



مقاله پژوهشی

بررسی تاثیر منتول بر یادگیری، حافظه فضایی و بیان ژن GABBR2 در موش‌های صحرائی نر صرعی شده با پنتیلین تترازول

آزاده کریمی انجیرکی^۱، رامش احمدی^{۲*}، حمیدرضا مهاجرانی^۳

^۱ گروه زیست شناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

^۲ گروه زیست شناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

^۳ گروه میکروبیولوژی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

* (نویسنده مسئول مکاتبات): ramahmd@yahoo.com

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۰

چکیده

بین بیماری صرع و کاهش حافظه روزانه، یادگیری و اختلال رفتاری ارتباط وجود دارد لذا در این تحقیق تاثیر منتول بر یادگیری و حافظه فضایی و بیان ژن گیرنده گابا در موش‌های صرعی مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق ۶۰ سر موش صحرائی به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند، شامل گروه‌های کنترل، اتانول، (PTZ ۳۷/۵ mg/kg)، منتول (۳۰ mg/kg) و PTZ+ethanol+Menthol. کیندلینگ شیمیایی طی یک دوره ۲۸ روزه با تزریق ۱۴ نوبت پنتیلین تترازول بصورت یک روز در میان ایجاد شد، سپس یادگیری و حافظه فضایی به وسیله دستگاه ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفت. سپس حیوانات بیهوش شده و مغز آنها برای بررسی بیان ژن GABBR2 جدا گردید، برای آنالیز آماری داده‌ها، از آزمون ANOVA یکطرفه و دوطرفه و آزمون توکی در سطح معنی داری $P < 0/05$ و برای بیان ژن نیز از تست دلتا سی تی استفاده شد. PTZ یادگیری و حافظه را کاهش داد و منتول توانست از این نقص جلوگیری کند و یادگیری و حافظه را افزایش دهد، همچنین منتول توانست بیان ژن GABBR2 را در موش‌های صرعی افزایش دهد. پیش درمانی با منتول در موش‌های صرعی شده با پنتیلین تترازول، بطور محسوسی از بروز صرع جلوگیری کرد. منتول یادگیری، حافظه فضایی و بیان ژن گیرنده گابا را در موش‌های صرعی شده افزایش داد، بنابراین احتمالاً منتول می‌تواند یک انتخاب مناسب جهت درمان و کاهش اختلالات یادگیری و حافظه ناشی از صرع باشد.

کلیدواژه‌ها: صرع، منتول، هیپوکمپ، پنتیلین تترازول، یادگیری، حافظه فضایی، گابا.

مقدمه

فرایند صرع‌زایی تا حدودی برگرفته از مطالعات حیوانی [۲]، مانند کیندلینگ الکتریکی و شیمیایی می‌باشد [۳]. کیندلینگ فرایندی است که طی آن تحریک‌های زیر آستانه ای مکرر باعث ایجاد تشنج در حیوان می‌شوند [۴]. مطالعات نشان داده اند که

صرع یک بیماری عصبی با شیوع حدود ۱% در جامعه انسانی می‌باشد که در طی آن تخلیه‌های نورونی و تشنج‌های مکرر به علت افزایش تحریک‌پذیری نورونی دیده می‌شود [۱]. دانش ما از

متعاقب کیندلینگ در نورون‌های هیپوکمپ، مرگ سلولی بواسطه آپوپتوز رخ می‌دهد [۵]. پنتیلین تترازول یکی از رایج ترین مواد تشنج زای آزمایشگاهی می‌باشد. پنتیلین تترازول آنتاگونیست گیرنده ی گابا است که با مهار گابا مانع از مهار نورونی شده و در نتیجه فعالیت نورونی افزایش می‌یابد و به دنبال آن تشنج رخ می‌دهد [۶-۸]. از میان پاتولوژی‌های متعدد که متعاقب تشنج ایجاد می‌شوند شایعترین آنها از بین رفتن نورون‌ها می‌باشد که باعث ایجاد اختلال در یادگیری و حافظه می‌شوند [۹]. در انسان و همچنین حیوانات مهم ترین مکانیسم‌هایی که به وسیله آنها، محیط، رفتار را تغییر می‌دهد، یادگیری و حافظه است. یادگیری از مهم ترین فرایندهای سیستم عصبی مرکزی می‌باشد و در واقع یک رویداد سیناپسی است که نتیجه تغییرات در رفتار بوده و ناشی از تجربه است. رفتار نتیجه برهمکنش محیط و ژنهاست، حافظه توانایی فرد است برای گزارش اطلاعات و به یادآوری آنها، هر زمان که مورد نیاز باشد [۱۰]. حافظه فضایی به حیوانات کمک می‌کند تا به خاطر بیاورند که اطلاعات کسب شده را کجا به دست آورده اند و اینکه این اطلاعات را بایستی کجا به کار برند [۱۱]. قشر مغز، آمیگدال و خصوصاً هیپوکمپ نقش اساسی در تشکیل و ذخیره سازی حافظه فضایی دارند [۱۲]. هیپوکمپ (Hippocampus) نقش حیاتی در بهبود حافظه فضایی ایفا می‌کند، به طوری که آسیب به هیپوکمپ باعث اختلال در عملکرد حافظه ی انسان و حیوانات می‌شود [۱۳]. هیپوکمپ محل اصلی تغییرات سیناپسی طی یادگیری و حافظه بوده و همزمان مستعد تشنج و صرع نیز می‌باشد. ناحیه CA3 هیپوکمپ بیشترین حساسیت را به آسیب ناشی از صرع دارد و فعالیت صرعی از این ناحیه به ناحیه CA1 گسترش می‌یابد [۱۴]. همچنین محققان با بررسی بیماری صرع در کودکان، نشان داده اند بین بیماری صرع و کاهش حافظه روزانه، همچنین یادگیری و اختلال رفتاری ارتباط وجود دارد [۱۵-۱۷]. گابا^۱ (GABA) نوروترنسمیتر مهاری اصلی است که در تمام نواحی مغز انسان یافت می‌شود همچنین تحقیقات نشان داده اند که گابا در تعدیل حافظه نقش دارد [۱۸]. گابا در تعدیل فعالیت نورونی، نقش کلیدی دارد و اثراتش را از طریق گیرنده‌های مختلفی اعمال می‌کند. دونوع گیرنده گابا شناخته شده، گیرنده‌های GABA_A گیرنده‌های یونوتروپیک

