Journal of Gorgan University of Medical Sciences

e-ISSN: 2008-4080 p-ISSN: 1562-4765

2023 / Vol 25 / No 1

OPEN ACCESS

Original Paper

Effect of Hydroalcoholic Extract of *Rosa damascena* on Hippocampal Tissue Changes in Temporal Lobe Epilepsy in Rats

Reyhanesadat Hashemi-Golpayegani (M.D)[1], Reza Sedaghat (Ph.D)[2]
Narges Haddadzadeh-Niri (M.Sc)[3], Mehrdad Roghani (Ph.D)*[4]

1 General Physician, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran. 2 Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.
3 M.Sc in Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran. 4 Professor, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Temporal lobe epilepsy is characterized by the degeneration of hippocampal neurons and the sprouting of mossy fibers in the dentate area. This study aimed to investigate the impact of the hydroalcoholic extract of Rosa damascene on hippocampal tissue changes induced by kainic acid-induced epilepsy in rats.

Methods: In this experimental study, 28 male Wistar rats weighing between 185-225 grams were used. The animals were divided into four groups: sham group, sham treated with hydroalcoholic extract, epilepsy (kainic acid), and epilepsy pretreated with hydroalcoholic extract. Kainic acid was used for intra-hippocampal and unilateral injection to induce epilepsy in the animals at 0.8 micrograms per rat. The rats were given 500 mg/kg of the extract intraperitoneally daily for one week before surgery. Five weeks after surgery, thionin and Tim staining methods were performed on the hippocampal slices.

Results: Kainic acid-induced epilepsy resulted in convulsive behavior, and pretreatment with the hydroalcoholic extract significantly reduced the intensity of convulsive attacks ($P<0.05$). The density of neurons in the CA3 area of the hippocampus in the kainic acid group showed a significant decrease compared to the sham group ($P<0.05$), while pretreatment with the extract caused a significant increase in the number of neurons in this area compared to the kainic acid group. Additionally, a significant increase in the intensity of mossy fiber sprouting was observed in epileptic rats compared to the sham group, and pretreatment with the extract significantly decreased its intensity ($P<0.05$).

Conclusion: The pre-treatment with the hydroalcoholic extract of *Rosa damascena* decreased convulsive behavior, protected hippocampal CA3 neurons and reduced the intensity of sprouting in the hippocampal dentate region in the experimental model of temporal lobe epilepsy induced by kainic acid.

Keywords: *Rosa*, Epilepsy, Seizures, Mossy Fiber, Hippocampus.

***Corresponding Author:** Mehrdad Roghani (Ph.D), E-mail: mehjour@yahoo.com

Received 9 May 2022
Final Revised 6 Sep 2022
Accepted 7 Sep 2022
Published Online 21 Jun 2023

Cite this article as: Hashemi-Golpayegani R, Sedaghat R, Haddadzadeh-Niri N, Roghani M. [Effect of Hydroalcoholic Extract of *Rosa damascena* on Hippocampal Tissue Changes in Temporal Lobe Epilepsy in Rats]. J Gorgan Univ Med Sci. 2023; 25(1): 20-28. [Article in Persian]

© The author(s)
Owned: Golestan University of Medical Sciences **Publisher:** Deputy of Research and Technology

مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان

بهار ۱۴۰۲ / دوره ۲۵ / شماره ۱ (پی در پی ۸۵)

دارای رتبه علمی -پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

e-ISSN: ۲۰۰۸-۴۰۸۰ p-ISSN: ۱۵۶۲-۴۷۶۵

با دسترسی آزاد

تحقیقی

اثر عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی بر تغییرات بافتی هیپوکمپ موش صحرایی در مدل صرع القاء شده با اسید کاینیک

دکتر ریحانه سادات هاشمی گلپایگانی[۱]، دکتر رضا صداقت[۲]، نرگس حدادزاده نیری[۳]، دکترمهرداد روغنی*[۴]

[۱] دانش آموخته پزشکی عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران. [۲] دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

[۳] کارشناس ارشد رشته فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران. [۴] استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: *صرع لوب گیجگاهی با تحلیل رفتن نورون‌های هیپوکمپ و جوانه زدن فیبرهای خزه‌ای ناحیه دندانه‌ای همراه است. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی بر تغییرات بافتی هیپوکمپ موش صحرایی در مدل صرع القاء شده با اسید کاینیک انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه تجربی روی ۲۸ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۵-۱۸۵ گرم انجام شد. موش‌های صحرایی به ٤ گروه ۷ تایی شامل گروه‌های شم، شم تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی، صرعی (اسید کاینیک) و صرعی پیش تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی تقسیم شدند. برای صرعی نمودن حیوانات از تزریق داخل هیپوکمپی و یک طرفه اسید کاینیک به میزان ۰/۸ میکروگرم به ازای هر موش استفاده شد. موش‌های صحرایی، گل‌محمدی را به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از راه داخل صفاقی، روزانه و به مدت یک هفته تا زمان جراحی دریافت کردند. پنج هفته بعد از جراحی، روش‌های رنگ‌آمیزی تیونین و تیم در مورد برش‌های هیپوکمپ انجام شد.*

یافته‌ها: *القای صرع با اسید کاینیک با یک رفتار تشنجی بارز همراه بود و پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی موجب کاهش معنی‌دار شدت حملات تشنجی گردید (P<۰/۰۵). تراکم نورون‌ها در ناحیه CA3 هیپوکمپ در گروه اسید کاینیک کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه شم نشان داد (P<۰/۰۵). پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی موجب افزایش معنی‌دار نورون‌های این ناحیه در مقایسه با گروه اسیدکاینیک گردید (P<۰/۰۵). از نظر شدت جوانه زدن فیبرهای خزه‌ای در موش‌های صرعی، یک افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شم مشاهده شد (P<۰/۰۵) و پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی موجب کاهش معنی‌دار آن گردید (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی موجب بهبود رفتار تشنجی و حفاظت نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکمپ و کاهش شدت جوانه زدن در ناحیه دندانه‌ای هیپوکمپ در مدل تجربی صرع لوب گیجگاهی القا شده با اسید کاینیک گردید.*

