مقاله
پژوهشی

تاثیر هارمالین بر تشنجات ناشی از کیندلینگ الکتریکی آمیگدال در موش صحرایی

اعظم آل نجف[1]، مسعود فریدونی[2]، علی مقیمی[2]، احسان محبی[3]، محمد محمدزاده[4*]

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[2]دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[3]دانشجوی علوم آزمایشگاهی، کمیته تحقیقات دانشجویی،دانشگاه علوم پزشکی سبزوار،سبزوار،ایران
[4]استادیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
[*]**نویسنده مسئول:** استادیار گروه فیزیولوژی فارماکولوژی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار
پست الکترونیک: mohamadzadehm@medsab.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: هارمالین یکی از بتا کربولین ها ی موجود در گیاه اسپند (*Peganumharmala*)می باشد. هارمالین و دیگر بتاکربولینها برای گیرنده های GABA-A به عنوان آگونیست معکوس عمل می کنند و باعث القا اضطراب و تحریک سیستم مرکزی عصبی می شوند. از اینرو، هدف از این تحقیق بررسی نقش هارمالین بر تشنجات ناشی از کیندلینگ الکتریکی آمیگدال می باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی،۳ گروه از موش های صحرایی نر (۱۸سر) پس از جراحی استرئوتاکسیک با تحریکات الکتریکی روزانه آمیگدال کیندل شدند. به گروه‌های یک تا سه پس ازکیندل شدن به ترتیب هارمالین با دوزهای mg/kg ۵، ۱۵ و ۵۰ ، داخل صفاقی تزریق شد. مدت زمان امواج تخلیه متعاقب؛ (*Afterdischarge duration; ADD*)، مدت زمان تأخیر بین شروع تحریک تا شروع مرحله ۲ تشنج (*Stage 2 latency;S_2L*)، مدت زمان تأخیری بین تحریک تا شروع مرحله 4 تشنج؛ (*Stage 4 Latency; S_4L*) و مدت زمان مرحله پنج تشنج (*Stage 5 Duration; S5D*) روز تزریق هارمالین نسبت به ۲۴ ساعت قبل (که سالین دریافت کرده بودند) مقایسه شد.

یافته ها: هارمالین در هر سه گروه کمیتهای S_2L و S_4L را کاهش و کمیتهای ADD وS_5D را افزایش داد. در گروه دوم (هارمالین ۱۵mg/kg) کمیت ADD بطور معنی داری افزایش یافت ($P<0.05$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که هارمالین پیش برنده تشنج است و ممکن است به واسطه تحریک گیرنده های NMDA و یا مهار گیرنده‌های GABA و یا هر نوع مکانیسم تحریکی باعث افزایش فعالیت نورونها و تولید پتانسیل عمل های با فرکانس بالا شود.

واژه کلید
هارمالین
آمیگدال

مقدمه

صرع بعد از سکته های مغزی، شایعترین اخ
است [۱] به دلیل وجود بیش از ۴۰ نوع مخ

وصول: ۹۳/۳/۷
اصلاح: ۹۳/۹/۲
پذیرش: ۱۰/۱۰

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی سال ۹۳، دوره ۶ (۴): ۶۹۷-۷۰۶
Journal of North Khorasan University 2014;6(4):697-706

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

سندرم های مرتبط، بررسی علل ایجاد آن و مقابله با چگونگی ایجاد این اختلال و توسعه ابزارها و روش های مختلفی و عدم درمان قطعی بیماران صرعی تحقیقات زیادی در این زمینه در حال انجام است [۲].

در این راستا از مدلهای آزمایشگاهی ایجاد صرع و تشنج استفاده می شود. کیندلینگ یکی از بهترین مدل ها برای ایجاد تشنج بصورت مزمن می باشد [۳] در این مدل، حیوان آزمایشگاهی توسط محرک ضعیفی که در ابتدا قادر به ایجاد تشنج نمی باشد. بصورت مکرر و در فواصل زمانی مشخص تحریک می شود و سرانجام این تحریکات باعث ایجاد تشنج کامل حرکتی می شوند. تشنجهایی که با استفاده از این مدل ایجاد می شود مشابه رایج ترین نوع تشنج در انسان یعنی تشنج های پیچیده موضعی می باشند. این نوع صرع غالبا از لوب گیجگاهی و بویژه سیستم لیمبیک منشا می گیرد [۴]. در میان بخشهای مختلف سیستم لیمبیک و ساختارهای مرتبط، آمیگدال با تعداد تحریکات کمتری کیندل می شود. گزارشات موجود نشان می دهد که آمیگدال در زمینه تولید، گسترش و تداوم حملات تشنجی نقش مهمی دارد [۵]. با استفاده از این مدل می توان نحوه ارتباط و عملکرد متقابل نواحی مختلف مغز را به هنگام تشنج و نیز تاثیر داروها و مواد شیمیایی مختلف را بر فعالیت آنها مورد بررسی قرار داد [۶].