هستند و جریان کلری را از خود عبور می‌دهند و گیرنده‌های GABAB که از طریق اتصال به G پروتئین‌ها و فعال کردن آنها و همچنین سیستم پیامبرهای داخل سلولی، باعث تغییر در عملکرد نورون‌ها می‌شوند [۱۹]. اختلال در عملکرد انتقال سیناپسی گابانژژیک، سبب اختلالات سیستم عصبی مختلف می‌شود. فعالیت کم سیستم گابا با اختلالاتی از قبیل صرع مرتبط می‌باشد [۱۹،۲۰]. تغییرات بیان گیرنده گابا با ترکیب زیرواحدی خاصی در نواحی مختلف مغز می‌تواند سبب ایجاد اختلالات عصبی مانند اسکیزوفرنی، صرع، اضطراب، اختلال خواب و اوتیسم شود. مطالعات نشان می‌دهند که یک سوم تا نصف علایم اختلال صرع منشاء ژنتیکی دارند. اغلب جهش‌هایی که باعث به وجود آمدن صرع می‌شوند مربوط به ژنهای کدکننده کانال‌های دریچه دار وابسته به ولتاژ یا وابسته به لیگاند می‌باشند [۲۱]. نشان داده شده که تراکم گیرنده‌های GABA به دنبال تشنج‌های ناشی از کیندلینگ زیاد می‌شود [۲۲]. نقش گیاهان دارویی در یادگیری و حافظه از جمله زمینه‌هایی است که توجه پژوهشگران زیادی را به خود جلب کرده است [۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶]. منتول از جمله ترپن‌هایی است که بعنوان یک ترکیب آلی اصلی در بسیاری از اسانس‌های روغنی معطر از جمله نعناع وجود دارد و بطور مصنوعی نیز تهیه می‌شود. منتول علاوه بر مصارف تجاری، ترکیب عمده بسیاری از گیاهانی است که دارای کاربردهای پزشکی هستند [۲۷]. منتول موجود در عصاره هیدروالکلی نعناع خاصیت آنتی اکسیدانی اثبات شده ای دارد، علاوه بر این منتول دارای اثرات ضد التهابی نیز می‌باشد [۲۸]. منتول با افزایش انتخابی مهار تونیک که بوسیله رسپتورهای با تمایل بالای گابا وساطت می‌شود، تحریک پذیری نورون‌های هیپوکمپ را کاهش داده و از این طریق فعالیت صرعی القا شده توسط کیندلینگ شیمیایی یا الکتریکی را تقلیل می‌دهد [۲۹]. از آنجایی که آنتی اکسیدان‌ها دارای اثرات ضد تشنجی هستند و میزان رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند بنابراین انتظار می‌رود این گیاه در محافظت نورونی و جلوگیری از صرع، و هم چنین یادگیری و حافظه تاثیر مثبت داشته و ممکن است یک راه درمانی مناسب برای اختلالات شناختی و رفتاری ارائه گردد، لذا هدف از این مطالعه بررسی تاثیر منتول بر روی یادگیری و حافظه فضایی و بیان ژن گیرنده گابا در موش‌های صرعی شده با پنتیلین تترازول بود.

¹ Gamma-amino butyric acid

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، از ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم که از انیستیتو پاستور ایران خریداری شدند، استفاده شد. حیوانات بطور تصادفی در ۶ گروه ۱۰ تایی تا زمان انجام آزمایش در قفس‌های استاندارد و تحت شرایط یکسان با دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی گراد با رطوبت نسبی ۲۵-۳۰% و با چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند، همچنین آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار گرفت. در این مطالعه ملاحظات اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق IR.IAU.QOM.REC.1400.087 مصوب کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی - واحد قم، رعایت شد. موش‌ها قبل از شروع تیمار، به مدت ۷ روز در شرایط محیط قرار گرفتند تا به آن عادت کنند. مواد شیمیایی: پنتیلن تترازول و منتول، از شرکت سیگما آلدریج (آمریکا) تهیه شدند.

تیمار حیوانات: حیوانات به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند که عبارت بودند از: گروه کنترل: شامل ۱۰ سر موش که حیوانات این گروه سالین دریافت کردند. گروه اتانول: محلولی از چند قطره اتانول و آب مقطر دریافت کردند. گروه PTZ^۱: که پنتیلن تترازول با دوز (۳۷/۵ mg/kg) دریافت کردند. گروه منتول: که منتول (۳۰ mg/kg) دریافت کردند. گروه‌های پیش تیمار شامل گروه‌های: M+PTZ و E+PTZ. داروها نیم ساعت قبل از تجویز PTZ تزریق شدند، لازم به ذکر است که تمامی تزریقات بصورت درون صفاقی انجام شد. روش ایجاد صرع در حیوانات: برای ایجاد صرع در حیوانات از روش کیندلینگ شیمیایی (داروی پنتیلن تترازول برای القای تشنج) استفاده شد، در تمامی گروه‌ها تزریقات طی یک دوره ۲۸ روزه بصورت هر ۴۸ ساعت یکبار (۱۴ نوبت) انجام شد.

بررسی یادگیری و حافظه فضایی: یادگیری و تثبیت حافظه فضایی توسط ماز آبی موریس بررسی شد. این ماز یک تانک فلزی به قطر ۱۵۰ و عمق ۷۰ سانتی متر است که تا ارتفاع ۵۰ سانتیمتری آن از آب پر می‌شود. ماز به طور فرضی به ۴ ربع مساوی شمالی، جنوبی، شرقی و غربی تقسیم شده و یک سکوی نجات (سکوی هدف) به قطر ۱۰ سانتی متر در وسط یکی از

ربع‌های فرضی آن قرار دارد. این سکو ۵/۱ سانتی متر زیر سطح آب قرار می‌گیرد و قابل دیدن نیست. درجه حرارت آب در حدود ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم می‌شود. ماز در اتاقی قرار می‌گیرد که در آن علائم فضایی مختلفی وجود دارد که در طول آزمایش ثابت بوده و برای حیوان در ماز قابل دیدن است. در واقع حیوان تنها با استفاده از علائم و الگوهای فضایی، محل سکو در ماز را به خاطر می‌سپارد. در بالای ماز یک دوربین دیجیتال با قابلیت دید در تاریکی نصب شده و کلیه رفتارهای حیوان پس از فیلم برداری در حافظه کامپیوتر ذخیره می‌شود تا برای انجام آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گیرد. در پایان هر مرحله از آزمایش فیلم‌های ذخیره شده توسط نرم افزار اختصاصی "ردیاب ۲" آنالیز شده و پس از رسم نقشه شماتیک مسیر حرکت حیوان در ماز، مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده در ماز توسط حیوان به منظور یافتن سکوی نجات تجزیه و تحلیل می‌گردد.

