PTZ) از داروهای محرک مغز است که به عنوان یک ماده تشنج‌زا باعث ایجاد صرع عمومی در مدل‌های حیوانی می‌شود [۲۵]. PTZ آنتاگونیست گیرنده گابا است که از طریق اشغال جایگاه پیکروتوکسین گیرنده گابا و مهار کانال کلراید اثرات خود را ایفا کرده و باعث ایجاد تشنج می‌شود. اشغال جایگاه بنزودیازپینی نقش ناچیزی در اثرات آن دارد. تشنجات ایجاد شده به وسیله PTZ معمولاً به عنوان مدل تشنجات عمومی در جوندگان به کار برده می‌شوند [۲۰]. این مطالعه به منظور تعیین آستانه تشنج ناشی از تزریق هم‌زمان و تداخل عمل هارمالین و PTZ و تأثیر آن بر مسیرهای سروتونرژیک و گابارژیک انجام گرفته است.

بتاکربولینی گیاه اسفند شامل هارمان، نورهامان، هارمین، هارمالول و هارمالین می‌باشند [۲ و ۷]. به دنبال بررسی‌های گسترده داروشناسی، دسته وسیعی از گیرنده‌های سیستم عصبی مرکزی که بتاکربولین‌ها به آنها متصل می‌شوند، شناسایی شده‌اند [۱۵، ۳۲، ۳۴ و ۳۶]. این گیرنده‌ها شامل گیرنده‌هایی در مغز از جمله گیرنده ۵-هیدروکسی تریپتامین (۱۵) و گیرنده‌های ایمیدازولین [۳۶] که مهار کننده فعالیت آنزیم MAO_A هستند (۲۴) و بر نوروترانسمیترهای مغزی تأثیر می‌گذارند [۳۶]. بنابر این غلظت آمین‌هایی نظیر نوراپی نفرین، سروتونین و دوپامین در سیناپس عصبی را افزایش می‌دهند [۵]. براساس گزارشات، هارمالین، آلکالوئید اصلی دانه‌ی گیاه اسفند (*Peganum harmala*) بوده که در دوزهای بالا باعث لرزش و تشنج کلونیک می‌گردد [۳۰] و در دوزهای کشنده باعث فلج و کم‌کاری دستگاه تنفس فوقانی می‌شود (۷). به علاوه مطالعات فارماکولوژیکی نشان داده است که هارمالین در دوزهای بالا باعث ایجاد رفتارهای هیجانی در موش می‌گردد [۱۹]. هارمالین یکی از بتاکربولین‌هایی است که باعث تغییرات در موتور حرکتی و فعالیتی سلول‌ها در هسته زیتونی تحتانی و در نهایت تخریب سلول‌های پورکنز می‌شود [۳۷]. بتاکربولین‌ها از جمله هارمالین از طریق

مواد و روش کار

حیوانات آزمایشگاهی: در این تحقیق از موش‌های نر نژاد NMRI با وزن تقریبی ۲۵ الی ۳۰ گرم که از مؤسسه واکسن و سرم‌سازی حصارک کرج خریداری شده بودند استفاده شد. موش‌ها در حیوانخانه‌ی دانشگاه

آزاد اسلامی واحد دامغان با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب و غذای استاندارد موش همیشه به جز در هنگام آزمایشات در اختیار



حیوانات قرار می‌گرفت و از هر حیوان نیز فقط یک بار استفاده شده است.

داروها: هارمالین هیدروکلراید و پنتیلن تترازول (PTZ) از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شدند. هر دو دارو در نرمال سالین ۰/۹٪ حل و به صورت داخل صفافی تزریق گردید.

روش کار: حیوانات به پنج گروه هشت تایی تقسیم شدند. دو گروه از موش‌ها به عنوان گروه‌های شاهد به تفکیک مورد تزریق ۵mg/kg از داروی هارمالین و ۴۵ mg/kg از داروی PTZ قرار گرفتند. سه گروه دیگر به عنوان گروه‌های تیمار مورد تزریق هم‌زمان PTZ با دوز ۴۵mg/kg و هارمالین با مقادیر ۳۰، ۱۰، ۲۰ mg/kg قرار گرفتند. در گروه شاهد برای پیدا کردن دوز مناسب آستانه تشنج PTZ چندین دوز PTZ در چند گروه از موش‌های سوری به صورت داخل صفافی تزریق شد. این دوزها شامل ۳۰ mg/kg، ۴۵، ۴۰، بود که نهایتاً دوز ۴۵mg/kg مناسب تشخیص داده شد و باعث القای تشنجات تونیک-کلونیک در این گروه شد. طبق تعریف آستانه تشنج PTZ عبارت از کمترین مقدار PTZ (برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش) است که جهت ایجاد تشنج تونیک-کلونیک مورد نیاز است [۲۷]. در مورد هارمالین نیز دوز ۵mg/kg به عنوان آستانه تشنج در نظر گرفته شد. به طوری که تزریق درون صفافی دوز ۲/۵ mg/kg از داروی هارمالین باعث بروز تشنج نشد و هیچ‌گونه علامت تشنجی و لرزشی در این دوز مشاهده نشد. پس از تزریق داروها رفتارهای حیوان برای مدت ۲۰ دقیقه تحت نظر گرفته شد و پاسخ‌های تشنجی حیوان به شکل زیر طبقه‌بندی شد:

مرحله صفر = عدم پاسخ
مرحله اول = انقباض‌های گوشی و صورتی به همراه لرزش‌های ملایم، نرم و خفیف
مرحله دوم = موج انقباضی بدن و لرزش‌های متوسط و متناوب در طول بدن
مرحله سوم = تشنج کل بدن و انقباضات میوکلونیک به همراه لرزش‌های مشخص
مرحله چهارم = تشنجات تونیک-کلونیک عمومی توأم با لرزش‌های شدید و افتادن به پهلو
تجزیه و تحلیل آماری: نتایج به دست آمده در این تحقیق با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و به دنبال آن آزمون Tukey مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت، تفاوت با $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ و $p < 0.001$ در هر نقطه از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

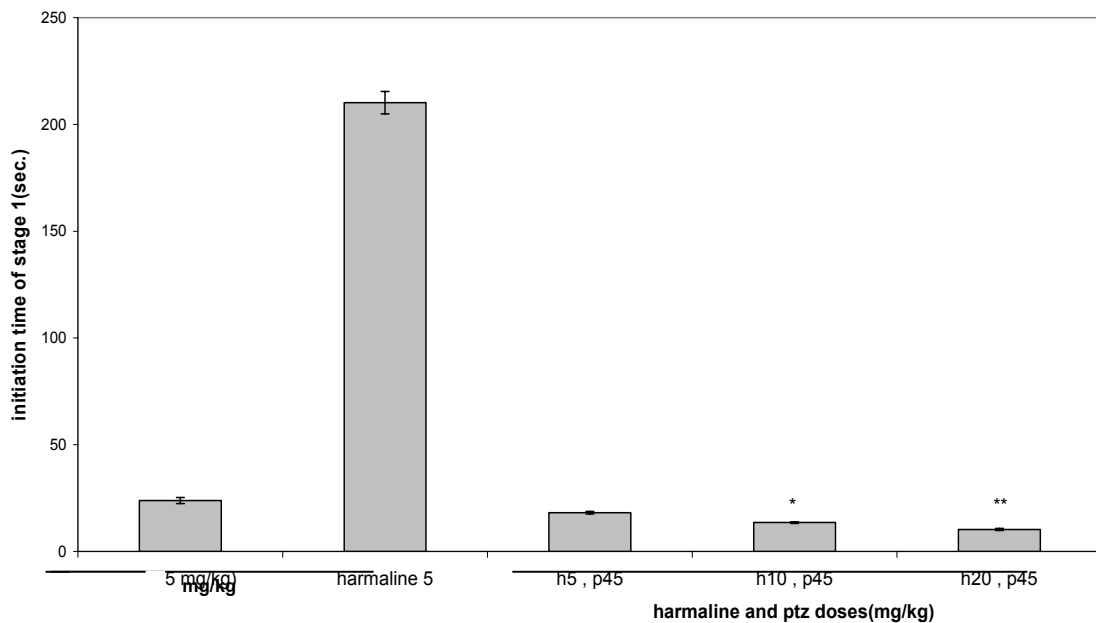
نتایج

میانگین طول دوره تشنج مرحله اول مربوط به PTZ (۴۵mg/kg) برابر با ۲۸/۳۴ ثانیه و در مورد هارمالین (۵mg/kg) برابر با ۶۵/۱۶ ثانیه بدست آمد. این میانگین در رابطه با تزریق هم‌زمان PTZ (۴۵mg/kg) و هارمالین با دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ به ترتیب (از چپ به راست) برابر با ۱۴/۶۷، ۱۴/۱۷، ۳۳/۸۳ ثانیه به دست آمد. میانگین زمان شروع مرحله اول مربوط به PTZ برابر با ۲۳/۸۳ ثانیه و در مورد هارمالین (۵mg/kg) برابر با ۲۱۰/۱۷ ثانیه به دست آمد. این میانگین در رابطه با تزریق هم‌زمان PTZ (۴۵mg/kg) و هارمالین با دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ به ترتیب (از چپ به راست) برابر با



در مقایسه با گروه کنترل مثبت کاهش داد ولی این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود.

۳۳/۱۰، ۱۳/۵۰، ۱۸/۱۷ ثانیه به دست آمد. تزریق درون صفاقی و هم‌زمان ۴۵mg/kg از PTZ به همراه ۵ mg/kg از هارمالین زمان آغاز مرحله اول تشنج را



نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین \pm انحراف از خطای معیار زمان شروع مرحله اول تشنج ناشی از تزریق هم‌زمان مقادیر ۵، ۱۰، ۲۰ mg/kg از هارمالین و ۴۵mg/kg از PTZ با گروه‌های دریافت‌کننده PTZ و هارمالین به طور جداگانه (گروه‌های شاهد) $**p<0.01$, $*p<0.05$

