



Research Article

Investigating the Anti-epileptic Effect of Aqueous Extract of *Artemisia Absinthium* on Seizures Induced by Pentylentetrazole in Male Rats

Masoumeh Gholami^{1*} , Mehdi Sadegh¹ 

¹. Associate Professor of Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

* **Corresponding author:** Masoumeh Gholami, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran. Email: ma.gholami@arakmu.ac.ir

DOI: [10.32592/cmja.14.1.13](https://doi.org/10.32592/cmja.14.1.13)

How to Cite this Article:

Gholami M, Sadegh M. Investigating the Anti-epileptic Effect of Aqueous Extract of *Artemisia Absinthium* on Seizures Induced by Pentylentetrazole in Male Rats. *Complement MedJ*. 2024;14(1):13-20. DOI: [10.32592/cmja.14.1.13](https://doi.org/10.32592/cmja.14.1.13)

Received: 14 Aug 2024

Accepted: 06 Apr 2024

Keywords:

Aqueous extract of *Artemisia absinthium*
Pentylentetrazole
Rat Seizure

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: Epilepsy is a prevalent brain disease that exerts adverse impacts on the lives of affected people. Therefore, the current study aimed to assess the effect of Aqueous extract of *Artemisia absinthium* on pentylentetrazole (PTZ)-induced seizures in male rats.

Materials and Methods: A total of 30 male rats were randomly selected and assigned to five groups: control, vehicle, and three experimental groups. Treated rats were administered an aqueous extract of *Artemisia absinthium* via i.p. injection at doses of 50, 100, and 200 mg/kg before the injection of PTZ. Subsequently, 30 minutes after injection with different doses of the herb or distilled water (vehicle group), pentylentetrazole (PTZ; 80mg/kg) was injected intraperitoneally. The animals were put in a special cage right away, and a camera watched them for 30 min to record their behaviors. Thereafter, the latency time of seizure onset, stage 5 seizure duration, as well as the incidence and rate of mortality percentage, were measured in the groups. The data was analyzed using a one-way ANOVA test and Tukey's post-hoc tests. Moreover, a difference of less than $P < 0.05$ was considered significant.

Results: The obtained results demonstrated a marked increase in latency to reach stages 4 ($P < 0.01$) and 5 ($P < 0.001$) of tonic-clonic seizure at a dose of 100 mg/kg hyssop extract and decreased stage 5 duration ($P < 0.05$) and rate of mortality percentage.

Conclusion: Intraperitoneal injection of the aqueous extract of *Artemisia absinthium* has anticonvulsant effects on PTZ-induced seizure in a dose-response manner. Therefore, complementary research is recommended to identify the components of this plant that are effective in seizures.

INTRODUCTION

Epilepsy is a common brain disease that affects 1 out of every 100 people in the world. (1). Despite many studies aimed at identifying the pathogenic mechanisms of epilepsy, there are still many unknowns in this field(2). Research has demonstrated that frequent and long-term seizures can lead to cognitive and emotional disorders(3), reduce the quality of life for patients, and increase the risk of injury and even death (4). Uncontrolled epilepsy not only imposes many restrictions on daily activities but also causes damage to brain cells. Therefore, controlling and treating this disease is of utmost importance (5). The use of anti-epileptic drugs is often associated with numerous side effects and drug interactions, and approximately 30% of epilepsy patients have been reported to develop drug resistance (6). As a result, it is essential that research be carried out to discover new anti-epileptic drugs. Numerous studies have been recently conducted on the therapeutic effects of medicinal plants in various diseases, including epilepsy(7). *Artemisia absinthium* is a medicinal plant native to Iran that belongs to the Asteraceae family and the Asteroideae subfamily(8). Studies on the properties of absinthe have illustrated that this plant possesses antioxidant properties that can protect cells from oxidative effects(9), earning it a reputation as an effective antioxidant(10). Reports also indicate that seizures and neurotoxicity caused by pentylenetetrazole (PTZ) result in an increase in the production of free radicals (11), and seizures and epilepsy lead to oxidative damage to cortical areas and hippocampus, resulting in learning and memory disorders (12). Given the antioxidant effects of this plant, it appears that absinthe may be effective in the treatment of epilepsy and convulsions.

METHODS

The present study was carried out on 30 male Wistar rats weighing 180-200 grams. The rats were then assigned to five groups of 6: 1- control (pentylenetetrazole), 2-vehicle group (distilled water), 3- absinthe 50 mg/kg, 4- absinthe 100 mg/kg, and 5- absinthe 200 mg/kg. The ethical principles of working with laboratory animals were followed according to the protocol approved by the Ethics Committee of Arak University of Medical Sciences. The aerial parts of the absinthe plant, including flowers, leaves, and stems, were used to prepare an aqueous extract. Pentylenetetrazole (manufactured by Sigma) with a dose of 80 mg/kg was dissolved in 0.9% normal saline solution after 30 minutes of injecting distilled water to the vehicle group and

plant extract in doses of 50, 100, and 200 mg/kg to the treated groups. It was injected intraperitoneally, and convulsive behaviors were recorded by a camera for 30 minutes. The different stages of seizures were then evaluated according to Racine's classification. In this study, the results are expressed as mean \pm standard deviation. The results were analyzed using GraphPad Prism software, one-way ANOVA, and Tukey's post hoc test. A p-value of less than $p < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

The average time to reach each stage and the duration of the fifth stage of seizures in different experimental groups were analyzed through one-way ANOVA, and the difference between groups was evaluated using Tukey's post-test. Data analysis indicated that absinthe extract at a dose of 100 mg/kg causes a delay in the beginning of stages four ($P < 0.01$) and five ($P < 0.001$) compared to the control group. In addition, this extract at a dose of 100 mg/kg reduced the duration of stage five seizures compared to the control group ($P < 0.05$). Furthermore, the occurrence of the fourth and fifth stages and the percentage of death of animals in the dose of 100 mg/kg were lower compared to other doses of the extract.