مراحل انجام آزمایش

مرحله یادگیری یا آموزش: طی این مرحله حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه (شمال، جنوب، مشرق و مغرب) ماز در حالی که صورت آن به طرف دیواره ماز بود، در آب رها می‌شد. با توجه به اندازه ماز و نوع حیوان (موش صحرایی) حداکثر زمان آزمایش در هر مرحله ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. در صورتی که حیوان به طور اتفاقی سکوی نجات مخفی در زیر آب را پیدا می‌کرد و روی آن قرار می‌گرفت، به حیوان اجازه داده می‌شد تا به مدت ۱۵ ثانیه روی سکو بماند و با جستجوی اطراف و دیدن علائم موجود در آزمایشگاه موقعیت خود را شناسایی کند. این موضوع به حیوان کمک می‌کرد تا در جلسات بعدی آزمایش با استفاده از علائم بینایی در اتاق محل آزمایش، جایگاه سکو را پیدا کند. لازم به ذکر است که هم علائم فضایی موجود در محل آزمایش و هم موقعیت سکو در یکی از ۴ قسمت ماز در طول آزمایشات ثابت بود. در صورتیکه در مدت تعیین شده موش قادر به پیدا کردن سکوی هدف نمی‌شد، توسط فرد آزمایش کننده به آرامی به سوی سکو هدایت شده تا سکو را یافته و برای ۱۵ ثانیه روی آن قرار گیرد. پس از گذشت این زمان، حیوان از سکو برداشته شده و بعد از خشک شدن با یک حوله به قفس خود برگردانده می‌شد. پس از ۱۰ دقیقه آزمایش مجدداً تکرار می‌گردید

¹ Pentylentetrazole

(Qiagen) تعیین شد. واکنش‌ها با مخلوط کردن ۲ میکرولیتر X RealQ Plus Master Mix، ۱۰ میکرولیتر ۲ cDNA، حاوی SYBR Green (Bio، کره)، عنوان یک عامل بینابینی فلورسنت، ۱ میکرولیتر پرایمر رو به جلو و ۱ میکرولیتر پرایمر معکوس برای هر نمونه تنظیم شدند. همه نمونه‌ها در سه تکرار مورد سنجش قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها در مرحله یادگیری از آنالیز واریانس دو طرفه و متعاقب آن تست توکی و برای مرحله حافظه از آنالیز واریانس یکطرفه و متعاقب آن تست توکی (Tukey) استفاده شد. سطح معنی دار در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. بیان ژن نیز با تست دلتا سی تی ارزیابی شد. نتایج حاصل به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین ارائه گردیده است.

نتایج

مرحله سنجش و یادگیری: الف) مدت زمان سپری شده به منظور یافتن سکوی پنهان: بررسی و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از یادگیری گروه‌های مورد آزمایش بیان می‌دارد که اختلاف بین روزهای ۱ و ۲ و ۴ آزمایش معنی دار است. پنتیلین تترازول در روزهای آزمایش موجب تاخیر زمانی و افزایش مسافت طی شده برای یافتن سکو شد. تزریق درون صفاقی پنتیلین تترازول با دز ۳۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در روز اول یادگیری اختلاف معنی داری نسبت به گروه M+PTZ نشان داد ($P < 0/001$). همچنین در روز اول و دوم یادگیری اختلاف بین گروه منتول (M) و اتانول (E) هم معنی دار بود ($P < 0/01$). بعلاوه در روز دوم یادگیری اختلاف بین گروه‌های E+PTZ و M+PTZ معنی دار بود ($P < 0/01$). گروه M+PTZ در روز چهارم یادگیری کاهش معنی داری نسبت به گروه PTZ نشان داد ($P < 0/05$). لازم به ذکر است که در روز سوم هیچ اختلاف معنی داری بین گروه‌های مورد آزمایش مشاهده نشد. نمودار زمان سپری شده توسط گروه‌های مورد آزمایش در نمودار شماره ۱ نمایش داده شده است.

ب) مسافت طی شده در ماز به منظور یافتن سکوی پنهان: بررسی داده‌ها بین گروه‌های آزمایشی بیان می‌دارد که اختلاف معنی داری بین گروه‌های پنتیلین تترازول و M+PTZ در روزهای اول ($P < 0/001$) و چهارم یادگیری ($P < 0/05$) وجود داشت.

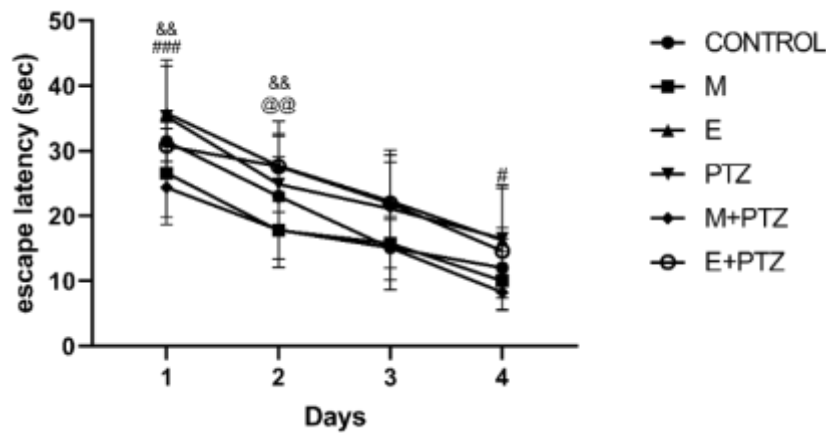
؛ با این تفاوت که محل رها شدن موش در ماز نسبت به مرحله قبل متفاوت بود. در مرحله یادگیری هر موش روزانه ۴ جلسه آموزش با فاصله ۱۰ دقیقه ای را تجربه می‌کرد. در واقع پس از طی دوره ۲۸ روزه کیندلینگ شیمیایی، در روز ۲۹ بررسی یادگیری و حافظه فضایی آغاز شد در مجموع این مرحله از آزمایش (مرحله یادگیری) به مدت ۴ روز طول کشید و طی آن ۱۶ جلسه آزمایش روی حیوانات انجام گرفت. در این مرحله مدت زمان و مسافت سپری شده برای یافتن سکوی پنهان معیار میزان یادگیری قرار گرفت. مرحله بازخوانی: مرحله بازخوانی پس از تکمیل مرحله یادگیری و به منظور اجرای تست حافظه انجام شد. این مرحله از آزمایش برای هر موش یکبار انجام گرفت. در این مرحله (با توجه به اینکه حیوان محل سکوی نجات را می‌داند) سکو از ماز خارج شده و ۶۰ ثانیه فرصت شنا کردن به حیوان داده می‌شد. در نهایت زمان سپری شده و مسافت طی شده در ربع هدف (که در مرحله قبل واجد سکو بود) به منظور بررسی حافظه فضایی مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۸]. بعد از آخرین آزمایش در ماز آبی موریس، رت‌ها تحت شرایط کاملاً بهداشتی با کلروفورم بیهوش شده و سر آنها توسط گیوتین جدا و بر روی تخته یخ بسته قرار داده شد. هیپوکمپ از مغز جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفت و سپس به فریزر ۸۰ - درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