به رغم استفاده مطلوب از روشهای مدرن و پیشرفته، بیشتر از ۳۰ درصد مبتلایان به صرع هرگز از روش درمان با دارو های ضد صرع بهبود نمی یابند. عوارض ناشی ازسمیت داروهای ضد صرع متداول، محدودیت مصرف این دارو ها از دیگر دلایل تحقیق در رابطه با یافتن داروهای جدید و عوامل مداخله گر می باشد [۷]. در دو دهه اخیر محققان زیادی بازنگری داروهای با سر منشا طبیعی را مورد بررسی قرار داده اند. به طوری که گزارشات زیادی از اثرات ضدتشنجی عصاره های گیاهان مختلف (مثل گیاه اسطوخودوس [۸] و آنغوزه [۹] و شوید [۱۰])، منتشر شده است. در مقابل بعضی از گیاهان نیز ممکن است که دارای ترکیباتی باشند که نه تنها در درمان صرع موثر نباشند بلکه باعث پیشرفت تشنج شوند. از این رو تحقیقات زیادی برای مشخص کردن خواص تشنج زایی یا ضد تشنجی گیاهان در حال انجام است، یکی از این موارد گیاه اسپند است

Peganumharmala در ایران با نام اسپند شناخته شده است. این گیاه بومی مناطق خشک می باشد. دانه های این گیاه غنی از کربوهیدرات، لیپید، پروتئین، املاح معدنی، آلکالوئیدها و اسیدهای آمینه می باشد. از اثرات شناخته شده اسپند می توان به خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، محرک سیستم عصبی و اضطراب زایی آن اشاره کرد. آلکالوئیدهای دانه اسپند که در صنعت و پزشکی دارای اهمیت فراوانی می باشند شامل هارمین، هارمالول، هارمالین، هارمن، و نورهارمان می باشد [۱۱].

هارمالین که یکی از بتاکربولینهای موجود در گیاه اسپند می باشد اثرات مهمی بر بدن و به خصوص سیستم عصبی دارد. از مهمترین اثرات شناخته شده هارمالین القای اضطراب و ترمور (لرزش) می باشد [۱۲]. در سطح سیناپسها این ترکیب باعث افزایش نوروترانسمیترهایی همچون سروتونین و نوراپی نفرین می شود [۱۳]. برخی تحقیقات به اثرات تشنج زایی هارمالین اشاراتی داشته اند [۱۵،۱۴]. با وجود آنکه ترکیبات مذکور احتمالا عمل حفاظت نورونی را نیز باعث می شوند [۱۶]، می‌توانند اثرات ضد تشنجی هم داشته باشند.

با توجه به اینکه در رابطه با اثر هارمالین بر تشنجات ناشی از مدل‌های آزمایشگاهی صرع مستند علمی زیادی وجود ندارد. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر هارمالین به عنوان یکی از آلکالوئیدهای گیاه اسپند بر گسترش تشنج های ناشی از کیندلینگ آمیگدال است.

روش کار

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۸۰ تا ۳۲۰ گرم استفاد شد. برای بیهوش کردن موش های صحرایی نر از کتامین (۱۰۰mg/kg) و رامپون (۲۰mg/kg) به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شد [۱۷]. پس از کوتاه کردن موهای سر، حیوان در دستگاه استریوتاکسی قرار می گرفت. با استفاده از تیغ جراحی شکافی در امتداد بخش میانی پوست سر روی جمجمه ایجاد می گردید. سپس پوست محل بریدگی به دو طرف کنار زده می شد. با انجام این کار و تمیز کردن سطح جمجمه، محل برگما بر روی جمجمه مشخص می شود.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

بر اساس اطلس پاکسینوس [۱۸]، مختصات محل کارگذاری الکترود بطور یکطرفه در هسته های قاعده‌ای جانبی آمیگدال سمت چپ مشخص می‌گردید. مختصات آمیگدال در سطح جمجه نسبت به برگما (بر حسب میلیمتر: AP=-۲/۵ L=۴/۸ و V=۷/۵ نسبت به سخت شامه) می باشد.

پس از تعیین دقیق نقطه فوق، الکترود سه قطبی در محل مخصوص به خود قرارداده می شد و توسط سیمان دندانپزشکی در آن محل محکم می گردید. دو الکترود تک قطبی نیز توسط پیچ های متصل به آنها به سطح جمجمه محکم می شدند. پس از قرار دادن الکترودها، پینهای متصل به آن ها در داخل مادگی سوکت مخابراتی قرار داده می شد و سوکت توسط سیمان دندانپزشکی بر روی سر حیوان متصل می گردید.