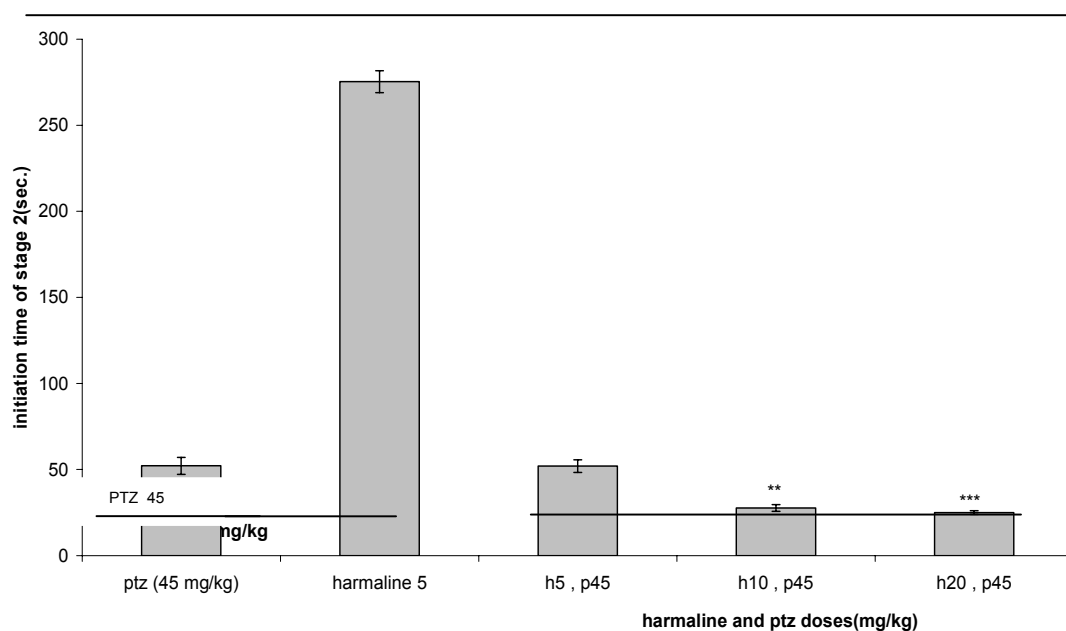
میانگین زمان شروع مرحله دوم مربوط به PTZ برابر با ۵۲/۱۷ ثانیه و در مورد هارمالین (۵mg/kg) برابر با ۲۷۵/۳۳ ثانیه به دست آمد. این میانگین در رابطه با تزریق هم‌زمان PTZ (۴۵mg/kg) و هارمالین با دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ (از چپ به راست) ۲۷/۶۷، ۵۲/۲۷، ۵۲/۲۷ ثانیه به دست آمد. تزریق درون صفاقی و هم‌زمان ۴۵mg/kg از PTZ و ۵ mg/kg از هارمالین

میانگین طول دوره تشنج مرحله دوم مربوط به PTZ (۴۵mg/kg) برابر با ۵۵ ثانیه و در مورد هارمالین (۵mg/kg) برابر با ۹۷/۶۷ ثانیه به دست آمد. این میانگین در رابطه با تزریق هم‌زمان PTZ (۴۵mg/kg) و هارمالین با دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ (از چپ به راست) برابر با ۲۹/۵، ۴۰/۸۳، ۲۵/۸۳ ثانیه به دست آمد.



تأثیر تزریق هم‌زمان درون‌صفافی هارمالین...

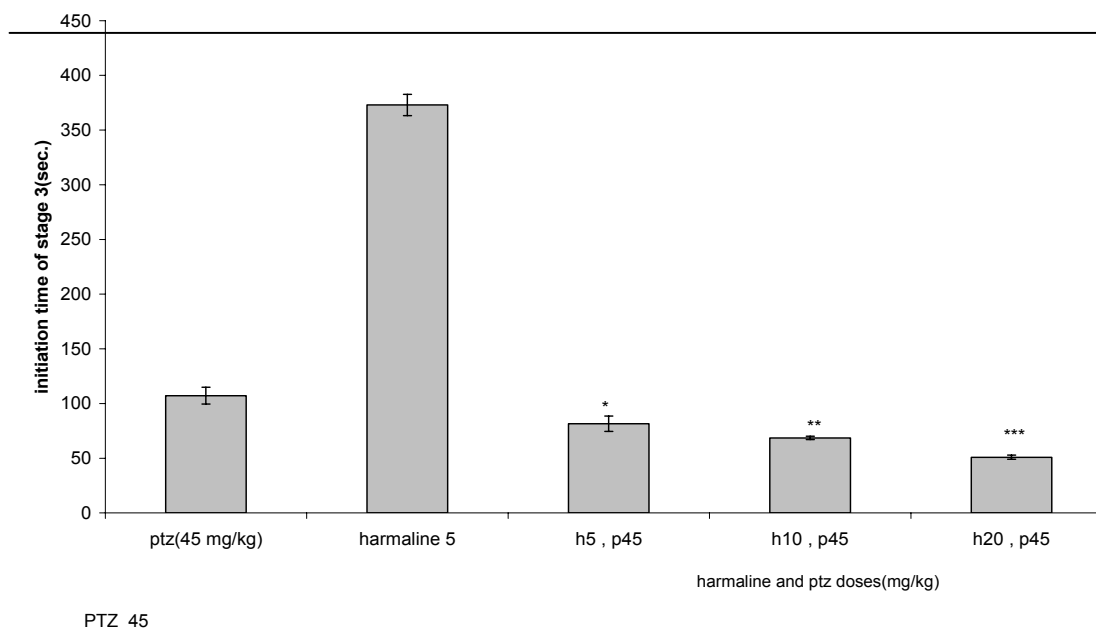
زمان آغاز مرحله دوم تشنج را در مقایسه با دو گروه شاهد کاهش داد ولی این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود.



نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین \pm انحراف از خطای معیار زمان شروع مرحله دوم تشنج ناشی از تزریق هم‌زمان مقادیر ۵,۱۰,۲۰ mg/kg/ip از هارمالین و ۴۵ mg/kg/ip از PTZ با گروه‌های دریافت‌کننده PTZ و هارمالین به‌طور جداگانه (گروه‌های شاهد) $p < 0.01$ و $p < 0.001$.

میانگین زمان شروع مرحله سوم مربوط به PTZ برابر با ۱۰۷/۱۷ ثانیه و در مورد هارمالین (۵ mg/kg) برابر با ۳۷۳ ثانیه به دست آمد. این میانگین در رابطه با تزریق هم‌زمان PTZ (۴۵ mg/kg) و هارمالین با دوزهای ۵, ۱۰, ۲۰ (از چپ به راست) ۵۰/۸۳, ۶۸/۵۰, ۸۱/۵۰ ثانیه به دست آمد.

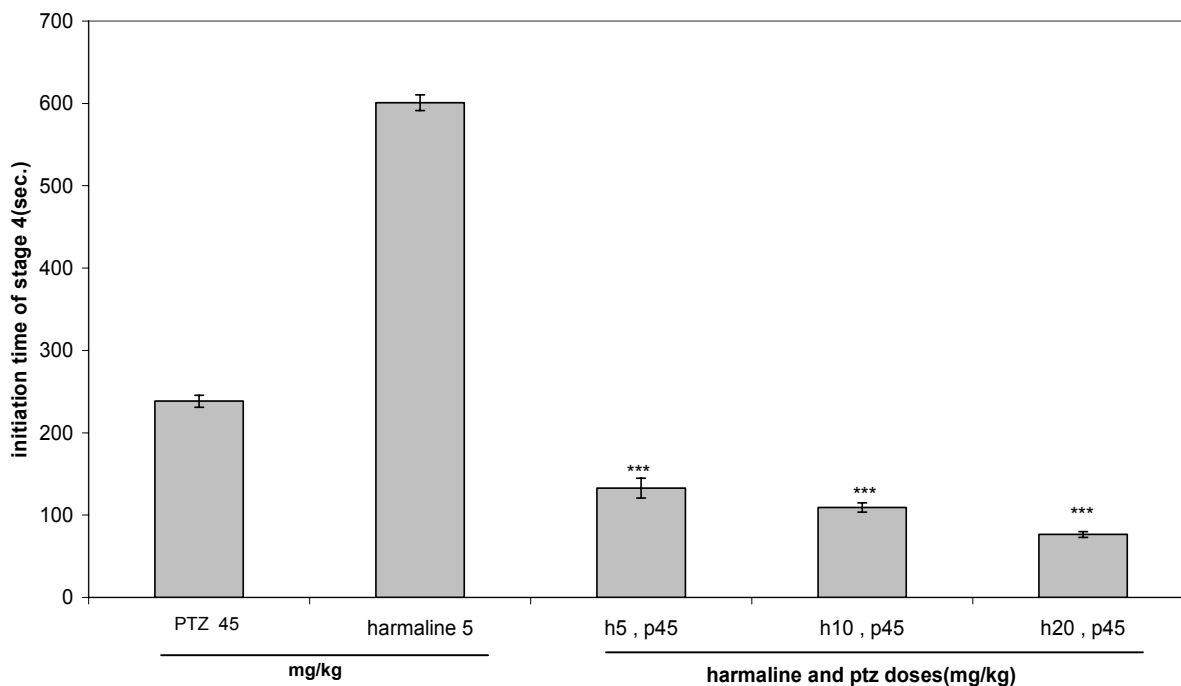
میانگین طول دوره تشنج مرحله سوم مربوط به PTZ (۴۵ mg/kg) برابر با ۱۳۱/۱۶ ثانیه و در مورد هارمالین (۵ mg/kg) برابر با ۲۲۷/۸۳ ثانیه به دست آمد. این میانگین در رابطه با تزریق هم‌زمان PTZ (۴۵ mg/kg) و هارمالین با دوزهای ۵, ۱۰, ۲۰ (از چپ به راست) برابر با ۵۱/۳۳, ۴۰/۶۷, ۲۵/۶۷ ثانیه به دست آمد.



نمودار شماره ۳- مقایسه میانگین \pm انحراف از خطای معیار زمان شروع مرحله سوم تشنج ناشی از تزریق هم‌زمان مقادیر ۵, ۱۰, ۲۰, ۴۵ mg/kg از PTZ با گروه‌های دریافت‌کننده PTZ و هارمالین به طور جداگانه (گروه‌های شاهد) $***p < 0.001$ و $**p < 0.01$, $*p < 0.05$

میانگین در رابطه با تزریق هم‌زمان PTZ (۴۵mg/kg) و هارمالین با دوزهای ۵, ۱۰, ۲۰ به ترتیب (از چپ به راست) ۱۳۲/۸۳, ۱۰۹/۱۷, ۷۶/۵۰ ثانیه به دست آمد.