سنتز رشته cDNA و انجام RT-PCR

بافت‌های هیپوکمپ در Wisol همگن شدند سپس RNA کل طبق دستورالعمل سازنده (Wizol™ Reagent، کره) استخراج شد. برای سنتز cDNA به عنوان الگو در واکنش RT-PCR ابتدا غلظت و خلوص RNA استخراج شده به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر NanoDrop OneC (Thermo Fisher Scientific™) تعیین شد سپس با استفاده از کیت تجاری (WizScript™ RT FDMix، کره)، cDNA ساخته شد که روشی را برای حذف DNA ژنومی و رونویسی معکوس فراهم می‌کند. پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر cDNA کل هر ژن هدف طراحی و سنتز شدند (شرکت سیناکولون، تهران، ایران). سطح ژن‌های هدف و β اکتین به‌عنوان ژن کنترل داخلی توسط یک سیستم Rotor-Gene Q real-time PCR system

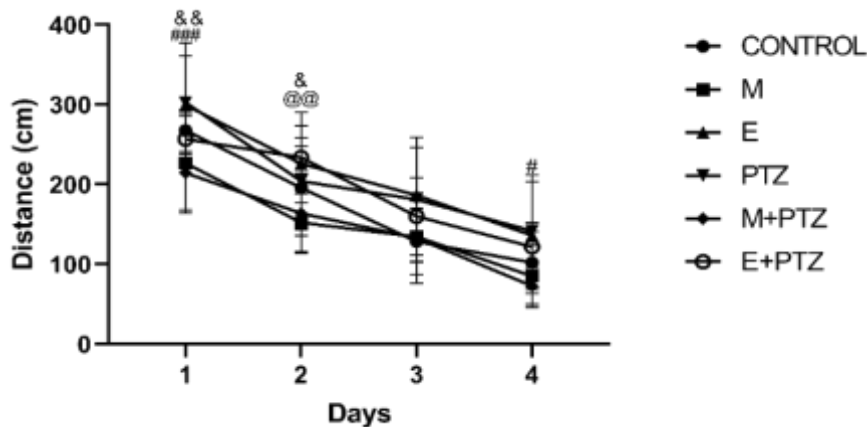
دریافت که اختلاف معنی داری بین گروه‌های کنترل و اتانول ($P < 0/05$)، گروه‌های کنترل و PTZ ($P < 0/05$) در مورد زمان و مسافت طی شده در ربع هدف وجود داشت. اختلاف بین گروه‌های PTZ و M+PTZ در رابطه با زمان و مسافت طی شده در ربع هدف نیز معنی دار بود ($P < 0/01$). همچنین اختلاف معنی داری بین گروه‌های E+PTZ و M+PTZ در مرحله سنجش حافظه فضایی هم در رابطه با مسافت طی شده در ربع هدف و هم در رابطه با مدت زمان سپری شده در ربع هدف وجود داشت ($P < 0/0001$). نمودارهای مربوط به مرحله سنجش حافظه فضایی در نمودارهای ۳ و ۴ و ۵ نمایش داده شده است.

اختلاف معنی داری بین گروه منتول (M) و اتانول (E) در روز اول ($P < 0/01$) و دوم ($P < 0/05$) یادگیری وجود داشت. در روز سوم یادگیری اختلاف معنی داری در رابطه با مسافت طی شده بین گروه‌های مورد آزمایش دیده نشد. نمودار مسافت طی شده در روزهای یادگیری در نمودار ۲ نشان داده شده است. مرحله سنجش حافظه فضایی: بعد از مراحل یادگیری در ماز آبی موریس به منظور بررسی حافظه فضایی در حیوانات، یک مرحله آزمایش با برداشتن سکوی مخفی درون ماز انجام می‌شود. در این مرحله مدت زمان سپری شده در ربع محل قرارگیری سکو مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نمودارهای ۳ و ۴ می‌توان



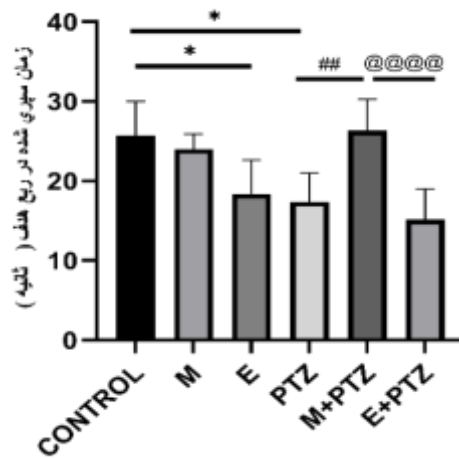
نمودار ۱- زمان سپری شده در ماز به منظور یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات مورد آزمایش

اختلاف با گروه PTZ (#)، اختلاف بین گروه M+PTZ و گروه E+PTZ (@)، اختلاف بین گروه منتول و گروه اتانول (&)

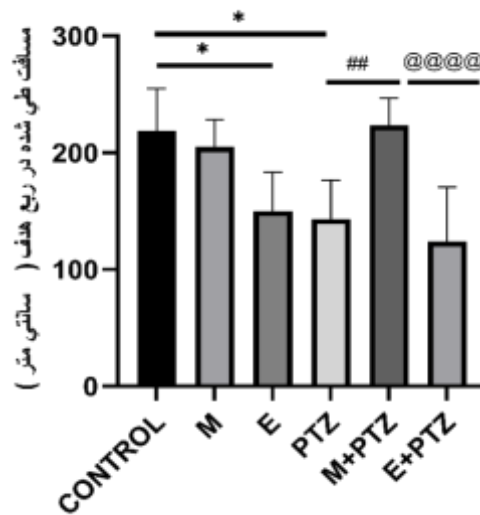


نمودار ۲- مسافت پیموده شده جهت یافتن سکوی پنهان در گروه‌های مورد آزمایش

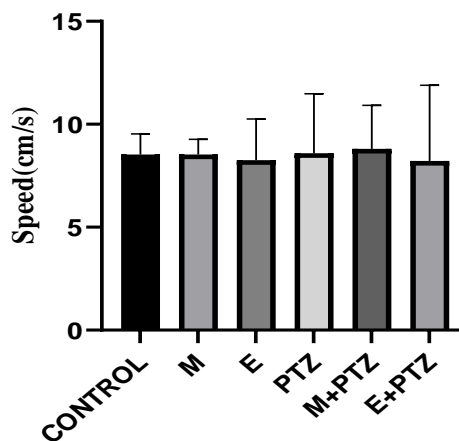
اختلاف با گروه PTZ (#)، اختلاف بین گروه M+PTZ و گروه E+PTZ (@)، اختلاف بین گروه منتول و گروه اتانول (&)



نمودار ۳ - زمان سپری شده در ربع هدف (ثانیه)



نمودار ۴ - مسافت طی شده در ربع هدف (سانتی متر)



نمودار ۵ - سرعت ثبت شده (سانتی متر/ثانیه)