حداقل یک هفته بعد از جراحی، از شدت آستانه به منظور تحریک دادن استفاده می‌شد. برای به دست آوردن شدت آستانه، ابتدا حیوان مورد نظر توسط جریانی به شدت ۱۰ میکروآمپر تحریک می گردید. اگر امواج تخلیه متعاقب حداقل به مدت ۵ ثانیه ثبت می شدند، این شدت جریان به عنوا ن شدت جریان آستانه شناخته می‌شد. در غیر این صورت، شدت جریان ۱۰ میکرو آمپر هر بار به فواصل پنج دقیقه افزایش داده می‌شد تا وقتی که امواج تخلیه متعاقب ثبت گردد. سپس حیوانات با این شدت جریان آستانه روزانه دو بار با فاصله زمانی حداقل ۶ ساعت تحریک می شدند، تا مراحل مختلف تشنج را نشان داده و کیندل شوند [۱۹].

با ادامه تدریجی تحریکها همزمان با ثبت امواج تخلیه متعاقب، علایم رفتاری نیز قابل مشاهده می باشند. Racine در سال ۱۹۷۲، این پاسخهای رفتاری را به پنج مرحله تقسیم کرد ۱- حرکات دهان و صورت (مرحله اول) ۲- تکان دادن سر به طرف بالا و پایین (مرحله دوم) ۳- کلونوس یک اندام جلویی که در سمت مخالف ناحیه تحریک شده می باشد (مرحله سوم) ۴- ایستادن روی دو پای عقب همراه باکلونوس دو اندام جلویی (مرحله چهارم) ۵- ایستادن روی دوپا، ازدست دادن تعادل و به زمین خوردن (مرحله پنجم) [۲۰].

کمیتهای تشنجی مورد ثبت پس از هر بار تحریک حیوان به شرح زیر می باشند:

۱- مدت زمان (Afterdischarge؛ duration; ADD) امواج تخلیه متعاقب

۲- مدت زمان تأخیر بین شروع تحریک الکتریکی تا شروع مرحله ۱ تشنج (S_1L: Stage 1 latency)

۳- مدت زمان تأخیر بین شروع تحریک الکتریکی تا شروع مرحله ۲ تشنج (S_2L:Stage 2 latency)

۴-مدت زمان تأخیری بین تحریک الکتریکی تا شروع مرحله ۴ تشنج ؛ (Stage 4 Latency; S4L)

۵-مدت زمان مرحله پنج تشنج (Stage 5 Duration; S5D)

۶-مدت زمان حمله تشنج(Seizure Duration; (SD

گروه های آزمایشی: برای بررسی نقش هارمالین (خریداری شده از شرکت سیگما) بر تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال، حیوانات به ترتیب زیر به سه گروه تقسیم شدند:

گروه اول: حیوانات تا کیندل شدن تحریک داده شدند. بدین معنی که تحریک تا زمان تثبیت کمیتهای تشنجی ادامه می یافت (با تکرار تحریکها از روز اول به بعد ADD و S_5D افزایش و S_2L وS_4L کاهش می یابد). بیست و چهار ساعت پس از تثبیت کمیتهای تشنجی، سالین استریل (۱۰ml/kg) تزریق و ۳۰ دقیقه پس از آن تحریکات کیندلینگ اعمال می شد و کمیتهای تشنجی ثبت می‌شد. پس از ۲۴ ساعت به همین حیوانات هارمالین (۵mg/kg) تزریق داخل صفاقی شده و ۳۰ دقیقه پس از آن تحریکات کیندلینگ اعمال می‌شد و کمیتهای تشنجی ثبت می‌شد.

گروه دوم: تمامی مراحل کار در این گروه مشابه گروه اول است به استثنای اینکه هارمالین با دوز ۱۵mg/kg تزریق داخل صفاقی شده و ۳۰ دقیقه پس از آن تحریکات کیندلینگ اعمال می‌شد و کمیت‌های تشنجی ثبت می-شد.

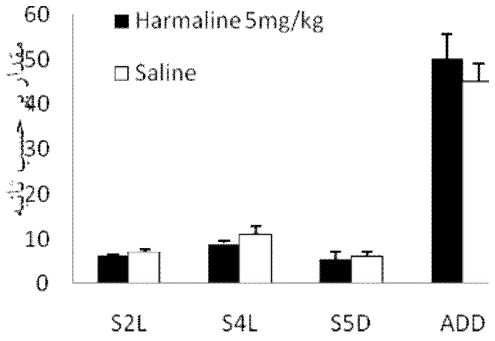
گروه سوم: تمامی مراحل کار در این گروه مشابه گروه اول است به استثنای اینکه هارمالین با دوز ۵۰ mg/kg تزریق داخل صفاقی شده و ۳۰ دقیقه پس از آن تحریکات کیندلینگ اعمال می‌شد و کمیتهای تشنجی ثبت می‌شد.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