میانگین زمان شروع مرحله چهارم مربوط به PTZ برابر با ۲۳۸/۳۳ ثانیه و در مورد هارمالین (۵mg/kg) برابر با ۶۰۰/۸۳ ثانیه به دست آمد. این



نمودار شماره ۴- مقایسه میانگین \pm انحراف از خطای معیار زمان شروع مرحله چهارم تشنج ناشی از تزریق هم‌زمان مقادیر $5, 10, 20 \text{ mg/kg}$ از هارمالین و 45 mg/kg از PTZ با گروه‌های دریافت‌کننده PTZ و هارمالین به‌طور جداگانه
 $***p < 0.001$

گروه‌های تیمار با توجه به ثابت بودن دوز PTZ این نتیجه حاصل شد که هارمالین به صورت وابسته به دوز و به‌طور معنی‌داری باعث کاهش آستانه تشنج می‌شود.

بحث

هدف از این مطالعه بررسی تداخل عمل تزریق درون صفاقی هارمالین و PTZ بر آستانه تشنج و تأثیر آن بر مسیرهای سروتونرژیک و گاباارژیک می‌باشد. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که آستانه تشنج

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که آستانه تشنج به دست آمده در موش‌های سوری دریافت‌کننده PTZ برابر با 45 mg/kg می‌باشد. همچنین آستانه تشنج به دست آمده از تزریق درون صفاقی هارمالین مقدار 5 mg/kg بود. تزریق درون صفاقی و هم‌زمان PTZ و هارمالین آستانه تشنج را نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش داد. در واقع تداخل عمل این دو دارو باعث شروع زودتر تشنجات و کاهش آستانه تشنج گردید. همچنین علائم لرزشی و تشنجی با شدت بیشتری بروز پیدا کرد. در



آستانه تشنج به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد و تشنج سریع‌تر آغاز شد. از آنجا که در گروه‌های تیمار مقدار PTZ تزریق شده ثابت است (45 mg/kg) و هارمالین با دوزهای مختلفی ($5, 10, 20 \text{ mg/kg}$) تزریق می‌شود، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که هارمالین به صورت وابسته به دوز و به طور معنی‌داری باعث کاهش آستانه تشنج گردید. به بیان دیگر با افزایش دوز دارو اثرات لرزشی و تشنجی آن هم افزایش می‌یابد و تشنج سریع‌تر آغاز شده، آستانه تشنج کاهش می‌یابد. همچنین تزریق درون‌صفافی (45 mg/kg) PTZ به طور هم‌زمان با مقدار 5 mg/kg از هارمالین زمان آغاز مرحله اول و دوم تشنج را در مقایسه با گروه کنترل مثبت کاهش داد ولی این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود. مشاهدات این پژوهش نشان داد شدت فعالیت تشنجی هارمالین کمتر از PTZ می‌باشد، همچنین علائم تشنجی ناشی از تزریق درون‌صفافی هارمالین خفیف‌تر از PTZ می‌باشد. به بیان دیگر علائم تشنجی هارمالین بیشتر به صورت لرزش یا رعشه (tremor) نمایان می‌شود که تحقیقات انجام گرفته در این زمینه نیز این مسأله را تأیید می‌کند. لرزش یک فعالیت بیش از حد عصبی و قابل توجه در نقاط مشخصی از مغز است که ارتباط نزدیکی با متابولیسم بالای گلوکز دارد [۱۰ و ۱۷]. مطالعات حیوانی ثابت کرده که شلیک نورون‌ها و متابولیسم گلوکز در مخچه و هسته زیتونی تحتانی هنگام لرزش ناشی از هارمالین افزایش می‌یابد [۱۷ و ۱۸]. به دنبال انجام تحقیقی مشخص شده که هارمالین یک لرزش کلی با فرکانس $12-6 \text{ HZ}$ را در بسیاری از گونه‌های پستانداران از جمله موش‌ها تولید می‌کند، که این

در موش‌های سوری دریافت‌کننده هارمالین مقدار 5 mg/kg می‌باشد. به طوری‌که تزریق دوز 5 mg/kg از هارمالین باعث بروز تشنج در حیوانات نشد و هیچ‌گونه علامت لرزشی و تشنجی مشاهده نگردید. همچنین آستانه تشنج ناشی از تزریق درون‌صفافی PTZ مقدار 45 mg/kg بود، به طوری‌که تزریق مقادیر 40 mg/kg و 35 از داروی PTZ باعث ایجاد هیچ‌گونه علائم تشنجی در موش‌های دریافت‌کننده دارو نشد. در این پژوهش نشان داده شد که تزریق درون‌صفافی و هم‌زمان PTZ و هارمالین باعث کاهش آستانه تشنج گردید. بنابراین تداخل عمل این دو دارو بر آستانه تشنج نه تنها اثر کاهشی یا خنثی‌کننده نداشت، بلکه دارای اثری افزایشی در بروز تشنج بوده و آستانه تشنج را کاهش داد. تحقیقات نشان می‌دهد PTZ یک داروی تشنج‌زا و محرک مغز است، همچنین در مقالات متعدد دیگر از هارمالین به عنوان یک داروی هالوسینوزنیک با اثرات لرزشی نام برده شده، بر این اساس هنگامی که این دو دارو به صورت هم‌زمان تزریق شدند نه تنها اثر تشنجی یکدیگر را خنثی نکرده بلکه باعث شروع سریع‌تر تشنج با علائم تشنجی شدیدتر شدند. به نحوی که علائم و اسکورهای تشنجی و لرزشی مختص به هر یک از این داروها نیز به گونه‌ای تداخل پیدا کرده و حیوانات دچار تشنج و لرزش‌های شدیدتر گردیدند و نشانه‌های لرزشی و تشنجی مخصوص به هر یک از داروها را توأم با هم نشان دادند. مقایسه آماری تزریق هم‌زمان مقادیر مختلف هارمالین ($5, 10, 20 \text{ mg/kg}$) و PTZ (45 mg/kg) با گروه‌های شاهد از نظر زمان شروع و طول مدت تشنج نشان داد که در گروه‌های تیمار،