CONCLUSION

As evidenced by the results of this study, the aqueous extract of the absinthe plant has a significant effect on improving seizures. Moreover, this extract reduces mortality from seizures in a dose-dependent manner. Therefore, it is recommended that additional research be carried out to identify the effective components of this extract and its mechanism of action.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All experimental protocols were approved by the Ethics Committee at Arak University of Medical Sciences (IR.ARAKMU.REC.1397.372).

Funding

There is no funding support.

Authors' Contributions

MG helped design the study, gather data, analyze it, interpret the results, and review the manuscript. MS assisted with the study design and data analysis. All the authors agreed with the content of the paper.

Conflict of Interest

Non.

Acknowledgments

The authors' deepest appreciation goes to all those who helped us in carrying out this research project.



بررسی اثر ضدتشنجی عصاره‌ی آبی گیاه افسنتین (*Artemisia Absinthium*) بر تشنج‌های ناشی از پنتیلن تترازول در موش‌های صحرایی نر

معصومه غلامی^{۱*}، مهدی صادق^۱

^۱ دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

* نویسنده مسئول: معصومه غلامی، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

ایمیل: ma.gholami@arakmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۲۴	چکیده
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۱۸	مقدمه: صرع نوعی اختلال جدی و شایع سیستم عصبی است که بر جنبه‌های اقتصادی، اجتماعی و زیستی زندگی بشر تأثیر می‌گذارد. علی‌رغم تنوع داروهای ضدتشنج فعلی، تحقیقات برای کشف داروهای جدید با بیشترین اثربخشی و کمترین عوارض جانبی ادامه یافته است. در این مطالعه، اثر ضدتشنجی عصاره‌ی آبی گیاه افسنتین بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول (PTZ) در موش صحرایی نر بررسی شد.
واژگان کلیدی: تشنج، عصاره‌ی آبی افسنتین، پنتیلن تترازول، موش صحرایی	روش کار: در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی نر در محدوده‌ی وزنی ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم به‌طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند. همه‌ی تزریقات به شکل داخل‌صفاقی انجام شد. گروه حلال آب‌مقطر و گروه شاهد پنتیلن تترازول ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرد و به سه گروه دیگر دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی گیاه افسنتین تزریق شد. برای بررسی اثر عصاره بر حملات تشنجی، بعد از ۳۰ دقیقه از تزریق عصاره، به حیوانات تمام گروه‌ها پنتیلن تترازول (PTZ) تزریق شد و مؤلفه‌های رفتاری تشنج بر اساس مقیاس راسین در موش‌ها به مدت ۳۰ دقیقه ارزیابی شد. نتایج توسط نرم‌افزار Graph pad prism و روش one-way ANOVA و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شد. $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.
تعمای حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.	یافته‌ها: آنالیز داده‌ها نشان داد که عصاره‌ی افسنتین در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب تأخیر در شروع مرحله‌ی چهارم ($P < 0.01$) و پنج ($P < 0.01$) در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. همچنین، این عصاره در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش مدت‌زمان مرحله‌ی پنج تشنج در مقایسه با گروه شاهد می‌شود ($P < 0.05$). احتمال وقوع مرحله‌ی چهارم و پنج و احتمال میزان مرگ‌ومیر حیوانات در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با دوزهای دیگر عصاره کمتر بوده است.
	نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده نشان دادند که عصاره‌ی آبی گیاه افسنتین اثر ضد تشنجی بر تشنج القاء شده توسط پنتیلن تترازول دارد و ممکن است برای درمان صرع مفید باشد. لذا، انجام تحقیقات تکمیلی برای شناسایی اجزای مؤثر بر تشنج ناشی از آن توصیه می‌شود. لذا، انجام تحقیقات تکمیلی برای شناسایی اجزای مؤثر بر تشنج ناشی از آن توصیه می‌شود.

گیاهان معطر و بومی به خصوص در نواحی شمال و شمال شرقی ایران است و در کشور انگلستان به نام چوب کرمی شکل و در ایران به نام‌های خاراگوش، گندواش، مروه و افسنتین معروف است (۱۴). این گیاه در ایران در اطراف تهران، آذربایجان، خراسان و گیلان یافت می‌شود. در پزشکی سنتی، از دم‌کرده‌ی این گیاه برای درمان نارسایی کبد، گلودرد، عفونت گوش، یبوست و اسهال مزمن و در التیام زخم‌ها و همچنین، به‌عنوان داروی ضدانگلی و ضدعفونی‌کننده استفاده شده است (۱۵). مطالعات صورت‌گرفته درباره‌ی خواص گیاه افسنتین نشان می‌دهد که این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است که می‌تواند سلول را از اثرات اکسیدانی محافظت کند (۱۶)، به طوری که از این گیاه به‌عنوان گیاه زداينده‌ی اکسیدان‌ها یاد می‌شود (۱۷). همچنین، اثرات محافظتی افسنتین روی سیستم عصبی در ایسکم‌های موضعی و به دنبال آن، القای پرفیوژن مجدد در آسیب‌های مغزی، به‌دلیل اثرات ضد اکسیدانی، نشان داده شده است (۱۸). سیستم عصبی مرکزی به‌دلیل مصرف زیاد اکسیژن و اسیدهای چرب غیراشباع، حساسیت بالایی به استرس اکسیداتیو دارد (۱۹). نشان داده شده است که تشنج ممکن است به آسیب‌های اکسیداتیو بافت مغزی منجر شود (۲۰) همچنین، گزارش‌هایی اشاره می‌کند که در تشنجات و سمیت عصبی ناشی از PTZ، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد وجود دارد (۲۱) و تشنجات و صرع به آسیب اکسیداتیو نواحی قشری و هیپوکامپ منجر می‌شود که با اختلالات یادگیری و حافظه همراه است (۲۲). با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی این گیاه به نظر می‌رسد که این گیاه بتواند در درمان صرع و تشنج نیز مؤثر باشد.