واژه‌های کلیدی: *گل‌محمدی ، صرع ، تشنج ، جوانه زدن فیبرهای خزه‌ای ، هیپوکمپ*

* نویسنده مسؤول: دکتر مهرداد روغنی ، پست الکترونیکی mehjour@yahoo.com

نشانی: تهران، بزرگراه خلیج فارس، دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن ۵۱۲۱۲۶۴۱-۰۲۱، نمابر ۵۱۲۱۲۶۰۲

وصول ۱۴۰۱/۲/۱۹ اصلاح نهایی ۱۴۰۱/۶/۱۵ پذیرش ۱۴۰۱/۶/۱۶ انتشار ۱۴۰۲/۳/۳۱

مقدمه

صرع یک اختلال مغزی مزمن و گسترده جهانی است که بر یک درصد از جمعیت جهان، با پیامدهای مهم بر کیفیت زندگی مبتلایان تأثیر می‌گذارد.[۱] صرع شامل گروهی از اختلالات است که به علت فعالیت الکتریکی غیرطبیعی مغز ایجاد شده و با تغییرات مزمن عود کننده و ناگهانی عملکرد عصبی مشخص می‌شود. حملات صرعی ممکن است به شکل تشنج یا عملکردهای عصبی دیگر (حسی، شناختی و عاطفی) تظاهر نمایند. ازدیاد تحریکات برخلاف پدیده مهارکننده، تمایل دارد خود را از محدودیت موضعی خارج کرده و به نقاط دیگر انتشار یابد. عواملی که تحریکات نورونی را تشدید می‌کنند و دپولاریزاسیون نورونی را بالاتر می‌برند؛ شامل کمبود اکسیژن، کمبود گلوگز خون، کمبود کلسیم، آلکالوز خونی، احتباس مایعات در بدن، کمبود خواب و بعضی از داروها است و بالعکس عواملی چون اسیدوز خونی، کاهش مایعات بدن، افزایش کلسیم خون و کاربرد بعضی از داروها موجب کاهش تحریک‌پذیری می گردند. صرع به دو نوع فراگیر و موضعی تقسیم می‌شود. صرع موضعی از یک کانون سلول‌های عصبی در یک نیمکره مغزی منشا می‌گیرد و به دو گروه ساده و پیچیده تقسیم

می‌شود.[۲] صرع فراگیر اولیه نتیجه تخلیه ناگهانی هر دو نیمکره است که ممکن است به صورت صرع تونیک-کلونیک همراه با کاهش سطح هوشیاری (صرع گراندمال)، صرع تونیک یا کلونیک با یا بدون کاهش سطح هوشیاری بروز کند. صرع لوب گیجگاهی یک بیماری عصبی مزمن است که فراوان‌ترین نوع صرع موضعی در بزرگسالان محسوب می‌شود.[۲] تخلیه‌های صرعی شکل غیرطبیعی نتیجه ارتباط تغییر یافته سلول به سلول، هم به صورت شیمیایی و هم به صورت الکتریکی است. MRI آتروفی گسترده در نواحی هیپوکمپ و پاراهیپوکمپ به ویژه در سر و تنه هیپوکمپ و قشر آنتورینال را تأیید کرده است.[۱] صرع لوب گیجگاهی از نظر بافت‌شناسی و آسیب‌شناسی به دو قسمت صرع حمله‌ای لوب گیجگاهی و اسکلروز هیپوکمپ تقسیم می‌شود. در ۷۰ درصد بیماران اسکلروز هیپوکمپ ضایعاتی شامل دژنراسیون سلول‌های عصبی، آستروگلیوز و جوانه زدن نابجای فیبرهای خزه‌ای در لایه داخلی مولکولی شکنج دندانه‌دار مشاهده شده است. در مقابل در بیماران صرع حمله‌ای لوب گیجگاهی ضایعه‌ای مشاهده نشد.[۲] به علت کاهش تشنج پس از قطع یک طرفه هیپوکامپ و یافتن ضایعات در آن، هیپوکامپ به عنوان محل ساخت تشنج مورد توجه قرار گرفت. بنابراین بیشتر تحقیقات بر فهم و دوباره‌سازی پاتوژنز اسکلروز هیپوکامپ تمرکز کرده‌اند.[۳] صرع لوب گیجگاهی به صورت علامتی با داروهای ضدتشنج درمان می‌شود. با این وجود ۴۰ درصد بیماران صرع داخلی لوب گیجگاهی به درمان دارویی مقاوم هستند. بیماران مبتلا به آتروفی یا اسکلروز ناحیه گیجگاهی می‌توانند تشنج‌های سریع ولتاژ پایین را نشان دهند. معمولاً تجویز داروهای تشنج‌زای شیمیایی مختلف به صورت سیستمیک یا مستقیم در مغز برای تحریک صرع به کار می‌رود. اسید کاینیک (Kainic Acid: KA) و پیلوکارپین از مواردی هستند که به طور گسترده استفاده می‌شوند. آسیب عصبی ناشی از اسید کاینیک ظرف ۴۸ ساعت پس از القاء صرع قابل مشاهده است. حیوانات تحت درمان با اسید کاینیک سطح اضطراب بالاتری نسبت به حیوانات تحت درمان با پیلوکارپین را نشان داده‌اند.[۴]

اسید کاینیک یک ماده تحریک کننده عصبی قوی است که در برخی از جلبک‌های دریایی یافت می‌شود که گیرنده‌های یونوتروپیک گلوتامات آمینوی ۳ را فعال می‌کند.[۱] اسید کاینیک آنالوگ حلقوی L- گلومات و آنتاگونیست گیرنده‌های یونوتروپیک است که به نورون‌های هرمی هیپوکمپ آسیب می‌رساند. تزریق اسید کاینیک منجر به فعال شدن گیرنده های همزاد آن می‌شود. گیرنده‌های اسید کاینیک را در جاهای مختلف مغز از جمله قشر آنتورینال، مخچه، آمیگدال، گانگلیون‌های پایه و در هیپوکمپ به طور خاص فراوان می‌توان یافت. گیرنده‌های اسید کاینیک پنج نوع (K1-K5) هستند که نوع K4 منحصراً در میدان هیپوکمپ CA3 یافت می‌شود. در حالی که بیان آن در CA1 کم است. نوع K5 در هر دو ناحیه بیان می‌شود. این واقعیت که این دو زیر واحد میل ترکیبی بالایی با اسید کاینیک دارند و عمدتاً هم در CA3 متمرکزند؛ ممکن است بتواند الگوی آسیب اکسیتوتوکسیک موجود در این منطقه را توضیح دهد. روش‌های تجویز اسید کاینیک می‌تواند متفاوت باشد؛ از جمله سیستمیک، داخل مغزی و داخل بینی. روش تزریق داخل هیپوکمپ دور زدن سد خونی مغزی و میزان مرگ و میر کمتر از روش سیستمیک است. همچنین با کاشت الکترود در این روش، تکرارپذیری خوبی را فراهم می‌کند.[۴] گیرنده‌های اسید کاینیک عمدتاً در ناحیه CA3 نورون‌های هرمی بیان می‌شوند. اتصالات بین سلولی در موش‌های صرعی در ناحیه CA1 و CA3 و شکنج دندانه‌دار به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابند.[۱] در تحقیقی استفاده از اسید کاینیک باعث از دست رفتن ۳۰ درصد سلول‌های پیرامیدال در ناحیه CA1 و ۱۰ درصد در نواحی دورتر شد. از دست رفتن نورون‌های پیرامیدال در ناحیه CA3 نیز گزارش شده است.[۴]

