مقاله اصیل پژوهشی

بررسی اثرات رازیانه رومی بر پدیده مهار منتشر شونده در بافت نئوکورتیکال مغز رت

دکتر حسین حقیر[۱]، دکتر علی گرجی[۲]، جواد حامی[۳]

چکیده

زمینه و هدف: پدیده مهار منتشر شونده (CSD یا Cortical Spreading Depression) عامل ایجاد اورا و به احتمال زیاد سایر علایم عصبی و درد در میگرن می‌باشد. هدف از این مطالعه تعیین تأثیر رازیانه رومی بر روی خصوصیات پدیده مهار منتشر شونده در مغز رت است.

روش تحقیق: برای انجام این مطالعه تجربی، CSD در برش‌های قشر حسی- پیکری مغز رت به دو روش القای گردید. در روش اول پس از تزریق کلرید پتاسیم (KCl) برش‌ها به مدت ۶۰ دقیقه با غلظت‌های مختلف (۰/۰۱-۵۰ µmol/L) اسانس روغنی رازیانه رومی شستشو شدند. در روش دوم CSD با شستشوی در مایع مغزی- نخاعی صناعی (ACSF) حاوی غلظت کم نرمال سالین (NaCl) ایجاد شده، سپس برش‌ها در معرض اسانس روغنی رازیانه رومی با غلظت ۵۰ µmol/L قرار گرفتند. برش‌های قشری گروه شاهد در هر دو روش پس از القای CSD تنها با CSF حاوی غلظت کم الکل شستشو داده شدند. خصوصیات CSD شامل دفعات بروز، دامنه، مدت و سرعت انتشار توسط ثبت پتانسیل خارج سلولی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: در مدل القای CSD با KCl، شستشو با رازیانه رومی در غلظت‌های بالاتر و به شکل وابسته به دوز توانست دامنه ($P < ۰/۰۰۱$) و مدت ($P < ۰/۰۲$) CSD را به صورت معنی‌داری کاهش دهد، اما کاهش سرعت سیر CSD از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P = ۰/۳$). در مدل القای CSD با ACSF دارای غلظت کم NaCl، نیز افزودن رازیانه رومی به محلول شستشو باعث کاهش معنی‌دار دامنه ($P = /۰۴۸$) و دفعات بروز ($P = ۰/۰۳$) CSD گردید. در عین حال مدت CSD در این مدل تغییر چشم‌گیری نداشت ($P > ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که از نظر تئوری رازیانه رومی می‌تواند ایجاد و گسترش پدیده CSD به عنوان عامل زمینه‌ای بروز میگرن را کنترل نماید.

واژه‌های کلیدی: رازیانه رومی، نئوکورتکس مغز، مهار منتشر شونده، میگرن.

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۸۹؛ ۱۷(۳): ۱۸۰-۱۸۸.

دریافت: ۸۸/۹/۳ اصلاح نهایی: ۸۹/۵/۱۹ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۵/۲۸ درج در پایگاه وب: ۱۳۸۹/۷/۲۸

[۱] نویسنده مسؤول؛ دانشیار، گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
آدرس: مشهد، صندوق پستی ۳۸۷۵-۹۱۳۷۵، دکتر حسین حقیر.
پست الکترونیکی: drhaghir@yahoo.com
[۲] استاد، گروه نوروفیزیولوژی، دانشگاه مونستر، آلمان.
[۳] دانشجوی مقطع دکتری تخصصی علوم تشریحی، گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

مقدمه

رازیانه رومی (Pimpinella anisum) گیاهی علفی، دارای ریشه راست دوکی شکل، ساقه بی کرک و استوانه‌ای به ارتفاع ۵۰-۳۰ سانتی‌متر است که در نواحی شمال غربی و جنوب غربی ایران، همچنین در هند، ترکیه و سایر مناطق گرمسیر جهان یافت می‌شود. قسمت اعظم خواص درمانی این گیاه مربوط به میوه آن می‌باشد (۱). اسانس رازیانه رومی، بی‌رنگ یا به رنگ زرد روشن و از تقطیر میوه کامل به کمک بخار آب به دست می‌آید (۱). از نظر ترکیب شیمیایی، حدود ۹۰-۸۰ درصد این اسانس را Anethole و ۱۰ درصد دیگر آن از ترکیباتی همانند Eugenol، Methylchavicol (Estragole)، Anisaldehyde و سایر ترکیبات تشکیل می‌شود (۴-۲).

رازیانه رومی به عنوان یک داروی گیاهی در درمان بیماری‌های دستگاه گوارش، سرگیجه، سرفه، آسم و برونشیت اثرات مفیدی دارد (۱). علاوه بر این، توسط پزشکان ایرانی در قرون وسطی در درمان بعضی از بیماری‌های مغز و اعصاب نظیر سردرد تجویز می‌شده است (۶، ۵). با این حال مطالعات معدودی در زمینه اثرات این گیاه دارویی در درمان بیماری‌های مغز و اعصاب انجام گرفته است.