تأثیرات به عملکرد هارمالین در مسیر زیتونی- مخچه- ای مربوط می‌شود [۲۸]. تحقیقات الکتروفیزیولوژیک نشان داده که سروتونین مسیر زیتونی- مخچه‌ای و آوران‌های سروتونرژیک در هسته زیتونی تحتانی اهمیت زیادی در ایجاد لرزش توسط هارمالین دارند [۳۵]. مطالعات بیان‌گر آن است که فعالیت گیرنده‌های سروتونین قادر به تأثیرگذاری بر هسته رافه می‌باشد که بعضی از فعالیت‌های حرکتی حیوان را در رابطه با بروز رفتار لرزش و رعشه تحت تأثیر قرار داده است. سیستم سروتونرژیک از طریق هسته رافه بخش خلفی مغز از جمله مخچه را عصب دهی کرده و بر روی فعالیت- های حرکتی تأثیر می‌گذارد [۶]. نقش قطعی سروتونین در آسیب‌شناسی لرزش توسط محققین متعددی پیشنهاد شده است [۱۱]. گیرنده‌های NMDA نیز در بروز حملات تشنجی دخالت دارند، مطالعات نشان داده که هارمالین گیرنده NMDA و مسیر گلوتامات ارژیک را در هسته زیتونی تحتانی و قشر مخچه فعال می‌کند، به طوری که مهار این گیرنده، لرزش ناشی از هارمالین را کاهش می‌دهد [۱۲].

پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد که PTZ یک داروی تشنج‌زا می‌باشد که آنتاگونیست گابا بوده و با اتصال به جایگاه پیکروتوکسین گیرنده گابا و از طریق مهار کانال کلراید اثرات خود را ایفا و باعث بروز تشنج می‌گردد و اشغال جایگاه بنزودیازپین نقش ناچیزی در اثرات آن دارد [۲۰]. هارمالین نیز از طریق اتصال به جایگاه گیرنده GABA_A طیف وسیعی از اثرات آنتاگونیستی بر علیه بنزودیازپینها ایجاد می‌کند که مهم‌ترین آنها شامل القاء اضطراب، تحریک سیستم اعصاب مرکزی و تشنج می‌باشد [۱۴]. در واقع

هارمالین به صورت آنتاگونیست به گیرنده‌های بنزودیازپینی متصل می‌شود و بخشی از اثرات تشنجی این آکالوئید مربوط به دخالت این گیرنده‌ها می‌باشد. لذا PTZ و هارمالین از طریق تأثیر بر عملکرد گیرنده- های بنزودیازپینی، همچنین گیرنده گابا و سیستم گابارژیک باعث ایجاد تشنج می‌گردند، که در این پژوهش تزریق توأم و هم‌زمان این دو دارو باعث اختلال بیشتر در این مکانیسم‌های مهار شده و تشنج زودتر آغاز می‌شود. در واقع اختلال در مکانیسم‌های مهار می‌مدت طولانی است که به عنوان توجیهی برای آغاز حملات صرعی شناخته شده است [۲۳]. همچنین تحقیقات نشان می‌دهند که هارمالین و PTZ با اثر بر ویژگیهای بیوالکتریک سلول و جریان‌های یونی رو به داخل و رو به خارج غشاء سلول موجب افزایش تحریک‌پذیری آن و بروز تشنج می‌شوند. در طول تشنج القاء شده با PTZ غلظت یون‌های کلسیم داخل- سلولی افزایش و برعکس کلسیم خارج سلولی کاهش می‌یابد [۲۹]. هارمالین نیز هدایت کلسیم را به نورون- های هسته زیتونی تحتانی افزایش می‌دهد که افزایش کلسیم درون‌سلولی نقش مهمی در ایجاد تشنجات بازی می‌کند [۲۶]. کانال‌های کلسیمی از طریق تنظیم آزادسازی نوروترانسمیترها می‌توانند در ایجاد یا کنترل تشنج نقش داشته باشند [۳]. از سوی دیگر برخی محققین نقش کانال‌های پتاسیمی را در صرع زایی مورد بحث قرار داده‌اند. Feher و همکارانش نشان دادند که جریان‌های روبه خارج پتاسیمی توسط PTZ تضعیف می‌شوند. به این ترتیب به نظر می‌رسد که کاهش جریان پتاسیمی و خروج کمتر یون‌های مثبت از سلول آن را تحریک‌پذیرتر نموده و برای فعالیت صرعی



نتایج هارمالین از طریق تأثیر بر مسیرهای سروتونرژیک و گابارژیک باعث ایجاد تشنج می‌شود و مکانیسم صرع زایی PTZ عمدتاً از طریق تأثیر بر سیستم گابارژیک و مهار گیرنده گابا صورت می‌گیرد. تزریق همزمان و تداخل عمل هارمالین و PTZ در این تحقیق باعث افزایش اثر محرکی سیستم‌های سروتونرژیک در بروز تشنج و همچنین اختلال بیشتر در عملکرد مهارتی سیستم گابارژیک و گیرنده‌های گابا گردید، که مهار هرچه بیشتر این گیرنده‌ها روند تشنج-زایی را تسهیل می‌کند. در نهایت می‌توان چنین نتیجه-گیری نمود که اثر محرکی مسیرهای سروتونرژیک در ایجاد تشنج به همراه اختلال در اثر مهارتی مسیرهای گابارژیک باعث تشدید مکانیسم‌های صرع‌زایی شده و آستانه تشنج کاهش می‌یابد.