روش کار

حیوانات و شرایط آزمایش

در این مطالعه‌ی تجربی از ۳۰ سر موش صحرایی نر ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت $2 \pm 35\%$ درصد نگهداری می‌شدند. غذا و آب، به‌جز در هنگام آزمایش، به شکل آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت. سپس، موش‌ها به ۵ گروه ۶‌تایی تقسیم شدند: ۱. شاهد (پنتیلن تترازول)؛ ۲. گروه حلال (آب مقطر)؛ ۳. افسنتین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ ۴. افسنتین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ ۵. افسنتین ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق پروتکل مصوب کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک رعایت شد. تمام تلاش‌ها برای به حداقل رساندن تعداد حیوانات مورد استفاده و رنج آن‌ها انجام شد.

تهیه‌ی عصاره‌ی آبی گیاه افسنتین

اندام‌های هوایی گیاه افسنتین شامل گل، برگ و ساقه توسط هرباریوم دانشگاه علوم پزشکی سبزوار (سبزوار، ایران) خریداری و احراز هویت شد. مواد گیاهی خشک‌شده (۵۰ گرم) در آب‌مقتر استریل (۲۵۰ میلی‌لیتر) خسیابنده شد و سپس، به مدت ۵ ساعت، روی دستگاه Hotplate magnetic stirrer (شرکت آلفا، ایران) قرار داده شد و در اثر حرارت، بدون اینکه بجوشد، با دستگاه Rotary Evaporator (شرکت ورقا تجهیز، ایران) تغلیظ و در دستگاه Freeze Drying (شرکت مهام آزما فارمد، ایران) به‌طور کامل خشک شد. عصاره‌ی افسنتین در روز آزمایش با استفاده از آب‌مقتر رقیق شد و ۳۰ دقیقه قبل از القای تشنج، به‌صورت داخل‌صفاقی تزریق شد.

ایجاد تشنج

پنتیلن تترازول (ساخت شرکت سیگما) با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

صرع اختلالی عصبی با تشنج‌های بی‌دلیل مکرر با فاصله‌ی بیشتر از ۲۴ ساعت است. حمله‌ی صرعی تظاهرات بالینی تخلیه‌ی الکتریکی هماهنگ، بیش از اندازه و غیرعادی مجموعه‌ای از نوروهای مغز است که می‌تواند از کوتاه و مختصر تا قوی و بلندمدت، بسته به میزان فعالیت غیرعادی مغز، متفاوت باشد (۱). صرع یکی از اختلالات شایع عصبی است و حدود ۱ درصد از مردم دنیا مبتلا به این بیماری‌اند (۲). علی‌رغم مطالعات بسیار برای شناسایی مکانیسم‌های بیماری‌زایی صرع، هنوز ناشناخته‌های بسیاری در این زمینه وجود دارد (۳).

صرع ممکن است ناشی از دلایل ژنتیکی، اکتسابی یا ترکیبی از این دو باشد. دلایل اکتسابی شناخته‌شده شامل ضربه‌ی مغزی، سکت، تومورها و عفونت‌های مرتبط با مغز است. لیگ بین‌المللی ضدصرع (ILAE) در جدیدترین دسته‌بندی خود، علت صرع را به شش دسته‌ی ساختاری، ژنتیکی، عفونی، متابولیک، التهابی و ناشناخته تقسیم‌بندی کرده است. همچنین، اخیراً دسته‌ی دیگری به نام نورودژنراتیو به این دسته‌بندی اضافه شده است (۴). فعالیت نورونی را فاکتورهای مختلف موجود در درون و محیط بیرون سلول تنظیم می‌کند. فاکتورهای درون‌سلولی شامل استرس اکسیداتیو، تغییرات بیان ژن و نیز نوع، تعداد و توزیع کانال‌های یونی و رسپتورها و فاکتورهای محیطی شامل غلظت‌های یونی، پلاستیسیته‌ی سیناپسی و تجزیه‌ی نوروترانسمیتر توسط سلول‌های گلیال است. اختلال در این فاکتورها می‌تواند سبب افزایش تحریک‌پذیری و القای صرع شود (۵). به‌عنوان مثال، در صرع نشان داده شده است که مقاومت نورون‌های تحریکی کاهش پیدا می‌کند که این ممکن است به‌دلیل تغییرات در کانال‌های یونی یا اختلال عملکرد نورون‌های مهاری باشد. همچنین، در صرع فعالیت مدارهای نورونی تحریکی افزایش و مدارهای مهاری کاهش می‌یابد (۶).