گل‌محمدی یا گلاب با نام علمی *Rosa damascena* از خانواده گل سرخ است که به عنوان نشاط‌آور، ضدافسردگی، ضد استرس و کاهش‌دهنده استرس اکسیداتیو مطرح است. اثر سودمند گل‌محمدی در بیماری آلزایمر اثبات شده و به عنوان یک عامل ضدتشنج در مدل صرع القا شده با پنتیلن تترازول گزارش شده است.[۵-۸] چندین ترکیب از جمله فنولیک‌ها، ترپنوئیدها، گالاکتولیپیدها، کاروتنوئیدها، اسیدهای میوه و روغن های چرب را می‌توان مسؤول اثرات فارماکولوژیک و بالینی مشاهده شده در نظر گرفت. تحقیقات بیشتری برای توضیح این که چگونه و به چه روشی ترکیبات منفرد گل‌محمدی با اهداف دارویی مولکولی خود تعامل دارند؛ مورد نیاز است.[۹] ترکیبات زیست فعال موجود در اسانس‌ها، به ویژه ترپن‌ها و ترپنوئیدها دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی از جمله ضدسرطان، ضدمیکروبی، ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدحساسیت هستند.[۱۰] فنولیک‌ها نیز علاوه بر اثر مهاری آنزیم دارای همین اثرات هستند.[۱۱] هر کدام از قسمت‌های گل‌محمدی حاوی ترکیبات متفاوتی است که بسته به نوع آن خواص گوناگونی دارد. برای مثال عصاره آبی و گرم آن در برابر باسیلوس سوبتلیس، اشرشیاکولی و پروتئوس ولگاریس بسیار مؤثر است. در حالی که عصاره متانولی و سرد آن در برابر آسپرژیلوس فومیگاتوس و کاندید آلبیکانس نسبتا مؤثر است. عصاره الکلی گل‌محمدی فعالیت ضدمیکروبی دارد؛ اما این اثر در عصاره‌های آبی آن بیشتر یافت شد.[۱۲] با توجه به اهمیت روزافزون استفاده از منابع طبیعی از جمله گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های عصبی،[۱۳] این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره

هیدروالکلی گل‌محمدی بر تغییرات بافتی هیپوکمپ موش صحرایی در مدل صرع القاء شده با اسید کاینیک انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۸ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۵-۱۸۵ گرم در دانشگاه شاهد طی سال ۱۳۹۵ انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه شاهد (IR.SHAHED.REC.1394.134) قرار گرفت. پروتکل اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

حیوانات در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات، آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش به مدت ۶ هفته دسترسی داشتند. مطالعه براساس دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری به انجام رسید.

برای صرعی نمودن حیوانات از اسید کاینیک (سیگما، آمریکا) به میزان ۰/۸ میکروگرم[۱۴] به ازای هر موش حل شده در محلول نرمال سالین استفاده که به داخل ناحیه CA3 هیپوکامپ سمت راست تزریق شد. مختصات تزریق شده شامل قدامی خلفی: ۴/۱ میلی‌متر؛ جانبی: ۴/۱ میلی‌متر و ونترال: ۴/۲-۴ میلی‌متر زیر سطح جمجمه بودند. تزریق با استفاده از سرنگ هامیلتون (حجم تزریقی برابر با ۵ میکرولیتر) و به روش استریوتاکسی و بیهوشی با کلرال هیدرات ۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد.[۱۵-۱۷] گروه شم فقط محلول سالین را با همان حجم دریافت نمود. عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم[۱۸] (حل شده در نرمال سالین) به‌طور روزانه و به فرم داخل صفاقی از یک هفته قبل از جراحی تا یک ساعت قبل از جراحی تزریق شد.

موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه اول: شم (جراحی کاذب).

گروه دوم: شم دریافت کننده عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی (شم + گل‌محمدی به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

گروه سوم: صرعی (اسید کاینیک).

گروه چهارم: صرعی دریافت کننده عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی (اسید کاینیک + گل‌محمدی گل‌محمدی به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

در ۲۴ ساعت اول پس از جراحی، موش‌ها از نظر رفتار تشنجی براساس تقسیم‌بندی راسین (رتبه بندی از صفر تا پنج)[۱۹] در یک فاصله زمانی چهار ساعته با استفاده از دوربین ثبت رفتار و انتقال داده‌ها به کامپیوتر مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این خصوص، نمره صفر برای عدم مشاهده پاسخ، نمره یک برای مانتینگ، چشمک زدن و یا کلونوس صورت در حد خفیف، نمره دو برای تکان دادن سر و یا کلونوس‌های متعدد در ناحیه سر، نمره سه برای پرش‌های میوکلونیک در اندام‌های حرکتی جلو، نمره چهار برای تشنجات کلونیک در اندام حرکتی جلویی و بلند شدن بر روی دو پا و نمره پنج برای تشنجات کلونیک و سراسری در بدن و از دست رفتن تعادل در نظر گرفته شدند.