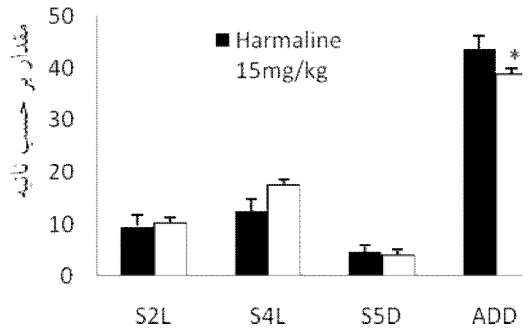
روش تجزیه و تحلیل داده ها: میانگین داده های حاصل از آزمایشات به صورت Mean ± SEM با حداقل n=۶ ارائه شده اند، معنی داری اثر غلظت های مختلف تیمار ها با آزمون ANOVA یک طرفه و با استفاده از نرم افزار Graphpad Prism5 و به دنبال آن معنی داری تفاوت بین میانگین ها نیز از پس آزمون Tukey و با حداقل سطح P< ۰/۰۵ برآورد شده اند. در مورد شاخصSS(seizure stages) از آزمون Mann-Whitney استفاده شد. نمودار ها نیز با استفاده از نرم افزار آماری Excel رسم شده اند.

در این تحقیق سی دقیقه پس از تزریق داخل صفاقی هارمالین (با غلظتهای ۵، ۱۵ و ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم حیوان) تحریک کیندلینگ به هر موش اعمال می شد و کمیتهای تشنجی ثبت شده نسب به روز قبل که حلال هارمالین (سالین) دریافت کرده بودند مقایسه شد.

اثر تزریق داخل صفاقی هارمالین با غلظت ۵ mg/kg بر کمیتهای تشنجی: هارمالین در این غلظت منجر به کاهش کمیتهای S_2L و S_4L و افزایش S_5D نسب به زمان تزریق سالین شد. اما این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار نبود. همچنین هارمالین با این غلظت کمیت ADD را نیز افزایش داد (شکل ۱).

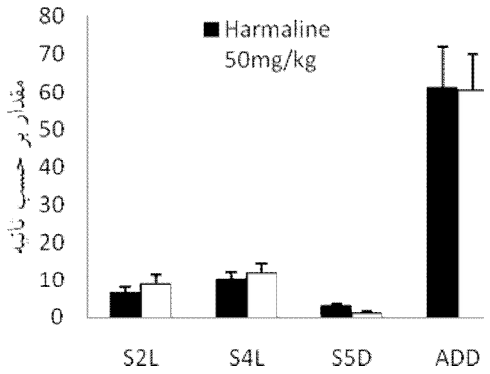


شکل ۱: اثر تزریق داخل صفاقی هارمالین (۵mg/kg) بر کمیتهای تشنجی مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD)، مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۲ تشنج (S_2L)، مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S_4L) و مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S_5D). (n=۶)



شکل ۲: اثر تزریق داخل صفاقی هارمالین (۱۵mg/kg) بر کمیتهای تشنجی مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD)، مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۲ تشنج (S_2L)، مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S_4L) و مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S_5D).* نشان دهنده P< ۰/۰۵در مقایسه با زمان تزریق سالین می باشد(n=۶)

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]



شکل ۳: اثر تزریق داخل صفاقی هارمالین (۵۰mg/kg) بر کمیتهای تشنجی مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD)، مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۲ تشنج (S_2L)، مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S_4L) و مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S_5D) (n=۶).

اثر تزریق داخل صفاقی هارمالین با غلظت ۱۵ mg/kg بر کمیتهای تشنجی: هارمالین در این غلظت منجر به کاهش کمیتهای S_2L و S_4L و افزایش S_5D نسب به زمان تزریق سالین شد اما این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار نبود. همچنین هارمالین با این غلظت در کمیت ADD افزایش معنی داری ($P<0/05$) ایجاد کرد (شکل ۲) .

اثر تزریق داخل صفاقی هارمالین با غلظت ۵۰ mg/kg بر کمیتهای تشنجی: هارمالین در این غلظت منجر به کاهش کمیتهای S_2L و S_4L و افزایش S_5D نسب به زمان تزریق سالین شد اما این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار نبود. همچنین هارمالین با این غلظت باعث افزایش کمیت ADD به طور غیر معنی داری شد (شکل ۳) .