حاضر، اثر منتول بر یادگیری و حافظه فضایی و بیان ژن گیرنده گابا در موش‌های صرعی شده با پنتیلن تترازول بررسی شده است. بیماری صرع، یک اختلال متناوب سیستم عصبی است که از تخلیه ناگهانی، شدید و غیرمنظم نورون‌های مغزی ناشی می‌شود. تخلیه مذکور موجب اختلال حسی، فقدان هوشیاری، اختلال کارکرد روانی و اختلال حافظه در بیماران صرعی با تشنج‌های پارشیال یا عمومی خواهد شد. نتایج این مطالعه نشان داد که پنتیلن تترازول (در مدل کیندلینگ) می‌تواند مشکلات شناختی را به وجود آورد؛ این مشکلات با آنهایی که در بسیاری از بیماران صرعی دیده می‌شود، آنالوگ هستند، به خصوص آنهایی که سبب نقص در یادگیری فضایی شده و باعث افزایش معنی داری در مراجعه به خطاهای حافظه می‌شوند. ثابت شده است که بروز حملات تشنجی منجر به اختلال در حافظه و یادگیری در فرد مبتلا می‌شود [۳۰]، همچنین مشخص شده است که بروز

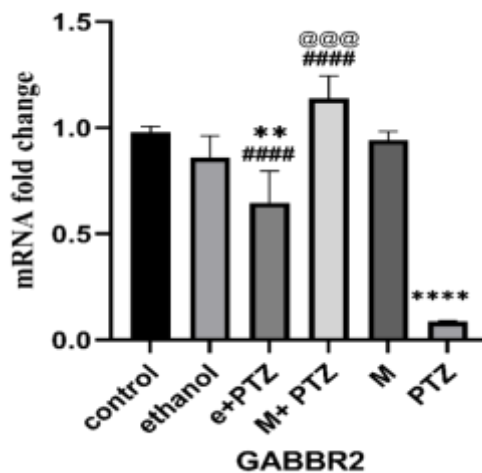
بررسی میزان بیان ژن GABBR2 بوسیله‌ی RT-PCR انجام شد. میزان بیان ژن GABBR2 در گروه PTZ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.0001$)، همچنین اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و E+PTZ وجود داشت ($P < 0.01$). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تفاوت معنی‌دار بین گروه PTZ و گروه‌های E+PTZ و M+PTZ را نشان داد ($P < 0.0001$). همچنین اختلاف بین گروه‌های M+PTZ و E+PTZ نیز معنادار بود ($P < 0.001$). نتایج مربوط به بیان ژن گیرنده گابا در نمودار ۶ نشان داده شده است.

بحث

علت عمده توجه به استفاده از طب سنتی و گیاهان دارویی در کنترل بیماری‌ها این است که گیاهان دارویی از قرن‌ها پیش مورد استفاده پزشکی بوده‌اند و اثرات درمانی کم‌ضرر بودن آنها در طول سالیان متمادی به اثبات رسیده است. در مطالعه‌ی

جدول ۱ - توالی پرایمرهای طراحی شده

Beta actin	Forward primer	Sequence (5'→3') CATTGCTGACAGGATGCAGAAGG
	Reverse primer	Sequence (5'→3') TGCTGGAAGGTGGACAGTGAGG
GABBR2	Forward primer	Sequence (5'→3') GCAGAGTGTCAATGACCCTAGT
	Reverse primer	Sequence (5'→3') TGGCAATGTCAATGTTCATCCC



نمودار ۶ - مقایسه میزان بیان ژن گیرنده گابا (GABBR2) در گروه‌های مورد آزمایش
اختلاف با گروه کنترل (*)، اختلاف با گروه PTZ (#)، اختلاف بین گروه M+PTZ و گروه E+PTZ (@)

در ماز آبی می‌شود [۳۶]. GABA نیز به عنوان یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای مغزی نقش مهمی در تشنج و صرع دارد و مطالعات زیادی تغییرات غلظتی GABA یا تغییرات گیرنده‌های آن را در بافت مغزی انسان‌های مصروع نشان داده‌اند [۳۷]. کاهش مهار ناشی از فعالیت گیرنده‌های گابا نیز به دنبال تشنج مشاهده شده است [۳۸]. گزارشاتی نشان داده اند که تعداد نورونهای گاباژیک هم در انسانهای مصروع [۳۹] و هم به دنبال ایجاد کیندلینگ کم می‌شود [۴۰]. در مطالعه ما نیز بیان ژن گیرنده گابا در هیپوکمپ موش‌های صرعی شده با پنتیلین تترازول کاهش یافت، همسو با نتایج ما برخی محققین نتایج مشابه مشاهده کردند، گیرنده‌های GABA در بخش‌هایی از هیپوکمپ افراد مصروع کاهش می‌یابد [۴۱]. اما برخی دیگر از محققین این کاهش را مشاهده نکرده‌اند [۴۲]. در تحقیقی دیگر نشان داده شد که غلظت GABA در حین تشنج افزایش می‌یابد و این افزایش در افراد مبتلا به صرع بیش تر از افراد معمولی است [۱۹]. افزایش تعداد نورون‌های گاباژیک در موش‌های صحرایی مستعد به صرع ژنتیکی [۴۳, ۴۴] و افزایش غلظت خارج سلولی این ماده به دنبال تشنج نیز نشان داده شده است [۴۵]. مطالعات متعدد نشان داده‌اند داروهایی که غلظت گابا را کاهش داده و یا گیرنده گابا را مسدود می‌نمایند، باعث تشنج در گونه‌های مختلف حیوانات آزمایشگاهی می‌شوند، در حالی که داروهایی که میزان گابا را افزایش داده و یا انتقال گابا را بهبود می‌بخشند دارای اثرات ضد تشنجی می‌باشند [۴۶]. گزارشاتی از مداخله ترکیبات اسانس‌های گیاهی با فعالیت رسپتورها و کانال‌های یونی وجود دارد [۴۷]. منتول یکی از این ترکیبات است. مطالعاتی نشان دادند که منتول با افزایش انتخابی مهار تونیک که بوسيله رسپتورهای با تمایل بالای گابا وساطت می‌شود، سبب کاهش تحریک پذیری نورون‌های هیپوکمپ شده و از این طریق باعث کاهش فعالیت صرعی القا شده توسط کیندلینگ شیمیایی یا الکتریکی می‌شود [۲۹]. بررسی‌های ما نشان داد که تزریق دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم منتول قبل از تجویز پنتیلین تترازول باعث افزایش بیان ژن گیرنده گابا شد، در واقع یکی از مکانیسم‌های ضد تشنج، فعالسازی سیستم مهارتی گابا است و بنزودیازپین‌ها نقش اساسی را در تثبیت سیستم عصبی بر عهده دارند [۴۸]. با توجه به این ویژگی مهم بنزودیازپین‌ها، در صورتی که اجزایی از