تهیه عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی: گیاه گل‌محمدی از مزرعه پرورشی واقع در اطراف تبریز جمع‌آوری شد و تایید علمی در دانشکده داروسازی علوم پزشکی تبریز (شماره هرباریوم FPH-4043) انجام شد. پس از خشک نمودن برگ‌ها، ۵۰۰ گرم پودر آن به دو لیتر اتانل ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۲ روز در سایه و دمای اطاق نگهداری شد. در ادامه پس از سه بار فیلتر نمودن، عمل تبخیر و تغلیظ در دستگاه اواپوراتور (IKA, Germany) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و بن ماری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای حذف کامل الکل انجام شد. راندمان تولید محصول نیز ۱۴/۵ درصد بود. براساس منابع موجود، این عصاره حاوی درصد بالا از ترپن‌ها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها بود.[۵]

تهیه نمونه‌های بافتی: پس از بیهوش کردن موش‌ها با کتامین ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم پوست و جدار قدامی قفسه‌سینه برداشته شد. آئورت نزولی کلمپ شد تا محلول ثابت کننده در قسمت بالایی بدن جریان یابد. پس از تزریق هپارین یک درصد به بطن چپ، کانول ست پرفیوژن به بطن چپ وارد شد و به ترتیب محلول نرمال سالین، محلول سولفید سدیم ۱/۲ درصد فسفات سدیم دی بازیک و محلول پارافرمالدئید عبور داده شدند. با پاره کردن همزمان دهلیز راست خون و محلول اضافی خارج شد و برای شستشو از سرم استفاده شد. هنگامی که خون کاملاً تخلیه شد؛ محلول فرمالین انفوزیون شد و اکثر بخش‌های بدن از جمله دست‌ها، با مقداری لرزش سفت و سخت شد. بافت مغز خارج شده به مدت ۳-۲ روز در محلول فیکساتیو قرار گرفت.

تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی‌های تیونین و تیم: برش‌گیری به‌وسیله دستگاه میکروتوم فریزینگ (لایکا، آلمان) انجام شد. پس از عاری کردن نمونه‌ها از محلول فیکساتیو و شستشوی مکرر و قرار دادن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار به مدت ۳ ساعت، نمونه‌ها در محلول سوکروز ۳۰ درصد به مدت ۳-۲ روز قرار داده شدند. پس از جداسازی بلوک مغز حاوی هیپوکمپ از سایر قسمت‌های مغز و قرار دادن روی پایه مخصوص، برش‌ها با ضخامت ۲۰ میکرون تهیه شدند. بررسی هیستوپاتولوژیک با روش رنگ‌آمیزی تیونین انجام شد.[۲۰] رنگ‌آمیزی به روش تیونین با طی مراحلی از جمله آبدهی، رنگ‌آمیزی، شستشو در آب مقطر و آبگیری انجام شد. غلظت محلول تیونین ۰/۵ درصد و مدت رنگ‌آمیزی ۱۵-۱۰ دقیقه بود که

پس از طی مراحل فوق لامل گذاری با دقت و بدون ایجاد حباب و با استفاده از چسب انتلان (مرک،آلمان) انجام گردید. برای شمارش نورونی در ناحیه CA3 هیپوکمپ در رنگ‌آمیزی تیونین برش‌های هیپوکمپ در محدوده ۶/۲-۴/۴ میلی‌متر اینتراورال اطلس پاکسینوس و واتسون مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد نورون‌ها در واحد سطح در بزرگ‌نمایی 400X شمارش شدند. در هر حیوان شمارش برای حداقل ۲ برش انجام شد و نورون‌های رنگ گرفته با محدوده سیتوپلاسمی واضح شمارش شدند. برای رنگ‌آمیزی تیم، مراحل به ترتیب شامل آبدهی، قراردادن نمونه‌ها در محلول کاری تیم حاوی صمغ عربی ۵۰ درصد، ۳۰ میلی‌لیتر بافر سدیم سیترات ۲ مولار، ۹۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکینون ۵/۶ درصد و محلول نیترات نقره ۱۷ درصد در اتاق تاریک به مدت ۶۰ دقیقه، شستشو در آب مقطر و آبگیری و شفاف‌سازی در گزیلل و لامل گذاری با استفاده از چسب انتلان (مرک، آلمان) بود.

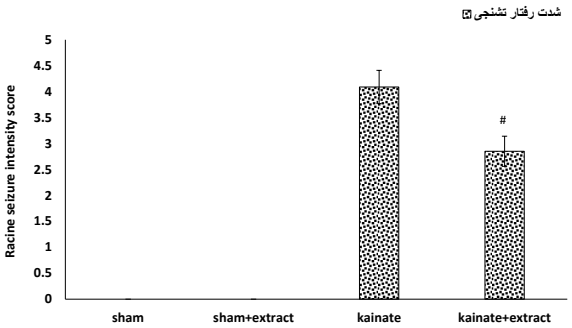
برای بررسی شدت اسپروتینگ فیبرهای موشی در ناحیه دنتیت هیپوکمپ، از روش رنگ‌آمیزی تیم با نیترات نقره استفاده شد و در این رابطه اندیس تیم محاسبه گردید.

آنالیز آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot-12 تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به صورت میانگین و خطای استاندارد (SEM) بیان گردید. پس از مشخص نمودن توزیع داده‌ها، برای آنالیز داده‌های تست‌های بافتی، شمارش نورون‌ها و اندیس تیم از آزمون ANOVA یک‌طرفه و پست تست توکی و برای کمیت رفتار تشنجی از آزمون unpaired t test استفاده گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

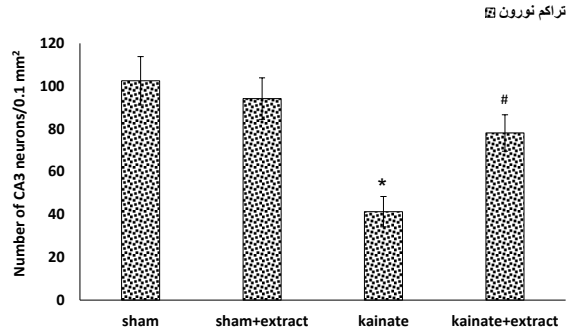
یافته‌ها

نتایج مربوط به کمیت رفتار تشنجی حیوان بر اساس تقسیم‌بندی راسین (رتبه بندی از ۰ تا ۵) در گروه‌های مختلف در نمودار یک آمده است. در این خصوص در گروه‌های شم و شم پیش تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی، هیچگونه رفتار تشنجی در حیوانات مشاهده نشد. در گروه صرعی شده با اسید کاینیک یک رفتار تشنجی بارز مشاهده شد و پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی در مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار رفتار تشنجی گردید (P<۰/۰۵). در گروه شم، در ناحیه CA3 هیپوکامپ، نورون‌های هرمی با سیتوپلاسم واضح قابل مشاهده بودند؛ در گروه شم پیش تیمار شده با عصاره الکلی گل‌محمدی، تغییر خاصی از این نظر مشاهده نشد. در گروه صرعی شده با اسید کاینیک اندازه نورون‌ها کوچک‌تر و محدوده سیتوپلاسمی سلول نیز در بیشتر موارد خوب مشخص نبود و در گروه صرعی و پیش تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وضعیت بهتری از این نظر وجود داشت (شکل‌های ۱و۲).