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که هارمالین شدت تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال را افزایش می دهد به طوری که تزریق هارمالین در موش های کیندل شده ، افزایش کمیت رفتاری S_5D و الکتروفیزیولوژیک ADD را به همراه داشت. هارمالین یکی از بتا کربولینهای موجود در گیاه اسپند می باشد که اثرات مهمی بر بدن و به خصوص سیستم عصبی دارد [۱۳] اولین مطالعه سیستمیک تاثیرات هارمالین و دیگر بتا کربولینها روی حیوانات آزمایشگاهی (موش صحرایی و خرگوش) بوسیله گان[1] (1930) و همکارانش انجام شد. نتایج آن تحقیق نشان دادکه هارمالین موجب ایجاد لرزش (ترمور)، رفتار تهییجی و تحریکی می شود [۲۱].

شواهد و تحقیقات بسیاری ثابت کرده اند که هارمالین نقش مهم و کلیدی درایجاد ترمور درمبتلایان به بیماری پارکینسون بر عهده دارد [۲۲]. هارمالین با مهار مونوآمین اکسیداز، غلظت آمین هایی مثل نور اپی نفرین، سرتونین و دوپامین را در سیناپس های عصبی مغز موش صحرایی افزایش می دهد. از آنجایی که این انزیم عامل اصلی در تخریب و باز جذب مونوآمین ها می باشد هارمالین با مهار این آنزیم اثر ضد افسردگی القا می کند [۱۳]. هارمالین با اثر بر کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ $Ica_{(V)}$ در نورونها و تعدیل و کاهش آستانه فعال سازی آنها، علاوه بر افزایش سرعت فایرینگ نورونها، نقش محافظت نورونی نیز انجام می دهد بنابراین هارمالین هم دارای اثرات تحریکی و هم محافظتی برای نورونها می باشد [۲۳].

بررسی فعالیت الکتریکی امواج مغزی (EEG) در موش صحرایی نشان داده است که اثر هارمالین علاوه بر ایجاد ترمور افزایش فرکانس و ولتاژ EEG را نیز باعث می شود. افزایش در فرکانس و ولتاژ EEG در طی ترمورهای ناشی

1-Gunn

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

از هارمالین در بیماران مبتلا به پارکینسون، فرایندی است که در طی حمله های تشنجی در بیماران مبتلا به صرع نیز روی می دهد [۲۴].

شواهد بسیاری در دست است که نشاندهنده ارتباط نزدیک و تنگاتنگ بین مکانیسم های دخیل در ترمورهای ناشی از هارمالین و مکانیسم های دخیل در ایجاد تشنج (پس از تزریق هارمالین) می باشد. پس می توان با بررسی مکانیسم های تولید ترمورهای ناشی از هارمالین، تا حدودی با مکانیسم هایی که به واسطه آن هارمالین منجر به تولید تشنج می شود، نیز پی برد. به عنوان مثال Croucher,(1982) نشان داد که افزایش فعالیت گیرنده-های NMDA نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی تعدادی از بیماریهای عصبی مثل پارکینسون و صرع دارد [۲۵].

گیرنده های NMDA شامل کانال های دریچه دار وابسته به لیگاندی هستند که نفوذ پذیری زیادی به یونهای کلسیم (Ca^{2+}) دارند. هارمالین با افزایش تشکیل cGMP و باز کردن کانال های کلسیمی گیرنده های NMDA باعث اثرات تحریکی (فعالیت ریتمیک و همزمان) نورونها می شود در نتیجه هارمالین با افزایش فعالیت نورونها در زیتون تحتانی منجر به ترمور می شود [۲۶،۲۵]. به همین دلیل آنتاگونیستهای گیرنده NMDA مثل (CGS19755) علاوه بر خاصیت ضد تشنجی، ترمورهای ناشی از هارمالین را نیز مهار می کند [۲۷].

گزارش شده است که علاوه بر فعال سازی همزمان مسیر زیتونی- مخچه‌ای و آزادی گلوتامات در مخچه و اثر بر گیرنده های NMDA و AMPA علت اصلی و اولیه در ایجاد ترمورهای ناشی از هارمالین [۲۶] سیستم های GABA ارژیک، دوپامینرژیک، سرتونرژیک، و نورآدرنرژیک هم نقش دارند [۲۸]. همچنین فعالیت افزایش یافته CNS به صورت شیمیایی، تشنجهایی را القا می کند که نه تنها به دلیل تاثیر هارمالین بر گیرنده NMDA است، بلکه به دلیل تغییر در خصوصیات گیرنده های GABA نیز می باشد. تحقیقات نشان داده است که آگونیست گیرنده هایGABA، ترمورهای ناشی از هارمالین را نیز تضعیف می کند [۲۹]. مشاهده شده است که هارمالین با غلظت ۰/۵mM بیش از ۹۰ درصد از گیرنده های GABA را مهار می‌کند. هارمالین جایگاه اتصال GABA را اشغال و از واکنش های GABA جلوگیری می‌کند [۳۰]. در همین راستا مشاهده شده است که هارمالین به صورت Inverse agonist محل اتصال بنزودیازپین‌ها روی گیرنده GABA عمل می‌کند. هارمالین با اتصال به جایگاه بنزودیازپین ها در کمپلکس گیرنده GABA-BZ (گابا-بنزودیازپین)، سبب اثرات معکوس بنزودیازپین ها مثل القا اضطراب و تحریک CNS می‌شود [۳۱].