مطالعات نشان داده‌اند که تشنج‌های مکرر و طولانی‌مدت ممکن است به اختلالات شناختی و عاطفی (۷)، کاهش کیفیت زندگی بیماران و افزایش خطر آسیب‌دیدگی و حتی مرگ‌ومیر منجر شود (۸). صرع کنترل‌نشده، علاوه بر ایجاد محدودیت‌های زیاد در فعالیت روزانه، آسیب سلول‌های مغزی را نیز در پی دارد؛ لذا، کنترل و درمان این بیماری بسیار حائز اهمیت است (۹). استراتژی‌های درمانی که امروزه برای درمان صرع به کار می‌رود، شامل تحریک رسپتورهای گابا، ملاتونین، سروتونین و کانابینوئید، کنترل التهاب عصبی و مابجوله کردن سیستم ایمنی از مسیرهای مختلف، مهار استرس اکسیداتیو با آنتی‌اکسیدان‌ها، مهار گلیکوپروتئین‌ها، ژن‌تراپی و درمان با سلول‌های بنیادی است (۱۰). مصرف داروهای ضدصرع همواره توأم با عوارض جانبی و تداخلات دارویی متعدد بوده و تقریباً در ۳۰ درصد از بیماران صرعی، مقاومت به دارو نیز گزارش شده است (۱۱). داروهای ضدصرع را به‌علت عوارضی مانند تراوتوژنیسیته نمی‌توان طولانی‌مدت و مداوم مصرف کرد. از سوی دیگر، عدم کنترل حملات تشنجی به اختلال در کیفیت زندگی فرد منجر خواهد شد (۱۲)؛ لذا تحقیق به‌منظور کشف داروهای ضدصرع جدید امری ضروری است. در سال‌های گذشته، مطالعات متعددی در مورد اثرات درمانی گیاهان دارویی در بیماری‌های مختلف از جمله صرع انجام شده است که با نتایج امیدوارکننده‌ای در مدل‌های مختلف حیوانی همراه بوده است (۱۳). افسنتین با نام علمی *Artemisia absinthium* از جمله گیاهان دارویی بومی ایران است که به خانواده‌ی آستراسه‌آ (Asteraceae) و زیرخانواده‌ی آستروئیده (Asteroideae) تعلق دارد. افسنتین از

استاندارد بیان شده است. نتایج توسط نرم افزار Graph pad prism و روش one-way ANOVA و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شد. $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأثیر عصاره‌ی آبی گیاه افسنتین بر شروع و طول مراحل تشنج ناشی از PTZ

میانگین زمان رسیدن به هر مرحله و طول مرحله‌ی پنجم تشنج در گروه‌های مختلف آزمایش از طریق آزمون واریانس یک‌طرفه تحلیل شد و تفاوت بین گروه‌ها توسط پس‌آزمون توکی ارزیابی شد. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم عصاره‌ی افسنتین افزایش معنی‌داری بر زمان تأخیر ورود به مرحله‌ی چهارم تشنج ($P < 0.01$) و پنج ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه شاهد داشته است. مدت‌زمان مرحله‌ی پنج هم در زمان استفاده از عصاره‌ی افسنتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P < 0.05$).

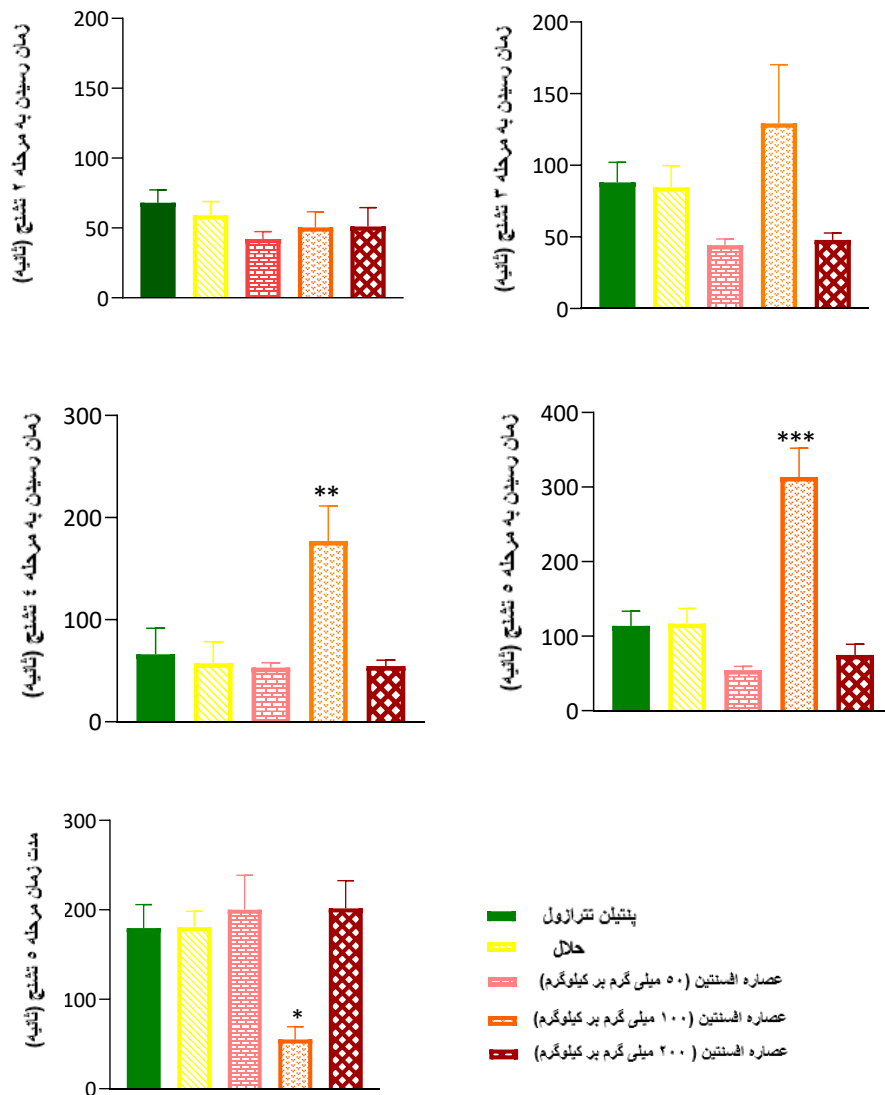
در محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شد. بعد از ۳۰ دقیقه از تزریق آب‌مقطر به گروه حلال، عصاره‌ی گیاهی در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به گروه‌های تحت درمان به‌صورت داخل‌صفاقی تزریق شد و رفتارهای تشنجی به مدت ۳۰ دقیقه توسط دوربین فیلم‌برداری شد و سپس، مراحل مختلف تشنج طبق طبقه‌بندی راسین به‌صورت زیر ارزیابی شد:

مرحله‌ی صفر: بدون علامت؛ مرحله یک: انقباض عضله‌های دهان و صورت؛ مرحله‌ی دو: انقباض و حرکت عضله‌های سر و گردن؛ مرحله‌ی سه: انقباض دست‌ها؛ مرحله‌ی چهار: انقباض دست‌ها و ایستادن روی دو پا؛ مرحله‌ی پنج: ایستادن روی دو پا به همراه افتادن به پهلو.

در نهایت، مدت‌زمان شروع مراحل تشنج، طول مدت مرحله‌ی پنج تشنج، میزان مرگ‌ومیر و میزان وقوع مرحله‌ی سه تا پنج تشنج در گروه‌های آزمایشی در بخش یافته‌ها گزارش شد.

آنالیز آماری

در این مطالعه، نتایج به‌دست‌آمده به‌صورت میانگین \pm خطای



نمودار ۱: مقایسه‌ی زمان رسیدن به مراحل دو تا پنج تشنج و طول مرحله‌ی پنجم تشنج در گروه‌های مختلف آزمایش

نتایج به‌صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده‌اند و توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی تجزیه و تحلیل شده‌اند. علامت * تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه PTZ را نشان می‌دهد و افزایش تعداد آن به ترتیب معادل $P < 0.05$, $P < 0.01$ و $P < 0.001$ است.

وقوع مرحله‌ی چهارم تشنج (۵۰ درصد) و میزان وقوع مرحله‌ی پنجم تشنج (۳۳/۳۳ درصد) در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کمتر از دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۸۳/۳۳ درصد) و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۶۶/۶۶ درصد) بوده است.

افسننتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درصد وقوع مراحل چهارم و پنجم را کاهش داد و در دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، درصد مرگومیر به دنبال تشنج تونیک-کلونیک کاهش یافت.

جدول ۱: داده‌های توصیفی نشان‌دهنده‌ی درصد وقوع مراحل سه تا پنج و مرگومیر در گروه‌های آزمایشی پس از تشنج تونیک-کلونیک

گروه‌های آزمایشی	درصد وقوع مرحله‌ی سه	درصد وقوع مرحله‌ی چهارم	درصد وقوع مرحله‌ی پنجم	درصد مرگومیر
پنتیلین تترازول	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۸۳/۳۳
عصاره‌ی افسننتین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۰۰	۸۳/۳۳	۸۳/۳۳	۸۳/۳۳
عصاره‌ی افسننتین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۸۳/۳۳	۵۰	۳۳/۳۳	۰
عصاره‌ی افسننتین (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۶۶/۶۶	۶۶/۶۶	۶۶/۶۶	۳۳/۳۳

بحث

تأثیر عصاره‌ی آبی گیاه افسننتین بر میزان مرگومیر ناشی از پنتیلین تترازول

جدول ۱ کاهش درصد مرگومیر را در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم عصاره‌ی آبی گیاه افسننتین نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد. درصد مرگومیر موش‌ها در گروه ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم برابر با صفر، در دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به ترتیب برابر با ۸۳/۳۳ و ۳۳/۳۳ درصد بوده است. همچنین، میزان

به‌صورت وابسته به دوز برای سرعت‌های پارشیال و جنرالیزه مؤثر باشد. اثر ضد تشنجی افسننتین ممکن است به دلیل تداخل مواد مؤثر آن با مکانیسم‌های گاباژیک، از طریق فعال‌سازی گیرنده‌های GABA-A باشد. اساس استخراج شده از این گیاه به‌طور عمده حاوی α -pinene و β -pinene است (۲۸، ۲۹). مطالعه‌ی نشان داده است که α -pinene توانایی اتصال خوبی با گیرنده‌ی GABA-A دارد (۳۰)؛ بنابراین، ممکن است افسننتین از این طریق اثر ضدصرعی خود را اعمال کند. همچنین، مطالعات گذشته نشان داده‌اند که مشتقات α -pinene و β -pinene اثرات محافظت‌کننده‌ی نورونی دارند (۳۱، ۳۲). نشان داده شده است که افسننتین آسیب مغزی و اختلال رفتاری را در مدل ایسکمی القاشده توسط انسداد شریان مغزی میانی کاهش می‌دهد و مشخص شده است که این اثر را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کند (۱۸).

نقش استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی صرع به‌خوبی شناخته شده است. مطالعات نشان داده‌اند که در طول صرع ناشی از PTZ، پراکسیداسیون چربی در مغز افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد. گزارش شده است که گیرنده‌های GABA-A شدیداً به استرس اکسیداتیو حساس‌اند و رادیکال‌های آزاد می‌توانند انتقال عصبی ناشی از آن را کاهش دهند. همچنین، رادیکال‌های آزاد می‌توانند به‌صورت مستقیم، سبب القای صرع شوند که این اثر را از طریق غیرفعال کردن گلوتامات دکربکسیلاز و در نتیجه، تجمع گلوتامات در مغز ایجاد می‌کنند (۳۳).

مطالعات نشان داده‌اند که افزایش گلوتامات خارج‌سلولی سبب ورود بیش از حد کلسیم به نورون‌ها می‌شود که متعاقباً مسیرهای سیگنالینگ وابسته به کلسیم، مانند فسفولیپازها را فعال می‌کند؛ در نتیجه، از این طریق سبب القای استرس اکسیداتیو می‌شود (۳۴).