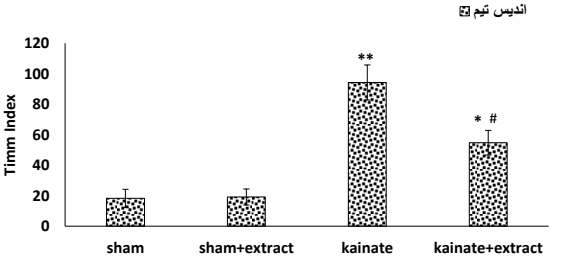
از نظر تراکم سلولی، پیش تیمار گروه شم با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی تغییر معنی‌دار، در این ناحیه در مقایسه با گروه شم ایجاد ننمود. در گروه صرعی شده با اسید کاینیک، یک کاهش بارز و معنی‌دار تراکم نورونی در این ناحیه مشاهده گردید (P<۰/۰۱) و پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی، موجب بیشتر بودن تراکم نورونی در ناحیه CA3 در مقایسه با گروه صرعی گردید (P<۰/۰۵) (نمودار ۲).



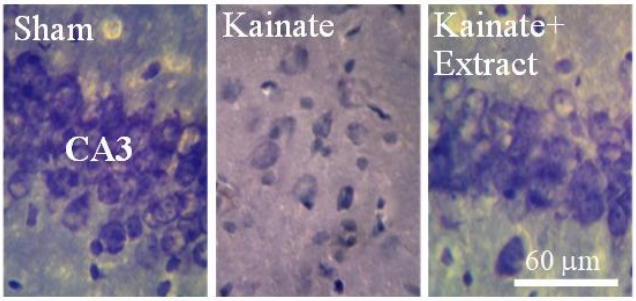
نمودار ۱ : شدت رفتار تشنجی براساس تقسیم‌بندی راسین در موش‌های صحرایی کنترل و صرعی پیش‌تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل محمدی به میزان ۵۰۰ mg/kg در ۲۴ ساعت اول پس از جراحی.
P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه Kainate



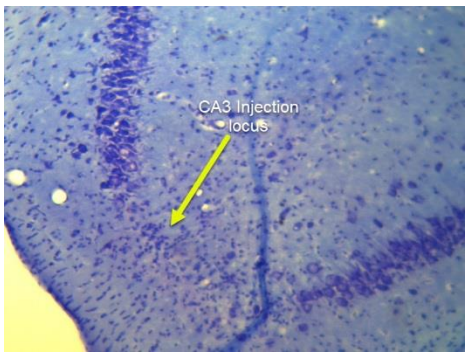
نمودار ۲ : تراکم نورون‌های رنگ آمیزی شده با رنگ آمیزی تیونین در ناحیه CA3 هیپوکامپ در موش‌های صحرایی کنترل و صرعی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل محمدی به میزان ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم.
* P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه شم؛ # P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه Kainate



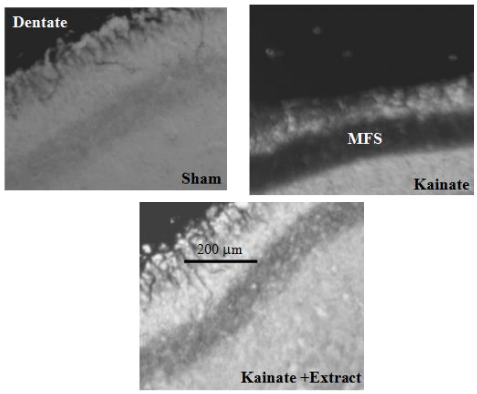
نمودار ۳ : اندیس تیم در ناحیه دنتیت هیپوکامپ در موش‌های صحرایی کنترل و صرعی پیش‌تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل محمدی به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم
* P<۰/۰۵ و ** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شم
# P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه Kainate



شکل ۱ : عکس میکروسکوپ نوری از ناحیه CA3 هیپوکمپ گروه‌های مختلف رنگ آمیزی شده با رنگ تیونین



شکل ۲ : محل تزریق اسیدکاینیک در خمیدگی ناحیه CA3 هیپوکمپ



شکل ۳ : عکس میکروسکوپ نوری از ناحیه دنتیت هیپوکامپ گروه‌های مختلف رنگ‌آمیزی شده با روش تیم.

شدت اسپروتینگ فیبرهای موشی در ناحیه دنتیت هیپوکمپ گروه شم پیش تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی، تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه شم نشان نداد. در گروه صرعی شده با اسید کاینیک افزایش بارز و معنی‌دار این اندیس در مقایسه با گروه شم مشاهده گردید (P<۰/۰۰۱) و پیش تیمار موش‌های صرعی شده با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی‌دار این پارامتر شد (P<۰/۰۵) (نمودار ۳ و شکل ۳).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه در رابطه با رفتار تشنجی حیوان براساس تقسیم‌بندی راسین، در گروه صرعی شده با اسید کاینیک یک رفتار تشنجی بارز مشاهده شد و پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی در مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار رفتار تشنجی گردید.

در بررسی هیستوپاتولوژیک گروه صرعی شده با اسید کاینیک، یک کاهش بارز و معنی‌دار تراکم نورونی در این ناحیه مشاهده گردید و پیش تیمار با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی، موجب بیشتر بودن تراکم نورونی در ناحیه CA3 در مقایسه با گروه صرعی گردید. در بررسی شدت اسپروتینگ فیبرهای موشی در ناحیه دندانه‌دار هیپوکامپ، با روش رنگ‌آمیزی تیم با نیترات نقره در گروه صرعی شده با اسید کاینیک افزایش بارز و معنی‌دار این اندیس در مقایسه با گروه شم مشاهده گردید و پیش تیمار موش‌های صرعی شده با عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی به میزان معنی‌دار موجب کاهش این پارامتر گردید که نشان‌دهنده اسپروتینگ کمتر در این گروه است.