اختلال یادگیری، حافظه و مشکل شناختی در مدل‌های تجربی صرع در حیوانات آزمایشگاهی قبلاً مورد تایید قرار گرفته است [۳۰, ۳۱]، یکی از بخش‌های درگیر در صرع، لوب گیجگاهی است و هیپوکمپ نیز بخشی از این لوب محسوب می‌شود که نقش مهمی در حافظه و یادگیری کوتاه مدت دارد [۳۲]. هیپوکمپ نقش حیاتی در بهبود حافظه فضایی ایفا می‌کند، طوری که آسیب به هیپوکمپ باعث اختلال در عملکرد حافظه انسان و حیوان می‌شود [۱۳]. نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که پنتیلین تترازول با دوز ۳۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای آزمایش، موجب تاخیر زمانی و افزایش مسافت طی شده برای یافتن سکو طی ۴ روز یادگیری در آزمون ماز آبی موریس شد همچنین در روز پنجم آزمایش (مرحله آزمون برای بررسی حافظه فضایی) زمان ثبت شده و همینطور مسافت طی شده در ربع هدف در گروه پنتیلین تترازول کاهش چشمگیری را نشان داد، که می‌توان این موارد را به کاهش میزان یادگیری و اکتساب حافظه فضایی در موش‌های صحرایی در ماز آبی موریس تفسیر کرد. یافته‌های مطالعه حاضر در پی کیندلینگ ناشی از پنتیلین تترازول، با نتایج مطالعه Hamm و همکاران که نشان دادند پنتیلین تترازول نقص یادگیری فضایی را در ماز آبی موریس القا می‌کند، مشابه بود [۳۳]. Cavazos و همکاران در مطالعه ای دیگر نشان دادند صرع به طور گسترده‌ای باعث آسیب نرونی در ناحیه لیمبیک، خصوصاً هیپوکمپ شده که منجر به اختلالات یادگیری می‌شود [۳۴]. بر اساس پژوهشی مشخص شده است که پنتیلین تترازول غلظت یون Ca درون سلولی را افزایش می‌دهد و همچنین مشخص شده که در این افزایش غلظت، گیرنده‌های NMDA نقش دارد. از سوی دیگر مشخص شده که افزایش Ca در سلول مانع از بروز اثرات مهارتی ناشی از گابا می‌شود [۳۵]، علاوه بر این شواهد بیان می‌دارد که در صرع القا شده توسط تزریق داخل صفاقی پنتیلین تترازول به روش کیندلینگ و تجویز دوزهای افزایش یابنده ماده، نورون‌های دخیل در یادگیری و حافظه در ناحیه هیپوکمپ دچار آسیب شده و همین واقعه در مورد برخی نورون‌های آمیگدال نیز رخ می‌دهد [۳۰] در پژوهشی نشان دادند که در بیماری صرع به احتمال زیاد از دست دادن سلول‌های عصبی گسترده در ناحیه CA3 و ژيروس دنداندار هیپوکمپ باعث افزایش تحریک پذیری رفتاری، اختلال یادگیری و حافظه

حافظه و یادگیری و جلوگیری از صرع (با افزایش بیان ژن گیرنده گابا) موثر باشد و فاکتور مثبتی در نظر گرفته شود.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که منتول می تواند باعث بهبود حافظه و یادگیری فضایی و همچنین افزایش بیان ژن گیرنده گابا B در موش های صرعی شود، و به عنوان یک ترکیب ضد تشنج، از صرع ناشی از تزریق داخل صفاقی پنتیلن تترازول جلوگیری کند. این مطالعه نشان داد که منتول خاصیت درمانی در روند بهبود صرع را دارا می باشد و می تواند به عنوان یک انتخاب مناسب جهت درمان و کاهش اختلالات یادگیری و حافظه ناشی از صرع مورد استفاده قرار گیرد هرچند به منظور اطمینان بیشتر نیاز به مطالعات بیشتری وجود دارد.

منابع

- [1] Banerjee PN, Filippi D, Allen Hauser W. The descriptive epidemiology of epilepsy-a review. *Epilepsy Res.* 2009;85 (1): 31-45.
- [2] Jacobs MP, Leblanc GG, Brooks-Kayal A, Jensen FE, Lowenstein DH, Noebels JL, et al. Curing epilepsy: progress and future directions. *Epilepsy Behav.* 2009 Mar;14(3):438-45.
- [3] Pitkanen A, Lukasiuk K. Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2009 Jan;14 Suppl 1:16-25.
- [4] Gawlowicz M, Reichert M, Wojcierowski J, Czuczwar SJ, Borowicz KK. Apoptotic markers in various stages of amygdala kindled seizures in rats. *Pharmacological Rep.* 2006;58(4):512-8.
- [5] Pretel S, Applegate CD, Piekut D. Apoptotic and necrotic cell death following kindling induced seizures. *Acta Histochemica.* 1997;99(1):71-9.
- [6] Akamatsu N, Fueta Y, Endo Y, Matsunaga K, Uozumi T, Tsuji S. Decreased susceptibility to pentylenetetrazol-induced seizures after low frequency transcranial magnetic stimulation in rats. *Neuroscience letters.* 2001; 310(2):153-6.
- [7] Namvar Aghdash S, Nasirifard S, Safari F. Assessing Anticonvulsant Effect of Aqueous Extract of *Datura Stramonium* Seed on PTZ Induced Seizures in the Male Mice. *SSU_Journals.* 2015; 23(8):782-9.