با توجه به شواهد ارائه‌شده، هنوز نمی‌توان به‌طور قطع نتیجه‌گیری کرد که فعالیت‌های مربوط به صرع سبب استرس اکسیداتیو می‌شوند یا آسیب‌های اکسیداتیو به ایجاد تشنج منجر می‌شوند. به‌هرحال، مختل شدن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیداتیو در طول تشنج یک دلیل پاتولوژیکی برای آسیب نورونی در نظر گرفته می‌شود (۳۵).

متآنالیز انجام‌شده درباره‌ی تحقیقات گذشته نشان داده است که تشنج با استرس اکسیداتیو مغز مرتبط است و آنتی‌اکسیدان‌ها اثرات پیشگیری‌کننده و محافظتی در برابر آن دارند. این آنالیز این‌طور برآورد کرده است که درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند تکرار تشنج و آسیب‌های ساختاری ناشی از آن را کاهش دهد و همچنین، اختلالات شناختی را خفیف‌تر کند (۳۶).

مطالعات گذشته از ترکیبات گیاهی متعددی برای درمان تشنج استفاده

متون باستانی طب ایرانی تشنج را با عناوینی مانند صرع، ام‌الصبيان و مرض‌الکاهنی بیان می‌کردند. طب سنتی ایران سابقه‌ی چند هزارساله دارد؛ بنابراین، آشنایی با داروهای دارای منشأ طبیعی که سالیان متعدد حکمای طب سنتی برای صرع تجویز می‌کرده‌اند، می‌تواند شانس کشف مواد مؤثر دارویی را در پژوهش‌های اتفاقی افزایش دهد. مطالعه‌ی مفردات دارویی مؤثر در درمان صرع را از منابع طب سنتی ایران استخراج کرده که شامل ۶۶ مفرده‌ی گیاهی، ۱۰ مفرده‌ی حیوانی و ۵ مفرده‌ی معدنی است. بیشتر مفردات گیاهی معرفی‌شده در این مطالعه طبیعت گرم و خشک داشته‌اند که می‌تواند نشانه‌ی غلبه‌ی اسباب سردی و تری در اکثر انواع صرع باشد (۲۳). افسننتین (*Artemisia absinthium L*) از خانواده‌ی کاسنی است. پراکنش آن در ایران در مازندران، گیلان، آذربایجان، کردستان، تهران و خراسان است. طبیعت این گیاه گرم و خشک است که با دیگر گیاهان درمانی ضدصرع تطابق دارد. مطالعات نشان داده‌اند که این گیاه خواص متعددی دارد: محافظت از کبد و نورون، خاصیت ضدانگلی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی (۲۴). همچنین، از پودر افسننتین در طب محلی جامو و کشمیر هند به‌عنوان داروی ضدصرع استفاده می‌شود (۲۵). در این مطالعه، تأثیرات ضد تشنجی عصاره‌ی آبی گیاه افسننتین در مدل تشنج القاشده توسط پنتیلین تترازول ارزیابی شد. تزریق PTZ مدلی برای القای تشنج شناخته می‌شود. از این مدل برای مطالعه‌ی علت‌شناسی صرع مقاوم به درمان و ارزیابی داروهای ضدصرع استفاده می‌شود (۲۶). پنتیلین تترازول از مهارکننده‌های گیرنده‌ی گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA-A) شناخته می‌شود که این اثر را از طریق قرار گرفتن بر ناحیه‌ی پیکروتوکسین گیرنده‌ی GABA-A القا می‌کند. به این صورت، PTZ جریان کلر را کاهش می‌دهد که به تحریک نورون‌های گلوتاماترژیک و در نهایت، به تشنج منجر می‌شود. داروهای تحریک‌کننده‌ی گیرنده‌ی GABA-A، مانند دیازپام و فنوباریتال، می‌توانند از این نوع تشنج جلوگیری کنند (۲۷).

مشاهدات انجام‌شده در طول این مطالعه نشان داد که *A. absinthium* توانایی ضدصرعی در مدل تشنج القاشده توسط PTZ دارد، به این صورت که دریافت افسننتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در موش‌های صحرایی سبب می‌شود که مراحل چهارم و پنجم تشنج نسبت به گروه PTZ به‌صورت معناداری با تأخیر بیشتری شروع شود و همچنین، مدت زمان مرحله پنجم تشنج در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معناداری کمتر می‌شود (نمودار ۱). از این تغییرات می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که ممکن است افسننتین

درخور توجهی در بهبود تشنج دارد. همچنین، این عصاره مرگ‌ومیر ناشی از تشنج را به‌صورت وابسته به دوز کاهش می‌دهد. با توجه به طبیعت گرم و خشک گیاه، این تأثیرات در تأیید طب سنتی ایرانی است و در طب مدرن می‌توان اثر آن را ناشی از مهار گیرنده‌ی گابا و استرس اکسیداتیو دانست.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از طرحی تحقیقاتی است و با تأیید کمیته‌ی اخلاق با شماره‌ی IR.ARAKMU.REC.۱۳۹۷.۳۷۲ در دانشگاه علوم پزشکی اراک اجرا شده است.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی در اجرای این پژوهش وجود نداشته است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمام افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری کرده‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

کرده‌اند. این گیاهان اثر خود را عمدتاً از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی مشتقات فنولیک و فلاونوئید موجود در خود اعمال کرده‌اند (۳۷). مطالعه نشان داده است که افسنتین غنی از ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی فراوان همچون فلاونوئید است (۳۸).