در مدل‌های حیوانی صرع القاء شده توسط تزریق داخل هیپوکامپی (ناحیه CA1 یا ناحیه CA3)، اسید کاینیک و یا سایر مواد با خاصیت سمیت تحریکی (اگزکسایتوتوکسیک)، به علت دژنراسیون سلول‌های عصبی هرمی CA3 و سلول‌های نافی شکنج دندانه‌ای که دارای تراکم بالا از گیرنده‌های گلوتامات نظیر گیرنده‌های کاینیک هستند؛ اسپروتینگ فیبرهای آوران گلوتاماترژیک از ناحیه شکنج دندانه‌ای (آکسون‌های سلول‌های گرانولی یا فیبرهای خزه‌ای) رخ داده و سیناپس‌های جدید در لایه مولکولی ناحیه دندانه‌ای هیپوکمپ تشکیل می‌شود. تشکیل سیناپس‌ها موجب تشدید فعالیت مسیرهای گلوتاماترژیک در آن ناحیه از هیپوکامپ گشته و به صورت درجات مختلف از حملات صرع با توجه به شدت آسیب بروز می‌کند.[۲۱و۲۲] در مطالعات قبلی نشان داده شده موش‌های دریافت کننده اسیدکاینیک نسبت به موش‌های گروه کنترل از رفتار تشنجی واضح و معنی‌داری برخوردارند. به طوری که موش‌های دریافت کننده اسیدکاینیک دارای تشنجات خودبخودی حاد و مزمن بودند.[۱۹و۲۳] در مطالعه حاضر نیز رفتار تشنجی در موش‌های دریافت کننده اسید کاینیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شم بود.

برخی آنتی‌اکسیدان‌ها قادر به اعمال اثرات ضدصرعی هستند.[۱۳] احتمالاً بخشی از اثر سودمند گل‌محمدی را می‌توان به اثرات محافظتی آن در جلوگیری از آسیب سلول‌های هیپوکامپ به دنبال تزریق اسید کاینیک نسبت داد که این با کاهش دادن شدت اسپروتینگ فیبرهای موشی در روزهای بعد، رفتار تشنجی کمتری را به دنبال داشت. همان‌طور که اشاره شد؛ آنتی‌اکسیدانت‌ها به علت خاصیت حذف کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن توانایی بهبود رفتارهای تشنجی را دارند و احتمالاً گل‌محمدی بخشی از اثرات

سودمند خود بر رفتارهای تشنجی را از این طریق اعمال نموده است.

در مطالعه حسینی و همکاران اثر عصاره‌های مختلف گل‌محمدی بر تشنج ناشی از پنتیل تترازول (PTZ) در موش سوری بررسی و هر دو عصاره آبی و الکلی مورد آزمایش قرار گرفتند. در هر دو مورد تأخیر در تشنج کلونیک حداقلی و کلونیک –تونیک افزایش قابل توجهی یافت. این نتیجه در همه گروه‌های تحت تیمار با عصاره آبی و برخی گروه‌های تحت تیمار با عصاره الکلی معنی‌دار بود و خواص ضدتشنجی این عصاره را به خوبی نشان داد.[۲۴] یافته‌های ما با نتایج این تحقیق هم راستا است. در مطالعه محمدپور و همکاران اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی بر اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین در موش صحرایی بررسی شد. گروه‌های تحت درمان با این عصاره با کاهش میزان MDA و افزایش تیول‌ها، همچنین بهبود در تست‌های رفتاری و افزایش حافظه فضایی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره را به خوبی نشان دادند.[۲۵] در مطالعه همایون و همکاران اثرات ضدتشنجی و محافظت عصبی عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی بر هیپوکامپ موش صحرایی بررسی شد. این عصاره به طور قابل توجهی زمان تأخیر حملات تشنجی را طولانی کرد. همچنین فرکانس و دامنه تخلیه‌های انفجاری صرعی ناشی از تزریق PTZ را کاهش داد. به علاوه از تولید نورون‌های تیره در نواحی مختلف هیپوکامپ در مدل حیوانی جلوگیری کرد.[۲۶] نتایج این تحقیق در زمینه کاهش تشنجات از یافته‌های ما پشتیبانی می‌کند. در مطالعه همایون و همکاران که اثر حفاظتی گل‌محمدی در برابر آسیب عصبی در مدل موش تشنجی ناشی از PTZ بررسی شد؛ تشنج‌های ناشی از PTZ منجر به آپوپتوز در سلول‌های عصبی تمام مناطق فرعی هیپوکامپ گردید. با این حال در گروه‌های تحت تیمار با عصاره گل‌محمدی، تنها در مناطق CA1 و CA3 تفاوت معنی‌دار در آپوپتوز سلول‌های عصبی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد و اثر حفاظتی عصاره را به خوبی نشان داد[۲۷] که به نوعی با یافته‌های ما هم راستا است.

گل‌محمدی ضدعفونی کننده، ضدویروس و ضدباکتری است و در شرایطی مانند برونشیت مزمن، آسم، بیماری پوستی، سرطان، زخم، چین و چروک و عفونت کمک کننده است. در مطالعه‌ای این گیاه از طریق اثر بر مکانیسم سلول‌های عضله صاف، از جمله گیرنده‌های وابسته به ولتاژ به‌طور وابسته به دوز بر گیرنده‌های بتاآدرنرژیک و اوپیوئیدی ایلئوم موش صحرایی اثر گذاشته و انقباضات ایلئوم ناشی از KCL را کاهش داد.[۲۸]

در مطالعه‌ای مکانیسم مولکولی ضدتشنجی برخی از داروهای گیاهی بررسی شد. به عنوان مثال فعالیت ضدتشنجی عصاره اتانولی اندام‌های هوایی بریونیا آلبا ناشی از میل ترکیبی متوسط آن به محل بنزودیازپین گیرنده گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) است. عصاره آبی متانولی اسطوخودوس ممکن است به عنوان یک مسدود کننده کانال کلسیم عمل کند و عصاره اتر نفتی *caesalpinia bonducella* ممکن است پیوند دهنده کانال یونی کلرید به گیرنده های GABA را مسدود کند. علاوه بر این، عصاره متانولی فرولا ممکن است دارای فعالیت سیتوتوکسیک باشد. با این حال، فقدان داده‌ها و اطلاعات دقیق از داروهای بالینی گیاهی در بیماران مبتلا به صرع برای درمان‌های گیاهی محدود است و نیاز به بررسی بیشتر دارد.[۲۹]