مستعد می‌نماید [۱۳]. همچنین PTZ فعالیت انفجاری نورون‌ها را به واسطه تغییر در هدایت یونی کانال‌های سدیم تسهیل می‌کند، لذا آستانه تحریک نورون‌ها کاهش یافته و باعث دپولاریزاسیون و بروز تشنج می‌شود [۱]. از طرفی تحقیقات گذشته نشان داده که هارمالین نیز از طریق راه اندازی پتانسیل فعال سدیم باعث افزایش شلیک ریتمیک نورون‌های زیتونی تحتانی می‌گردد [۸]. با مورد نظر قراردادن موارد ذکر شده در بالا می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که در این تحقیق تزریق هارمالین همراه با PTZ باعث افزایش اثر بر روی جریان‌های یونی مؤثر در ایجاد صرع شده، تشنج زودتر آغاز و آستانه تشنج کاهش می‌یابد. یافته-های این پژوهش نشان داد که تداخل عمل تزریق درون‌صفافی هارمالین و PTZ بر مسیرهای سروتونرژیک و گابارژیک تأثیرگذار می‌باشد. براساس

منابع

۴-فرزین، د.، سلیمی ا؛ بررسی اثرهارمان، نورهارمان و هارمین بر رفتار نوک زدن القاء شده توسط آپومرفین درجوجه. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، خرداد و تیر ۱۳۸۸، دوره نوزدهم، شماره ۷۰، ص ۸-۱.

۵-فرزین، د.، منصوری ن. ۱۳۸۳. مقایسه اثرات ضد افسردگی هارمان، نورهارمان و هارمین در موش آزمایشگاهی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، پاییز و زمستان ۸۳، سال ششم، شماره ۱۴، ص ۹-۱.

۶-واعظی، غ.، عریان ش، فریدونی م، اعتمادی ل، منافی ف. ۱۳۸۶. اثر استنشاقی آلکالوئیدهای عصاره الکلی دانه اسفند بر بروز رفتار ترس در موش صحرايي بالغ نر با استفاده از مدل رفتاری MAZE

۱-ثمینی، م.، شفارودی ح، اله دینی س. ۱۳۸۴. اثر لیندان بر آستانه تشنجات کلونیک ناشی از پنتیلین تترازول در موش‌های سوری. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه تهران، سال ۶۳، شماره ۷، صفحات ۵۳۷-۵۲۹.

۲-حاجی‌آخوندی، ع. ۱۳۶۶. استخراج آلکالوئیدهای پگانوم هارمالا و بررسی اثرات ضد باکتریایی پیلوریا. پایان نامه دوره دکتری داروسازی، تهران: دانشکده داروسازی تهران.

۳-حافظیه، ک. ۱۳۷۴. درمان دارویی تشنج‌ها، بررسی مکانیسم اثر داروها، تداخل دارویی و عوارض آنها. پایان نامه کارشناسی ارشد، تهران: دانشگاه علوم پزشکی ایران.



- 13- Feher, O., Erdelyi L., Papp A. (1988), The effect of pentylenetetrazol on the metacerebral neuron of *Helix pometia*. Gen Physiol Biophys, 7: 505-516.
- 14- Fuentes, J.A., Longo V.G. (1971), An investigation on the central effects of harmine and related beya-carbolines. Neuropharmacology, 1971; 10: 15-23.
- 15- Glennon, R.A., Dukat M., Grella B., Hong S.S., Costantino L., Teitler M., Smith C., Egan C., Davis K., Mattson M.V. (2000), Binding of beta-carbolines and related agents at serotonin (5-HT(2) and 5-HT(1A)), dopamine (D(2)) and benzodiazepine receptors. Drug and Alcohol Dependence 60(2): 121-132.
- 16- Gorji, A., Ghadiri K.M. (2001), History of epilepsy in medieval Iranian medicine. Neurosci Biobehav Rev, 25: 455-61.
- 17- Hallet, M., Dubinsky R.M. (1993), Glucose metabolism in the brain of patients with essential tremor. J Neurol Sci, 114: 45-8.
- 18- Headley, P.M., Lodge D., Duggan A.W. (1976), Drug induced rhythmical activity in the inferior olivary complex of the rat. Brain Res, 101: 271-86.
- 19- Hillber, P.C., Hapillon P. (2005), Effect of harmaline on anxiety related behavior in mice. J. Physiol- Behave., 86(1-2): 164-167.
- 20- Huang, R.Q., Bell-Horner C.L., Dibas M.I., Covey D.F., Drewe J.A., Brown, D. (1995), Encyclopedia of Herbs and Their Uses. New York: DK Publishing, Inc, 265 pp.
- 8- Catterall, W.A. (1987), Common modes of drug action of Na channels: Local anaesthetics, antiarrhythmic and anticonvulsants. Trends Pharmacol Sci, 8:57-65
- 9- Cavalheiro, E.A., Leite J.P., Bortolotto Z.A., Turski W.A., Ikonomidou C., Turski L. (1991), Long term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. Epilepsia, 32(6):778-82.
- 10- Colebatch, J.G., Findley L.J., Frackwiall R.S.J., Marsden C.D., Brooks D.J. (1990), Preliminary report: activation of the cerebellum in essential tremor. Lancet, 336:1028-30.
- 11- Du, W. and Harvey J.A. (1977), Harmaline-induced tremor and impairment of learning are both blocked by dizocilpine in the rabbit. Brain Res, 745: 183-8.
- 12- Eblen, F., Loschmann P.A., Wullner V., Terski L., Klockgether T. (1996), Effect of 7-nitroindazol,NG nitro-L-arginine on harmaline induced postural tremor,N-methyle-D-aspartat-induced seizure and lisuride-induced votations in rats with nigral 6-hydroxydopamine lesions. Eur. J. Pharmacol, 299: 9-16.