فلاونوئیدها از طریق فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار آنزیم‌های اکسیدازکننده، اثر محافظتی خود را اعمال می‌کنند. گروه هیدروکسیل فلاونوئیدها می‌تواند با رادیکال‌های آزاد واکنش دهد و به این صورت جلوی آسیب به مولکول‌های زیستی را بگیرد (۳۹).

بنابراین، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده و شواهد ارائه‌شده می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری کرد که گیاه افسنتین با توجه به ترکیبات خود می‌تواند از طریق اثر بر انتقال عصبی گاباژژیک یا خواص آنتی‌اکسیداتیو سبب بهبود علائم تشنج ناشی از تزریق PTZ به‌صورت وابسته به دوز شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی آبی گیاه افسنتین تأثیر

References

- Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglu A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-82. doi: 10.1111/epi.12550 pmid: 24730690
- Beghi E. The epidemiology of epilepsy. *Neuroepidemiology*. 2020;54(2):185-91. doi: 10.1159/000503831 pmid: 31852003
- Zilberter Y, Popova I, Zilberter M. Unifying mechanism behind the onset of acquired epilepsy. *Trends Pharmacol Sci*. 2022;43(2):87-96. doi: 10.1016/j.tips.2021.11.009 pmid: 34887128
- Balestrini S, Arzimanoglu A, Blümcke I, Scheffer IE, Wiebe S, Zelano J, Walker MC. The aetiologies of epilepsy. *Epileptic Disord*. 2021;23(1):1-16. doi: 10.1684/epd.2021.1255 pmid: 33720020
- Parsons AL, Bucknor EM, Castroflorio E, Soares TR, Oliver PL, Rial D. The interconnected mechanisms of oxidative stress and neuroinflammation in epilepsy. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(1):157. doi: 10.3390/antiox11010157 pmid: 35052661
- Hammer GD, McPhee SJ, Education MH. Pathophysiology of disease: an introduction to clinical medicine: *McGraw-Hill Education Medical New York*. 2014.
- Novak A, Vizjak K, Rakusa M. Cognitive impairment in people with epilepsy. *J Clin Med*. 2022;11(1):267. doi: 10.3390/jcm11010267 pmid: 35012007
- Tombini M, Assenza G, Quintiliani L, Ricci L, Lanzone J, Di Lazzaro V. Epilepsy and quality of life: what does really matter? *Neurol Sci*. 2021;42(9):3757-65. doi: 10.1007/s10072-020-04990-6 pmid: 33449244
- Li X, Yang C, Shi Y, Guan L, Li H, Li S, et al. Abnormal neuronal damage and inflammation in the hippocampus of kainic acid-induced epilepsy mice. *Cell Biochem Funct*. 2021;39(6):791-801. doi: 10.1002/cbf.3651 pmid: 34057222
- Riva A, Golda A, Balagura G, Amadori E, Vari MS, Piccolo G, et al. New trends and most promising therapeutic strategies for epilepsy treatment. *Front Neurol*. 2021;12:753753. doi: 10.3389/fneur.2021.753753 pmid: 34950099
- Löscher W, Potschka H, Sisodiya SM, Vezzani A. Drug resistance in epilepsy: clinical impact, potential mechanisms, and new innovative treatment options. *Pharmacol Rev*. 2020;72(3):606-38. doi: 10.1124/pr.120.019539 pmid: 32540959
- Johnstone B, Malpas CB, Velakoulis D, Kwan P, O'Brien TJ. Psychiatric symptoms are the strongest predictors of quality of life in patients with drug-resistant epilepsy or psychogenic nonepileptic seizures. *Epilepsy Behav*. 2021;117:107861. doi: 10.1016/j.yebeh.2021.107861 pmid: 33690065
- Kaur J, Famta P, Famta M, Mehta M, Satija S, Sharma N, et al. Potential anti-epileptic phytoconstituents: An updated review. *J Ethnopharmacol*. 2021;268:113565. doi: 10.1016/j.jep.2020.113565 pmid: 33166627
- Houshmand S, Alizadeh-salteh S, Bolandnazar S, Aryakia E. Evaluating the Diversity of the Essential Oil Constituents of Artemisia Accessions from Iran. *Journal of Medicinal plants and By-Products*. 2024;13(2):321-8. doi: 10.22034/jmpb.2023.356215.1409
- Pazhouh HK, Hamed S, Hosseini SM-A-R, Taghipour A, Javadi B, Noras M. Gastrointestinal effects of *Artemisia absinthium* Linn. based on traditional Persian medicine and new studies. *Traditional Medicine Research*. 2020;5(6):498-506. doi: 10.12032/TMR20200210160
- Ali A, Jahan N, Jamil A, Rashid A, Ali Shah SMJPJoPS. Protection of DNA during oxidative stress and cytotoxic potential of *Artemisia absinthium*. *Pak J Pharm Sci*. 2016;29(1 Suppl):295-9. pmid: 27005506
- Bora KS, Sharma AJPb. Evaluation of antioxidant and free-radical scavenging potential of *Artemisia absinthium*. *Pharm Biol*. 2011;49(12):1216-23. doi: 10.3109/13880209.2011.578142 pmid: 21999109
- Bora KS, Sharma AJJoe. Neuroprotective effect of *Artemisia absinthium* L. on focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. *J Ethnopharmacol*. 2010;129(3):403-9. doi: 10.1016/j.jep.2010.04.030 pmid: 20435123
- Jelinek M, Jurajda M, Duris K. Oxidative stress in the brain: basic concepts and treatment strategies in stroke. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(12):1886. doi: 10.3390/antiox10121886 pmid: 34942989
- Łukawski K, Czuczwar SJ. Oxidative stress and neurodegeneration in animal models of seizures and epilepsy. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(5):1049. doi: 10.3390/antiox12051049 pmid: 37237916
- Li D, Bai X, Jiang Y, Cheng Y. Butyrate alleviates PTZ-induced mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neuron apoptosis in mice via Keap1/Nrf2/HO-1 pathway. *Brain Res Bull*. 2021;168:25-35. doi: 10.1016/j.brainresbull.2020.12.009 pmid: 33359640
- Sun H, Li X, Guo Q, Liu S. Research progress on oxidative stress regulating different types of neuronal death caused by epileptic seizures. *Neurol Sci*. 2022;43(11):6279-6298. doi: 10.1007/s10072-022-06302-6 pmid: 35927358
- Khodabakhsh M, Feyzabadi Z, Naghedi H, Saket K. Effective materia medica in the treatment of epilepsy in traditional Iranian medicine. 2016:111-28. Link
- kalantari khandani S, Mehrabani M, Rameshk M, Raeiszadeh M. Afsantin (*Artemisia absinthium* L.) from the perspective of Modern and Traditional Persian medicine. *jiitm*. 2016;6(4):305-13. Link
- Sharma J, Gairola S, Gaur R, Painuli R, Siddiqi T. Ethnomedicinal plants used for treating epilepsy by indigenous communities of sub-Himalayan region of Uttarakhand, India. *J*