با توجه به افزایش عناصر اکسیدان و التهابی، گل‌محمدی به عنوان جایگزینی برای داروهای شیمیایی با ویژگی‌های درمانی بالا و عوارض جانبی کمتر، قابل توجه است. در مطالعه‌ای عصاره گل‌محمدی باعث افزایش عامل آنتی اکسیدانی GSH و کاهش MDA و MPO شد. همچنین با اثرات آنتی اکسیدانی و محافظتی، از کبد در برابر عفونت ناشی از بستن و سوراخ کردن سکوم (CLP) محافظت کرد و باعث کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو ، بهبود سیستم دفاعی و آنتی اکسیدانی و بازگرداندن غلظت ایده‌آل پارامترهای التهابی شد که با ارزیابی هیستوپاتولوژی تأیید گردید.[۳۰] آنتی‌اکسیدانت‌ها از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نواحی دخیل در پاتوژنز صرع شامل هیپوکامپ موجب کاهش شدت و احتمال بروز صرع در حیوانات آزمایشگاهی شده‌اند.[۲] بر این اساس در تحقیقی نشان داده شد که کوآنزیم Q10 با اثرات آنتی‌اکسیدانتی علاوه بر کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ موش صحرایی، موجب بهبود تشنجات در موش صحرایی شد.[۱۹] با توجه به این که در تحقیق حاضر اثرات گل‌محمدی در حد معنی‌دار مشاهده شد؛ به‌نظر می‌رسد اثر حفاظتی این گیاه با مکانیسم آنتی‌اکسیدانی آن رخ داده است. در رابطه با اثرات حفاظت عصبی عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی در مطالعات پیشین کمتر به این موضوع پرداخته شده است. در همین راستا در تحقیقی اثرات عصاره گل‌محمدی در درمان و پیشگیری آلزایمر بررسی و مشخص گردید که عصاره گل‌محمدی باعث تکوین بافت عصبی و شکل‌پذیری سیناپسی شده و توانسته در برابر آلزایمر و اختلالات حافظه‌ای اثر محافظتی داشته باشد.[۳۱] طبق نتایج تحقیقات گذشته و نیز تحقیق حاضر گل‌محمدی دارای اثر ضد صرعی است و بخشی از این اثرات را احتمالاً بتوان به پتانسیل حفاظت عصبی این گیاه نسبت داد.

عدم استفاده از داروی کنترل مثبت نظیر والپروآت از محدودیت این مطالعه است که در صورت استفاده به مقایسه بهتر بین گروه‌ها و میزان کارایی اثر این عصاره می‌انجامید. توصیه می‌شود در مطالعات آتی از دوزهای مختلف عصاره از مقادیر کم تا مقادیر زیاد (مقادیر ۱۰۰۰-۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)[۳۲] استفاده شود تا حالت دوز پاسخ

مشخص گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که پیش تیمار با عصاره هیدوالکلی گل‌محمدی دارای اثرات معنی‌دار ضدتشنجی است و احتمالاً موجب حفظ تراکم نورونی در نواحی CA3 و هیپوکمپ در مدل تجربی صرع القا شده با اسید کاینیک و کاهش شدت جوانه زدن فیبرهای خزه‌ای در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم ریحانه سادات هاشمی گلپایگانی برای اخذ درجه دکتری حرفه‌ای در رشته پزشکی عمومی (شماره ۶۳۰–۱۳۹۵) از دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد بود. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

1. Ren E, Curia G. Synaptic Reshaping and Neuronal Outcomes in the Temporal Lobe Epilepsy. Int J Mol Sci. 2021 Apr; 22(8): 3860. doi: 10.3390/ijms22083860

2. Sharma AK, Reams RY, Jordan WH, Miller MA, Thacker HL, Snyder PW. Mesial temporal lobe epilepsy: pathogenesis, induced rodent models and lesions. Toxicol Pathol. 2007 Dec; 35(7): 984-99. doi: 10.1080/01926230701748305

3. Ojemann GA. Surgical therapy for medically intractable epilepsy. J Neurosurg. 1987 Apr; 66(4): 489-99. doi: 10.3171/jns.1987.66.4.0489

4. Rusina E, Bernard C, Williamson A. The Kainic Acid Models of Temporal Lobe Epilepsy. eNeuro. 2021 Apr; 8(2): ENEURO.0337-20.2021. doi: 10.1523/ENEURO.0337-20.2021

5. Boskabady MH, Shafei MN, Saberi Z, Amini S. Pharmacological effects of rosa damascena. Iran J Basic Med Sci. 2011 Jul; 14(4): 295-307.

6. Hongratanaworakit T. Relaxing effect of rose oil on humans. Nat Prod Commun. 2009 Feb; 4(2): 291-96.

7. Mahboubi M. Rosa damascena as holy ancient herb with novel applications. J Tradit Complement Med. 2015 Oct; 6(1): 10-16. doi: 10.1016/j.jtcme.2015.09.005

8. Ulusoy S, Boşgelmez-Tinaz G, Seçilmiş-Canbay H. Tocopherol, carotene, phenolic contents and antibacterial properties of rose essential oil, hydrosol and absolute. Curr Microbiol. 2009 Nov; 59(5): 554-58. doi: 10.1007/s00284-009-9475-y

9. Gruenwald J, Uebelhack R, Moré MI. Rosa canina - Rose hip pharmacological ingredients and molecular mechanics counteracting osteoarthritis - A systematic review. Phytomedicine. 2019 Jul; 60: 152958. doi: 10.1016/j.phymed.2019.152958

10. Masyita A, Mustika Sari R, Dwi Astuti A, Yasir B, Rahma Rumata N, Emran TB, et al. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. Food Chem X. 2022 Jan; 13: 100217. doi: 10.1016/j.fochx.2022.100217

11. Mateos R, Pérez-Correa JR, Domínguez H. Bioactive Properties of Marine Phenolics. Mar Drugs. 2020 Sep; 18(10): 501. doi: 10.3390/md18100501