- 27- Loscher, W, Honack D, Fassbender CP, Nolting B. (1991), The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylentetrazol seizure models. *Epilepsy Res*, 8: 171-189.
- 28- Lutes J, Lorden JF, Beales M, Oltmans GA. (1988), Tolerance to the tremorogenic effects of harmaline: evidence for altered olivocerebellar function. *Neuropharmacology*, 27: 849-55.
- 29- Meyer, FB, Anderson RE, Sundt TM. Jr. (1990), Anticonvulsant effects of dihydropyridine Ca antagonists in electrocortical shock seizure. *Epilepsia*, 31: 68-74.
- 30- Muhi-eldeen, Z, Al Shamma KJ, Al Hussainy TM, Al Kaissi EN, Al Daraji AM, Ibrahim H. (2008), Acute Toxicological Studies on the Extract of Iraqi *Peganum Harmala* in Rats. *European journal of Scientific Research*, 22: 494-500.
- 31- Pfau, W, Skog K. (2004), Exposure to β -carbolines norharman and harman. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 802(1): 115-126.
- 32- Pimpinella, G, Palmery M. (1995), Interaction of β -carbolines with central dopaminergic transmission in mice: structure activity relationships. *Neuroscience Letters*, 189(2): 121-124.
- Dillon G.H. (2001), Pentylentetrazole-induced inhibition or recombinant gamma - aminobutyric acids type A receptors: mechanism and site of action. *J. Pharmacol Exp. Ther*, 298: 986-995.
- 21- Kandel, E.R., Schwartz J.H., Jessell T.M. (2000), Principle of neural science. In: Westbrook GL. *Seizures and epilepsy USA: MacGra-Hill*, 910-1034.
- 22- Kartal, M., Altum M.L., Kurucu S. (2003), HPLC method for the analysis of harmol, harmolol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala*. L. *Pharmaceut. Biomed. Analysis*, 2: 263-269.
- 23- Kiliam, M., Freg H.H. (1973), Central monoamines and convulsive threshold in mice and rats. *Neuropharmacology*, 12: 681-692.
- 24- Kim, H, Sablin SO, Ramsay RR. (1997), Inhibition of monoamine oxidase A by β -carboline derivatives. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 337(1): 137-142.
- 25- Kondziella, D., Hammer J., Sletvold O., Sonnewald U. The pentylentetrazol-kindling model of epilepsy in SAMP8 mice: glialneuroal metabolic interactions. *Neurochem.Int*, 2003; 43: 629-637.
- 26- Llinas, R. (1991), The non continuous nature of movement execution. In: Humphrey DR, Freund HJ, eds. *Motor control: Concepts and issues*. Chichester, UK: Wiley, 223-224.



- 37- Takahashi, H. (2000). Fear-Induced Hallucination: Howsleep Paralysis Triggers Hallucination. *J. Biology*, 227: 169-122.
- 38- Welsh, J.P, Placantonakis DG, Wavsetsky SI, Marquez RG, Bernstein L, Archer SA. (2002), The serotonin hypothesis of myoclonus from the perspective of neuronal rhythmicity. *Adv. Neurol.*, 89: 307-29.
- 39- White, H.S. (1999), Comparative anticonvulsant and mechanistic profile of the established and newer antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 40(Suppl. 5): S2-10.
- 33- Rogawski, MA. (2000), KCNQ2/KCNQ3 K channels and the molecular pathogenesis of epilepsy: implications for therapy. *TINS*, 23: 393-8.
- 34- Rommelspacher, H, May T, Salewski B. Harman(1-methyl-betecarboline) is a natural inhibitor of monoamine oxidase type A in rats. *European Journal of Pharmacology*, 1994; 252(1): 51-59.
- 35- Sjolund, B, Bjorklund A, Wikilund L. (1977), The indolaminergic innervation of the inferior olive. 2. Relation to harmaline-induced tremor. *Brain Res*, 131: 23-37.
- 36- Squires, EP, Hills CE, Rogers GJ, Garland P, Farley SR, Morgan NG. (2004), The putative imidazoline receptor agonist, harmane, promotes intracellular calcium mobilization in pancreatic bete-cells. *European Journal of Pharmacology*, 501(1-3):31-39.