- Ethnopharmacol.* 2013;**150**(1):353-70. [doi: 10.1016/j.jep.2013.08.052](#) [pmid: 24029249](#)
26. Singh T, Mishra A, Goel RK. PTZ kindling model for epileptogenesis, refractory epilepsy, and associated comorbidities: relevance and reliability. *Metab Brain Dis.* 2021;**36**(7):1573-90. [doi: 10.1007/s11011-021-00823-3](#) [pmid: 34427842](#)
 27. Huang RQ, Bell-Horner CL, Dibas MI, Covey DF, Drewe JA, Dillon GH. Pentylentetrazole-induced inhibition of recombinant γ -aminobutyric acid type A (GABAA) receptors: mechanism and site of action. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;**298**(3):986-95. [pmid: 11504794](#)
 28. Gandomi Nasrabadi H, Abbaszadeh S, Tayyar Hashtjin N, Yamrali I. Study of Chemical Composition of Essential Oil of Afsantine (*Artemisia absinthium*) and Inhibitory Effects of the Essential Oil and Its Aqueous and Alcoholic Extracts on some Food Borne Bacterial Pathogens. *J Med Plants.* 2012; **11**(42):120-7. [Link](#)
 29. Rezaeinodehi A, Khangholi S. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. *Pak J Biol Sci.* 2008;**11**(6):946-9. [doi: 10.3923/pjbs.2008.946.949](#) [pmid: 18814663](#)
 30. Yang H, Woo J, Pae AN, Um MY, Cho N-C, Park KD, et al. α -Pinene, a major constituent of pine tree oils, enhances non-rapid eye movement sleep in mice through GABAA-benzodiazepine receptors. *Mol Pharmacol.* 2016;**90**(5):530-9. [doi: 10.1124/mol.116.105080](#) [pmid: 2757366](#)
 31. Sousa DPd, Nóbrega FF, Morais LCd, Almeida RNd. Evaluation of the anticonvulsant activity of terpinen-4-ol. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2009;**64**(1-2):1-5. [doi: 10.1515/znc-2009-1-201](#) [pmid: 19323258](#)
 32. Mechoulam R, Breuer A, Biegon A. Neuroprotective pharmaceutical compositions of 4-phenylpinene derivatives and certain novel 4-phenylpinene compounds. Google Patents. 1995. [Link](#)
 33. Aguiar CCT, Almeida AB, Araújo PVP, Abreu RNDc, Chaves EMC, Vale OCd, et al. Oxidative stress and epilepsy: literature review. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;**2012**:795259. [doi: 10.1155/2012/795259](#) [pmid: 22848783](#)
 34. Hudspith M. Glutamate: a role in normal brain function, anaesthesia, analgesia and CNS injury. *Br J Anaesth.* 1997;**78**(6):731-47. [doi: 10.1093/bja/78.6.731](#) [pmid: 9215028](#)
 35. Lin Y, Han Y, Xu J, Cao L, Gao J, Xie N, et al. Mitochondrial DNA damage and the involvement of antioxidant defense and repair system in hippocampi of rats with chronic seizures. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;**30**(6):947-54. [doi: 10.1007/s10571-010-9524-x](#) [pmid: 20446108](#)
 36. Martinc B, Grabnar I, Vovk T. Antioxidants as a preventive treatment for epileptic process: a review of the current status. *Curr Neuropharmacol.* 2014;**12**(6):527-50. [doi: 10.2174/1570159X12666140923205715](#) [pmid: 25977679](#)
 37. Gür M, Güder A, Verep D, Güney K, Özkan OE, Seki N, Kandemirli F. Some important plants for epilepsy treatment: antioxidant activity and flavonoid compositions. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science.* 2018;**42**(2):1847-57. [doi: 10.1007/s40995-017-0361-3](#)
 38. Hbika A, Daoudi NE, Bouyanzer A, Bouhrim M, Mohti H, Loukili EH, et al. *Artemisia absinthium* L. Aqueous and ethyl acetate extracts: Antioxidant effect and potential activity in vitro and in vivo against pancreatic α -amylase and intestinal α -glucosidase. *Pharmaceutics.* 2022;**14**(3):481. [doi: 10.3390/pharmaceutics14030481](#) [pmid: 35335858](#)
 39. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem.* 2002;**13**(10):572-84. [doi: 10.1016/s0955-2863\(02\)00208-5](#) [pmid: 12550068](#)