مهار منتشر شونده قشری (CSD یا Depression Cortical Spreading) پدیده‌ای است که در طی آن یک موج دپلاریزاسیون نورونی- گلیایی با سرعت ۵-۳ میلی‌متر در دقیقه در قشر مغز منتشر و در پی آن موجب کاهش شدید و موقتی فعالیت بیوالکتریکی در آن منطقه قشری می‌شود (۷). شواهد فراوانی نشان می‌دهد که CSD عامل زمینه‌ای در حملات میگرنی می‌باشد (۸، ۷). امواج شبیه به آن‌چه در آزمایشات حیوانی در جریان CSD ثبت شده، در جریان مرحله اورا (Aura) در حملات میگرنی نیز مشاهده شده است (۸). پدیده CSD بر اساس شواهد فراوان در ایجاد درد در جریان حملات میگرنی نیز نقش به‌سزایی بازی می‌کند (۹، ۸). انتشار این پدیده در قشر حسی- پیکری باعث افزایش فعالیت بیوالکتریک هسته سه قلویی می‌شود که عامل اصلی ایجاد دردهای میگرنی است (۱۱-۹).

از طرف دیگر، به علت وجود شباهت‌های نوروفیزیولوژیک فراوان بین صرع و سردردهای میگرنی، بسیاری از داروهای مورد استفاده در درمان بیماری صرع خاصیت تسکینی دردهای میگرنی را نیز دارا می‌باشند. برای مثال گاباپنتین (Gabapentin) که یک داروی ضد صرعی از نسل جدید است و باعث افزایش نوروترانسمیتر گابا در مغز می‌شود، اثر مؤثر درمانی در پیش‌گیری و تسکین سردردهای میگرنی دارد (۱۵-۱۲). مطالعه In vivo بر روی مغز موش نشان داده است که اسانس روغنی رازیانه رومی باعث فعال شدن گیرنده‌های مهاری گابائرژیک شده، از این طریق سبب کاهش اثر مورفین می‌گردد. این اثر تحریکی به خصوص بر روی زیرگروه گیرنده‌های $GABA_A$ مشاهده گردیده است (۱۶).

با توجه به موارد فوق، احتمال می‌رود رازیانه رومی از طریق افزایش فعالیت سیستم گابا می‌تواند باعث مهار CSD گردد. از این رو این تحقیق با هدف تعیین اثرات اسانس روغنی میوه رازیانه رومی بر روی خصوصیات پدیده مهار منتشر شونده در قشر حسی- پیکری مغز رت به عنوان عامل زمینه‌ای حملات میگرنی طراحی گردید.

روش تحقیق

الف- تهیه برش‌ها

این مطالعه تجربی، بر اساس روش کار توصیف شده در مطالعات قبلی بر روی قشر حسی- پیکری مغز رت‌های بالغ نژاد Wistar (با وزن ۳۵۰-۲۵۰ گرم) انجام گردید (۱۹-۱۷). مغز ۳۰ حیوان مورد آزمایش پس از بیهوشی عمیق با متوهگزیتال (Methohexital) با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی (Brevimytal, Lilly, Giessen, Germany) و قطع سر، با احتیاط از جمجمه خارج و داخل مایع مغزی- نخاعی صناعی (Artificial Cerebrospinal Fluid یا ACSF) سرد (۴-۱ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. مخچه از بقیه مغز و دو نیم‌کره توسط یک برش ساژیتال میانی از یکدیگر جدا شدند.

در ادامه از قشر حسی- پیکری تمام مغزها، برش‌های تاجی با ضخامت ۵۰۰ µm تهیه شد و در ACSF با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای مدت حداقل یک ساعت قرار گرفت که شامل ترکیب زیر بود (غلظت‌های ذکر شده بر حسب mmol/l است):

NaCl (۱۲۴)، KCl (۴)، $CaCl_2$ (۱/۰)، NaH_2PO_4 (۱/۲۴)، $MgSO_4$ (۱/۳)، $NaHCO_3$ (۲۶) و Glucose (۱۰).

محلول با استفاده از اکسیژن (۹۵ درصد) مخلوط با CO_2 (۵ درصد) در حد pH = ۷/۴ ثابت نگه داشته شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه از انکوباسیون، غلظت کلرید کلسیم به ۲ mmol/l افزایش یافت. برش‌ها تک تک به اتاقک‌های ثبت امواج بیوالکتریکی از نوع Interphase منتقل شدند، بر روی یک صفحه شفاف قرار گرفتند و به طور مداوم توسط مایع ACSF حاوی اکسیژن (۲ تا ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه) در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد شستشو داده شدند. مخلوط گازی مرطوب و گرم حاوی ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد CO_2 بر روی سطح برش‌های مغزی هدایت شد.