ترکیبات و داروهای ضدتشنجی مثل والپروات، کاربامازپین،لاکوزامید و پیریمیدون ترمورهای ناشی از هارمالین را تضعیف می کنند. مکانیسم عمل داروهای ضد تشنج شامل اثرات مختلف روی چندین سیستم نوروترانسمیتری می‌باشد که مهمترین تاثیر دارویی آنها، افزایش سیگنالینگ گاباارژیک [۲۸] و کم شدن سیگنالینگ گلوتاماتی (آیونوتروپیک) می باشد [۳۴-۳۲].

مشاهده شده است که سیستم عصبی مرکزی در پاسخ به عفونتهای سیستمیک یا داخل مغزی و آسیب‌های مغزی واکنش‌های ایمنی سازماندهی شده‌ای را القا می‌کند. به عنوان مثال دیده شده است که بلافاصله به دنبال ایسکمی، تروما و آسیب سلولی (ناشی از تحریک بیش از حد) تولید پروستا گلاندین ها و سایتوکاین‌های پیش‌برنده التهاب همچون اینترلوکین ۱ بتا، فاکتور گسترش دهنده تومور (TNF-α) و اینترلوکین ۶ افزایش می یابد [۳۵].

پس از ایجاد کیندلینگِ آمیگدال در موشهای صحرایی نیز مقدار اینترلوکین ۱ بتا و TNF-α افزایش می‌یابد [۳۶]. به نظر می رسد واسطه های التهابی، از یک طرف با افزایش انتقال گلوتاماترژیک [۳۷]، و از طرفی دیگر با کاهش مقدار نوروترانسمیتر GABA و در نهایت مهار انتقال گابا ارژیک [۳۸]، به عنوان پیش برنده تشنج عمل می کنند.

در نتایج حاصل از مشخص شده است که اثرات تشنج آور هارمالین به وضوح قابل مشاهده و ثبت نبود که احتمالا این عمل می تواند به دلیل اثرات ضد التهابی هارمالین باشد. هارمالین با مهار بعضی از واسطه های التهابی نظیر پروستاگلاندین ها (PGE_2) و فاکتور نکروزیس تومور (TNF-α) این اثر را اعمال می کند و در نتیجه از بروز التهاب و به دنبال آن تشنج جلوگیری می کند. زیرا

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

همانطور که ذکر شد عوامل التهاب زا در مغز زمینه را برای بروز تشنج مهیا می کنند. آثار الکتروفیزیولوژیک هارمالین با دوزهای mg/kg ۵۰، ۱۵ و ۵ (در گروه های کاملا کیندل شده) به شکل افزایش در ADD آمیگدال دیده شد. این افزایش ADD فقط در دوز ۱۵mg/kg معنادار شد. ADD نشانگر فعالیت مدارهای موضعی در ناحیه ثبت است که به خاصیت ذاتی نورون‌ها و مدارهای آن ناحیه بستگی دارد [۳۹]. با توجه به اینکه هارمالین به واسطه تحریک گیرنده های NMDA و مهار گیرنده های GABA باعث افزایش فعالیت نورونها و تولید پتانسیل عمل های با فرکانس بالا می‌شود افزایش ADD پس از تزریق هارمالین در این مطالعه قابل انتظار می باشد.

در مطالعه حاضر، همچنین نشان داده شد که تزریق هارمالین مرحله S_4L را کوتاه تر می‌کند. به عبارت دیگر هارمالین مرحله عمومی شدن تشنج را در کیندلینگ آمیگدال کوتاه ترکرده است. از آنجایی که S_4L شاخص سرعت عمومی شدن حملات تشنجی است و مربوط به درگیر شدن مدارهای ساقه مغز است که منجر به عمومی شدن تشنج می شود. از طرفی تزریق هارمالین به داخل صفاق S_5D را نیز افزایش داد. این نشان می‌دهد که طول مدت حملات تونیک - کلونیک پس از تزریق هارمالین به دلیل خاصیت تشنج زایی این ترکیب شیمیایی، افزایش می یابد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر هارمالین (به عنوان یکی از ترکیبات گیاه اسپند) به عنوان پیش برنده تشنج و تشدید کننده حملات معرفی می شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار (کد طرح: ۳۹۳۰۱۰۱۶۰) و گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفته است.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