ترکیبات منتول دارای خصوصیت تحریک کننده گیرنده بنزودیازپینی را دارا باشد می تواند تا حد قابل توجهی تشنج را مهار نماید. به احتمال قوی یکی از مکانیسم های منتول در کاهش تشنج می تواند اثر مواد موجود در آن از طریق فعالسازی سیستم بنزودیازپینی-گابای مغز باشد، بعلاوه اینکه در مطالعات پیشین نشان داده شده که مواد دارای خاصیت آنتی اکسیدانی دارای خاصیت ضد تشنجی هم می باشند. نتایج حاصل از تست های رفتاری این تحقیق نشان داد که تشنج در رت های نر نژاد ویستار باعث کاهش یادگیری و حافظه فضایی گردید، حال آنکه پیش درمانی با منتول (دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) توانست باعث بهبودی یادگیری و حافظه فضایی به دنبال تشنج در رت ها گردد. همچنین زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع هدف در آزمون ماز آبی موریس در گروه M+PTZ از گروه PTZ بیشتر بود، می توان اینطور بیان کرد که پیش درمانی با منتول باعث محافظت نورونی شد و یادگیری و حافظه فضایی را بطور قابل ملاحظه ای بهبود بخشید. مشخص شده است که بروز حالت صرع و حملات تشنجی آن موجب تشدید استرس اکسیداتیو در مغز از جمله در ناحیه هیپوکمپ می گردد که این یکی از دلایل اصلی دژنراسیون نورون ها و نقص یادگیری و حافظه در موش های صرعی می باشد [۳۱]. همچنین شواهد بیان می دارد که مواد با خاصیت آنتی اکسیدانی، قادر به اعمال اثرات ضد صرعی و ضد تشنجی در بدن می باشند [۴۹،۵۰]. علاوه بر این آنتی اکسیدان ها به علت خاصیت حذف کننده رادیکال های آزاد اکسیژن توانایی بهبود یادگیری و حافظه را دارند [۵۱]. آنتی اکسیدان ها قادرند از طریق افزایش پایداری غشاهای سلولی، موجب افزایش مقاومت نورون ها در برابر آسیب اکسیداتیو گردند و از طرفی ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز را در برابر آسیب اکسیداتیو افزایش دهند [۵۲]. همچنین آنتی اکسیدان ها از طریق کاهش دادن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از افزایش تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن در نواحی دخیل در پاتوژنز صرع شامل هیپوکمپ، موجب کاهش شدت و احتمال رخداد تشنج می گردند [۵۳]. از آنجایی که منتول یک آنتی اکسیدان قوی است و مشخصات آنتی اکسیدانی و لیپیدی را در حیوانات بهبود می بخشد [۵۴] و هم خاصیت قوی در حفاظت از نورون ها دارد، به احتمال قوی می تواند با تاثیری که بر روی هیپوکمپ می گذارد بر روی عملکرد

- [8] Morimoto K, Fahnstock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Progress in neurobiology*. 2004; 73(1):1-60.
- [9] Henshall DC, Clark RS, Adelson PD, Chen M, Watkins SC, Simon RP. Alterations in bcl-2 and caspase gene family protein expression in human temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 2000;55(2):250-7.
- [10] Jackson JC, Redish AD. (2006). Hippocampal sharp waves and reactivation during awake states depend on repeated sequential experience. *J Neurosci*. 26 (48): 12415-26.
- [11] Optize B, Mothes HK, Clausen P. (1997). Effects of prenatal ethanol exposure and early experience on radial maze performance and conditioned taste aversion in mice. *Neurotoxicol Teratol*; 19: 185-190.
- [12] Nestler EJ. (2002). Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiology of learning and memory* 78:637-647.
- [13] Chris, M.B. 2017. The role of the hippocampus in recognition memory. *Cortex* 93: 155-165.
- [14] Sendrowski K, Sobaniec W. Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy. *Pharmacological reports* : PR. 2013;65(3):555-65.
- [15] Kadis DS, Stollstorff M, Elliot I, Lach L, Smith ML. Cognitive and psychological predictors of everyday memory in children with intractable epilepsy. *Epilepsy Behav* 2004;5(1):37-43.
- [16] Stores G. School children with epilepsy learning and behavior problems. *Dev Med Child Neurol* 1978;20(4):502-8.
- [17] Parisy P, Bruni O, Luchetti A. The relation between sleeping and epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 2010;52(9):805-10.
- [18] Huang CC., Hsu Ks. (2004), Local protein synthesis and GABA receptors regulate the reversibility of long – term potentiation at murine hippocampal mossy fiber- CA3 synapses. *J physiol*. 91-108.
- [19] Treiman DM, GABAergic mechanisms in epilepsy, *Epilepsia* 2001; 42: 8-12.
- [20] Nagatomo K, Ueda Y, Doi T, Takaki M. and Tsuru N, Functional role of GABA transporters for kindling development in GLAST KO mice. *Neurosci Res* 2007; 57: 319-321.
- [21] Reid CA, Kullmann DM. 2011. GABAA receptor mutations in epilepsy (Commentary on Lachance-Touchette et al.). *European Journal of Neuroscience* 34: 235.
- [22] Liefwaard LC, Ploeger BA, Molthoff CF, de Jong HW, Dijkstra J, van der Weerd L, Lammertsma AA, Danhof M, and Voskuyl RA. Changes in GABAA receptor properties in amygdala kindled animals: In vivo studies using [11C] flumazenil and positron emission tomography. *Epilepsia* 2009; 50: 88-98.
- [23] Kimani ST, Nyongesa AW. Effects of single daily khat (*Catha edulis*) extract on spatial learning and memory in CBA mice. *Behav Brain Res* 2008; 195(1): 192-7.
- [24] Rao SB, Chetana M, Uma Devi P. Centella asiatica treatment during postnatal period enhances learning and memory in mice. *Physiol Behav* 2005; 86(4): 449-57.
- [25] Vasudevan M, Parle M. Memory enhancing activity of Anwala churna (*Emblica officinalis* Gaertn.): an Ayurvedic preparation. *Physiol Behav* 2007; 91(1): 46-54.
- [26] Amin GR. [Traditional medicinal plants of Iran, Vol. 1. Tehran: Ministry of Health Pub. 1991.28.
- [27] McKemy, D.D., Neuhauser, W.M., Julius, D. (2002). Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature*. 416, 52-58.
- [28] Basak S, Hoffmann A. Crosstalk via the NFkappaB signaling system Cytokine Growth Factor Rev. 2008; 19(3-4): 187–197.
- [29] Zhang, X.B., Jiang, P., Gong, N., Hu, X.L., Fei, D., Xiong, Z.Q., Xu, L., Xu, T.L. (2008). A-type GABA receptor as a central target of TRPM8 agonist menthol. *PLoS One*. 3, e3386.
- [30] Nassiri-Asl M., S.-R. Mortazavi F. Samiee-Rad A.-A. Zangivand F. Safdari S. Saroukhani and E. Abbasi 2010. The effects of rutin on the development of pentylentetrazole kindling and memory retrieval in rats. *Epilepsy & Behavior* 18(1): 50-53.
- [31] Uzum A. K., Salman S., Telci A., Boztepe H., Tanakol R., Alagol F., & Ozbey N. C. 2010. Effects of vitamin D replacement therapy on serum FGF23 concentrations in vitamin D-deficient women in short term. *European journal of endocrinology*, 163(5), 825-831.
- [32] Bianchi M, Fone KFC, Azmi N, Heidebreder CA, Hagan JJ, Marsden CA. Isolation rearing induces recognition memory deficits accompanied by cytoskeletal alterations in rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 2006; 24(10): 2894-902.
- [33] Hamm RJ, Pike BR, Temple MD, O Dell DM, Lyeth BG. The effect of postinjury kindled seizures on cognitive performance of traumatically brain-injured rats. *Exp Neurol* 1995;136(2):143–8.
- [34] Cavazos JE, Sutula TP. Progressive neuronal loss induced by kindling: A possible mechanism for mossy fiber synaptic reorganization and hippocampal sclerosis. *Brain Res* 1990;527(1):1-6.