12. Galal TM, Al-Yasi HM, Fawzy MA, Abdelkader TG, Hamza RZ, Eid EM, et al. Evaluation of the Phytochemical and Pharmacological Potential of Taif's Rose (Rosa damascena Mill var. trigintipetala) for Possible Recycling of Pruning Wastes. Life (Basel). 2022 Feb; 12(2): 273. doi: 10.3390/life12020273

13. Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models? Neuroscientist. 2010 Jun; 16(3): 253-75. doi: 10.1177/1073858409354385

14. Sedaghat R, Taab Y, Kiasalari Z, Afshin-Majd S, Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Berberine ameliorates intrahippocampal kainate-induced status epilepticus and consequent epileptogenic process in the rat: Underlying mechanisms. Biomed Pharmacother. 2017 Mar; 87: 200-208. doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.109

15. Chang AY, Wang CH, Chiu TH, Chi JW, Chen CF, Ho LT, et al. Hypoxic preconditioning attenuated in kainic acid-induced neurotoxicity in rat hippocampus. Exp Neurol. 2005 Sep; 195(1): 40-48. doi: 10.1016/j.expneurol.2004.09.014

16. Guo X, Wang J, Wang N, Mishra A, Li H, Liu H, et al. Wogonin preventive impact on hippocampal neurodegeneration, inflammation and cognitive defects in temporal lobe epilepsy. Saudi J Biol Sci. 2020 Aug; 27(8): 2149-56. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.05.030

17. Welzel L, Schidlitzki A, Twele F, Anjum M, Löscher W. A face-to-face comparison of the intra-amygdala and intrahippocampal kainate mouse models of mesial temporal lobe epilepsy and their utility for testing novel therapies. Epilepsia. 2020 Jan; 61(1): 157-70. doi: 10.1111/epi.16406

18. Rahimi M, Ghoreshi M, Emami B, Shafei MN, Hosseini M, Khajavirad A. Preventive Effect of Hydroalcoholic Extract of Rosa damascena on Cardiovascular Parameters in Acute Hypertensive Rats Induced by Angiotensin II. Int J Prev Med. 2018 Oct; 9: 92. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_312_17

19. Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Coenzyme q10 ameliorates neurodegeneration, mossy fiber sprouting, and oxidative stress in intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy in rat. J Mol Neurosci. 2013 Jan; 49(1): 194-201. doi: 10.1007/s12031-012-9886-2

20. Moreno DG Utagawa EC, Arva NC, Schafernak KT, Mufson EJ, Perez SE. Postnatal Cytoarchitecture and Neurochemical Hippocampal Dysfunction in Down Syndrome. J Clin Med. 2021 Jul; 10(15): 3414. doi: 10.3390/jcm10153414

21. Aylward RLM. Epilepsy: a review of reports, guidelines, recommendations and models for the provision of care for patients with epilepsy. Clin Med (Lond). 2008 Aug; 8(4): 433-38. doi: 10.7861/clinmedicine.8-4-433

22. Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. Prog Neurobiol. 2004 May; 73(1): 1-60. doi: 10.1016/j.pneurobio.2004.03.009

23. Naderali E, Rasolijazi H, Nikbakht F, Soleimani M, Nobakht M. [Effect of Rosemary Extract against the Toxicity of Kainic Acid in Rats]. J Babol Univ Med Sci. 2014; 16(10): 38-44. doi: 10.18869/acadpub.jbums.16.10.38 [Article in Persian]

24. Hosseini M, Ghasemzadeh Rahbardar M, Sadeghnia HR, Rakhshandeh H. Effects of different extracts of Rosa damascena on pentylenetetrazol-induced seizures in mice. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao. 2011 Oct; 9(10): 1118-24. doi: 10.3736/jcim20111013

25. Mohammadpour T, Hosseini M, Naderi A, Karami R, Sadeghnia HR, Soukhtanloo M, et al. Protection against brain tissues oxidative damage as a possible mechanism for the beneficial effects of Rosa damascena hydroalcoholic extract on scopolamine induced memory impairment in rats. Nutr Neurosci. 2015 Oct; 18(7): 329-36. doi: 10.1179/1476830514Y.0000000137

26. Homayoun M, Seghatoleslam M, Pourzaki M, Shafieian R, Hosseini M, Ebrahimzadeh Bideskan A. Anticonvulsant and neuroprotective effects of Rosa damascena hydro-alcoholic extract on rat hippocampus. Avicenna J Phytomed. 2015 May-Jun; 5(3): 260-70.

27. Homayoun M, Shafieian R, Seghatoleslam M, Hosseini M, Ebrahimzadeh-Bideskan A. Protective impact of Rosa damascena against neural damage in a rat model of pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure. Avicenna J Phytomed. 2020 Nov-Dec; 10(6): 574-83.

28. Sedighi M, Rafieian-Kopaei M, Noori-Ahmadabadi M, Godarzi I, Baradaran A. In Vitro Impact of Hydro-alcoholic Extract of Rosa damascena Mill. on Rat Ileum Contractions and the Mechanisms Involved. Int J Prev Med. 2014 Jun; 5(6): 767-75.

29. Liu W, Ge T, Pan Z, Leng Y, Lv J, Li B. The effects of herbal medicine on epilepsy. Oncotarget. 2017 Jul; 8(29): 48385-97. doi: 10.18632/oncotarget.16801

30. Dadkhah A, Fatemi F, Malayeri MRM, Ashtiyani MHK, Noureini SK, Rasooli A. Considering the Effect of Rosa damascena Mill. Essential Oil on Oxidative Stress and COX-2 Gene Expression in the Liver of Septic Rats. Turk J Pharm Sci. 2019 Dec; 16(4): 416-24. doi: 10.4274/tjps.galenos.2018.58815

31. Esfandiary E, Karimipour M, Mardani M, Alaei H, Ghannadian M, Kazemi M, et al. Novel effects of Rosa damascena extract on memory and neurogenesis in a rat model of Alzheimer's disease. J Neurosci Res. 2014 Apr; 92(4): 517-30. doi: 10.1002/jnr.23319

32. Latifi G, Ghannadi A, Minaiyan M. Anti-inflammatory effect of volatile oil and hydroalcoholic extract of Rosa damascena Mill. on acetic acid-induced colitis in rats. Res Pharm Sci. 2015 Nov-Dec; 10(6): 514-22.