References

1. Banerjee PN, Filippi D, Hauser WA, The descriptive epidemiology of epilepsy, Epilepsy Res.2009; 85:31-45.
2. Goddard G, McIntyre D, A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation,Exp Neurol, 1969; 25(3): 295-330.
3. Kraus J, Sensitization phenomena in psychiatric illness lessons from the kindling model, J Neuropsychiatry Clin Neurosci, 2000; 12(3): 328-343.
4. Ure, JA and M. Perassolo, Update on the pathophysiology of the epilepsies, J Neurol Sci, 2000; 177(1): 1-17.
5. Pan Y, Liu G, Fang M, "et al", Abnormal expression of netrin-G2 in temporal lobe epilepsy neurons in humans and a rat model, Exp Neurol, 2010;224(2):340-6.
6. Kim H, Jee EH, Ahn KS, "et al", Identification of marker compounds in herbal drugs on TLC with DART-MS, Arch Pharmacol Res, 2010; 33(9): 1355-1359.
7. Salah S, Jäger A, Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities, J Ethnopharmacol, 2005;97(1): 145-149.
8. Achliya G, Wadodkar S, Dorle A, Evaluation of sedative and anticonvulsant activities of Unmadnashak Ghrita, J Ethnopharmacol, 2004; 94(1): 77-83.
9. Arash A, Mohammad MZ, Jamal MS," et al", Effects of the Aqueous Extract of Anethum graveolens Leaves on Seizure Induced by Pentylenetetrazole in Mice, Malays J Med Sci. 2013; 20(5):23-30[Persian].
10.Mahmoudian M, Jalipour H, Dardashti PS, Toxicity of Peganum harmala: review and a case report, Iran J Pharmacol Ther. 2002; 1(1): 1-4[Persian]..
11.Shourmasti FR, Goudarzi I, Abrari K, "et al", Riluzole Ameliorates Harmaline-induced Tremor in Rat, Basic Clin Neurosci, 2014; 5(2):138-43[Persian]..
12.Rommelspacher H, Meier-Henco M, Smolka M, "et al", The levels of norharman are high enough after smoking to affect monoamineoxidase B in platelets, Eur J Pharmacol, 2002; 441(1-2):115-25.
13.Verheij R, Timmerman L, Passchier J, "et al",Trait anxiety, coping with stress, and norharman, Psychol Rep, 1997; 80(1):51-9.
14.Vaezi G, Naseirzadeh F,The Effect of Synchronus Intraperitoneal Injection of Harmaline and PTZ on Serotonergic and Gabaergic Pathways and Seizure Threshold in NMRI Male Mice, Journal of Animal Biology,2011; 3(1): 61-73 [Persian]
15.Lee CS, Han ES, Jang YY, "et al", Protective Effect of Harmalol and Harmaline on MPTP Neurotoxicity in the Mouse and Dopamine-Induced Damage of Brain Mitochondria and PC12 Cells. J Neurochem, 2000; 75(2): 521-531.
16.Gurbanova AA, Aker RG, Sirvanci S," et al", Intra-amygdaloid injection of kainic acid in rats with genetic absence epilepsy: the relationship of typical absence epilepsy and temporal lobe epilepsy, Journal of neuroscience methods, 2008;28(31):7828-36.
17.Paxinos G, Watson CR, Emson PC, AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates, J Neurosci Methods, 1980;3(2):129-49.
18.Shindo A, Nakamura T, Matsumoto Y, "et al", Seizure suppression in amygdala-kindled mice by transplantation of neural stem/progenitor cells derived from mouse embryonic stem cells, Neurologia medico-chirurgica, 2010;50(2):98-105
19.Beheshti Nasr SM, Moghimi A, Mohammad-Zadeh M, "et al",The effect of minocycline on seizures induced by amygdala kindling in rats, Seizure, 2013; 22(8): 670-4[Persian].
20.Gunn JA, Relations between chemical constitution, pharmacological actions and therapeutic uses, in the harmine group of alkaloids, Arch Intern Pharmacodyn,1935; 50: 379-396.
21.Degen J, Meier C, Van Der Giessen RS, "et al", Expression pattern of lacZ reporter gene representing connexin36 in transgenic mice, J Comp Neurol., 2004;473:511–525
22.Herraiz T, Guillén H, Inhibition of the bioactivation of the neurotoxin MPTP by antioxidants, redox agents and monoamine oxidase inhibitors, Food Chem Toxicol , 2011;49:1773–81.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