- [35] Cusack C. L., R. P. Annis A. J. Kole and M. Deshmukh. 2014. Neuronal death mechanisms in development and disease. Cell Death, Springer, 167-188.
- [36] Rattka M, Brandt C, Löscher W. The intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy revisited: Epileptogenesis, behavioral and cognitive alterations, pharmacological response, and hippocampal damage in epileptic rats. *Epilepsy Res* 2013;103(2-3):135-52.
- [37] Treiman DM, GABAergic mechanisms in epilepsy, *Epilepsia* 2001; 42: 8-12.
- [38] Tsai ML. and Leung LS, Decrease of hippocampal GABA B receptor-mediated inhibition after hyperthermia-induced seizures in immature rats, *Epilepsia* 2006; 47: 277-287.
- [39] Houser CR, Miyashiro JE, Swartz BE, Walsh GO, Rich JR. and Delgado-Escueta AV, Altered patterns of dynorphin immunoreactivity suggest mossy fiber reorganization in human hippocampal epilepsy. *J Neurosci* 1990; 10: 267-282.
- [40] Liefwaard LC, Ploeger BA, Molthoff CF, de Jong HW, Dijkstra J, van der Weerd L, Lammertsma AA, Danhof M, and Voskuyl RA. Changes in GABA_A receptor properties in amygdala kindled animals: In vivo studies using [¹¹C] flumazenil and positron emission tomography. *Epilepsia* 2009; 50: 88-98.
- [41] Ure JA. and Perassolo M, Update on the pathophysiology of the epilepsies. *J Neurol Sci* 2000; 177: 1-17.
- [42] Gray L, Seizure and epilepsy. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM (editors), *Principles of neural sciences*, New York: McGraw-Hill 2000; p. 910-35.
- [43] Peterson GM, Ribak CE. and Oertel WH, A regional increase in the number of hippocampal GABAergic neurons and terminals in the seizure-sensitive gerbil. *Brain Res* 1985; 340: 384- 389.
- [44] Roberts RC, Ribak CE. and Oertel WH, Increased numbers of GABAergic neurons occur in the inferior colliculus of an audiogenic model of genetic epilepsy. *Brain Res* 1985; 361: 324-338.
- [45] Kaura S, Bardfors HF, Young AM, Croucher MJ. and Hughes PD, The effect of amygdaloid kindling on the content and release of amino acids from the amygdaloid complex: in vitro and in vivo studies. *J Neurochem* 1995; 65: 1240-1249.
- [46] Miles R, Blaesse P, Huberfeld G, Wittner L, Kaila K. Chloride homeostasis and GABA signaling in temporal lobe epilepsy. In Jasper's *Basic Mechanisms of the Epilepsies*, edn 4. Edited by Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV. Oxford Uni Press; 2012.
- [47] Goncalves, J.C., Oliveira, F.S., Benedito, R.B., de Sousa, D.P., de Almeida, R.N., Araújo, D.A.M. (2008). Antinociceptive activity of (-)- carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. *Biol Pharm Bull.* 31, 1017-1020.
- [48] Duarte F. S., M. Marder A. A. Hoeller M. Duzzioni B. G. Mendes M. G. Pizzolatti and T. C. M. De Lima 2008. "Anticonvulsant and anxiolytic-like effects of compounds isolated from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in rodents: in vitro and in vivo interactions with benzodiazepine binding sites." *Psychopharmacology*, 197(3): 351-360.
- [49] Wu Z., Xu Q., Zhang L., Kong D., Ma R., & Wang L. 2009. Protective effect of resveratrol against kainate-induced temporal lobe epilepsy in rats. *Neurochemical research*, 34(8), 1393.
- [50] Shi X., Yao B. Z., & Liu D. 2010. Lipoprotein lipase expression in the hippocampus and its effects on vitamin E levels in rats with epilepsy. *Zhongguo dang dai er ke za zhi= Chinese journal of contemporary pediatrics*, 12(5), 377-381.
- [51] Scaini S., Ogliari A., Eley T. C., Zavos H., & Battaglia, M. 2012. Genetic and environmental contributions to separation anxiety: A meta-analytic approach to twin data. *Depression and anxiety*, 29(9), 754-761.
- [52] Aziroglu M, Kutluhan S, Uuz AC, Celik O, Bal R, Butterworth PJ. 2009. Topiramate and vitamin e modulate the electroencephalographic records, brain microsomal and blood antioxidant redox system in pentylentetrazol-induced seizure of rats. *The Journal of Membrane Biology*, 229 (3): 131-40.
- [53] Karalija A., Novikova L. N., Kingham P. J., Wiberg M., & Novikov L. N. 2012. Neuroprotective effects of N-acetyl-cysteine and acetyl-L-carnitine after spinal cord injury in adult rats. *PLoS One*, 7(7), 41086.
- [54] Mesbahzadeh B, Garmsiri M, Jalalvand F, Shojaie L, Kakar MA. Oral administration of menthol could alleviate adverse effects of polycystic ovarian syndrome in blood biochemical parameters and antioxidant status in experimental Wister rats. *GMJ Med.* 2017; 1(1): 9-14.

The effect of menthol on learning, spatial memory and GABBR2 gene expression in male epileptic rats with pentylenetetrazole

Karimi anjiraki A.¹, Ahmadi R.^{2*}, Mohajerani H.³

¹ Department of Biology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

² Department of Biology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

³ Department of Microbiology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran.

* (Corresponding author): ramahmd@yahoo.com

Received: December 2021

Accepted: July.2022

Abstract

There is a relationship between epilepsy and decreased daily memory, learning and behavioral disorders, so in this study, the effect of menthol on learning and spatial memory and GABA receptor gene expression in epileptic rats was investigated. In this study, 60 male rats were randomly divided into 6 groups of 10, including control, ethanol, pTZ (37.5 mg / kg), menthol (30 mg / kg) and ethanol + PTZ and Menthol + PTZ groups. Chemical kindling was performed over a 28-day period with 14 injections of pentylenetetrazole every other day, then spatial learning and memory were tested by the Morris water maze. Then, the animals were anesthetized and their brains were isolated for GABBR2 gene expression. For statistical analysis of data, one-way and two-way ANOVA and Tukey test were used at a significant level of $P < 0.05$. Delta CT test was used to express the gene. PTZ decreased learning and memory and menthol was able to prevent this defect and increase learning and memory, also menthol was able to increase GABBR2 gene expression in epileptic rats. Pretreatment with menthol significantly reduced the incidence of epilepsy in epileptic rats with pentylenetetrazole. Menthol increased learning, spatial memory, and GABA receptor gene expression in epileptic rats. Therefore, menthol may be a suitable choice for the treatment and reduction of learning and memory disorders caused by epilepsy.

Keywords: Epilepsy, Menthol, Hippocampus, Pentylenetetrazole, Learning, Spatial Memory, GABA.