23.Brailowsky S, Walter S, Indole alkaloids induction of tremors: effect on photosensible epilepsy in Papiopapio, C R Seances Soc Biol Fil.,1975;169(5): 1190-3.
24.Du, W, Harvey J, Harmaline-induced tremor and impairment of learning are both blocked by dizocilpine in the rabbit, Brain Res, 1997;745(1-2):183-8.
25.Paterson NE, Malekiani SA, Foreman MM, "et al", Hanania Pharmacological characterization of harmaline-induced tremor activity in mice, Eur J Pharmacol, 2009; 616:73–80.
26.Lehmann J, Chapman AG, Meldrum BS, "et al", CGS 19755 is a potent and competitive antagonist at NMDA-type receptors, Eur J Pharmacol,1988 ;154(1):89-93.
27.Mehta H, Saravanan KS, Mohanakumar KP, Serotonin synthesis inhibition in olivo-cerebellar system attenuates harmaline-induced tremor in Swiss albino mice, Behav Brain Res. 2003;145:31–6.
28.Tariq M, Arshaduddin M, Biary N, "et al", Baclofen attenuates harmaline induced tremors in rats, Neurosci lett. 2001; 312:79–82.
29.Iversen LL, Neal MJ, The uptake of [3H]GABA by slices of rat cerebral cortex, Journal of Neurochemistry,1968;15,1141-1149.
30.Lista A, Blier P, De Montigny C, In vivo presynaptic modulation of serotonergic neuro-transmission in the rat hippocampus by diazepam, Eur J Pharmacol , 1989;171,229-231
31.Ahmad S, Fowler L, Whitton P , Effects of combined lamotrigine and valproate on basal and stimulated extracellular amino acids and monoamines in the hippocampus of freely moving rats, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2005;371,1–8.
32.Sitges M, GuarnerosA, Nekrassov V, Effects of carbamazepine, phenytoin, valproic acid, oxcarbazepine, lamotrigine, topiramate and vinpocetine on the presynaptic Ca^{2+} channel-mediated release of [3H]glutamate: comparison with the Na^{+} channel-mediated release, Neuropharmacol, 2007; 53, 854–862.
33.Golmohammadi R, Pejhan A, Azhdari-Zarmehri H, "et al", The role of ethanol on the anticonvulsant effect of valproic acid and cortical microvascular changes after epileptogenesis in mice, Neurol Sci. 2013;34(7):1125-31[Persian].
34.Allan SM, Rothwell NJ, Cytokines and acute neurodegeneration.Nature reviews, Neuroscience, 2001;2(10):734-44.
35.Godlevsky LS, Shandra AA, Oleinik AA, "et al", TNF-alpha in cerebral cortex and cerebellum is affected by amygdalar kindling but not by stimulation of cerebellum, Journal de pharmacologie, 2002; 54(6):655-60.
36.Evseev VA, Vetrile LA, Karpova MN, Neuroimmunopathologic aspects of pilepsy, Vestn Ross Akad Med Nauk, 2004(8):43-6.
37.Jacque C, Tchelingerian JL, New concepts on the role of cytokines in the central nervous system,Revue neurologique, 1994;150(11):748-56.
38.Heidarianpour A, Sadeghian E, Mirnajafi-Zadeh J, "et al", Anticonvulsant effects of N^{6}-cyclohexyladenosine microinjected into the CA1 region of the hippocampus on entorhinal cortex-kindled seizures in rats,Epileptic disorders, 2006; 8(4): 259-266[Persian].

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

Orginal Article

Effect of Harmaline on seizure induced by amygdala kindling in rats

*Alenajaf A[1], Fereidooni M[2], Moghimi A[2], Mohebi E[3], Mohammad-Zadeh M[4]**

[1]MSc Student, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
[2]Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
[3] Student Research Committee, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
[4]Department of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.
***Corresponding Author:** School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.
Email: mohamadzadehm@medsab.ac.ir

Abstract

Background & Objectives: *Harmaline is one of the beta carboline of Peganumharmal. Harmaline and other carbolines are inverse agonists for benzodiazepine receptors with many inverse effects of benzodiazepines including anxiety and CNS excitement. The aim of this study is the effect of harmaline on seizure- induced by amygdala kindling in rats.*

Materials & Methods: *in this experimental study, eighteen kindled wistar rats (3 groups) were injected intraperitoneally with saline and on the following day, with Harmaline (50, 25, 12.5 mg/kg). After discharge duration (ADD), stage 5 duration (S_5D), stage 2 latency (S_2L) and stage 4 latency (S_4L) of seizures were recorded and compared with those of the saline groups.*

Results: *Harmaline reduced S_2L and S_4L in 3 groups, and increased ADD and S_5D not significantly but increased ADD only in group 15 mg/kg significantly ($P<0.05$).*

Conclusion: *The obtained results revealed that harmaline has proconvulsant effect and maybe via stimulation of excitatory pathways or blocking of inhibitory pathways, or any other excitatory mechanisms cause increase in neuron activity and firing.*

Keywords: *Seizure, Harmaline, Kindling, Amygdala*

Journal of North Khorasan University 2014;6(4):697-706

Recivied:28 May 2014
Revised:23 Nov 2014
Accepted:31 Dec 2014

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]