ب- تهیه رازیانه رومی

اسانس روغنی میوه رازیانه رومی از شرکت Caelo (Hilden, Germany) خریداری گردید. این ماده در الکل حل شده، غلظت نهایی الکل در آن کمتر از ۰/۱ درصد بود. تمام محلول‌های مورد استفاده در گروه شاهد غلظت مشابهی از الکل داشتند.

ج- ثبت امواج بیوالکتریک

پتانسیل خارج سلولی به وسیله میکروالکترودهای شیشه‌ای (۱۰-۲ MΩ، ۱۵۰ mmol/l) اندازه‌گیری گردید که به وسیله پل‌های Ag/AgCl- KCl به یک آمپلی‌فایر وصل شد. دو میکروالکترود در لایه‌های سوم و پنجم قشر مغز قرار داده شد و امواج بیوالکتریکی خارج سلولی به وسیله یک دستگاه ثبات جوهری و یک اسیلوسکوپ کامپیوتری ثبت گردید (۱۹-۱۷).

د- ایجاد CSD

در این تحقیق از دو روش برای ایجاد CSD استفاده گردید:

- روش اول

یک الکترود شیشه‌ای حاوی KCL ۲ مولار بر روی یک پایه نگه دارنده مخصوص قرار داده شد و به وسیله یک لوله پلاستیکی به دستگاه تزریق با فشار متصل گردید. نوک این الکترود درون لایه‌های ۱ و ۲ قشر حسی- پیکری وارد شد. جهت ایجاد CSD از یک جریان با فشار قوی برای تزریق پتاسیم کافی با قطر نوک الکترود ۲ µm، فشار تزریق ۱-۰/۵ bar به مدت ۳۰۰-۲۰۰ ms، دو تزریق مجزا به حجم ۳-۱ nl، فاصله محل تزریق تا الکترود ثابت و حداقل ۵-۲ میلی‌متر استفاده شد (۱۸، ۱۷).

- روش دوم

در برخی نمونه‌ها CSD با استفاده از ACSF دارای غلظت کم کلرید سدیم (۹۰ mmol/L) نیز ایجاد گردید. در این روش برش‌های مغزی به مدت یک ساعت توسط محلول ACSF دارای غلظت کم کلرید سدیم (به تنهایی یا همراه با رازیانه رومی) شستشو داده شد (۱۹).

در نهایت خصوصیات CSD شامل دفعات بروز، دامنه، مدت و سرعت انتشار بررسی گردید.

ه- شیوه‌های انجام آزمایش

در این مطالعه، برش‌های قشر حسی- پیکری رت‌ها به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شد و هر گروه از برش‌ها در یک شیوه آزمایش جداگانه مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که ۸-۶ نمونه از برش‌های قشر حسی- پیکری حیوانات برای هر یک از غلظت‌های رازیانه رومی (µM/L ۵۰، ۲۵، ۱۰، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱) مورد آزمایش قرار گرفته، برای اطمینان از صحت نتایج، این کار برای هر غلظت تکرار گردید. مراحل مختلف شیوه‌های آزمایش به شرح زیر انجام گرفت:

- روش اول آزمایش

این روش در چهار مرحله به این شرح انجام گرفت:

۱. مرحله کنترل اولیه که بافت قشر مغز جهت بررسی و مشاهده CSD خود به خودی به وسیله ACSF به مدت ۳۰ دقیقه شستشو داده شد.

۲. مرحله تزریق KCl و ثبت CSD اول (CSD1)

۳. مرحله تجویز رازیانه رومی با غلظت‌های ۵۰ μM/L، ۲۵، ۱۰، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ به مدت ۶۰ دقیقه قبل از دومین تزریق KCl (ایجاد CSD_2) صورت گرفت. در هر یک از برش‌ها فقط یک غلظت از رازیانه رومی مورد آزمایش قرار گرفت. در گروه شاهد به جای تجویز رازیانه رومی در این مرحله از ACSF حاوی الکل با غلظت کمتر از ۰/۱ درصد استفاده شد.

۴. شستشوی رازیانه رومی از روی برش به وسیله مایع ACSF (۴۵ دقیقه- کنترل ثانویه) و سومین تزریق KCl یا CSD_3 انجام شد (۱۷).

- روش دوم

این روش نیز در چهار مرحله به شرح زیر صورت گرفت:

۱. مرحله کنترل اولیه که بافت قشر مغز جهت مشاهده CSD خود به خودی به مدت ۳۰ دقیقه به وسیله ACSF شستشو داده شد.

۲. مرحله شستشوی برش‌ها با ACSF به تنهایی یا همراه با رازیانه رومی در غلظت ۵۰ μmol/L به مدت۶۰ دقیقه صورت گرفت.

۳. مرحله شستشوی برش‌ها با ACSF دارای غلظت کم کلرید سدیم به تنهایی یا همراه با رازیانه رومی در غلظت ۵۰ μmol/L به مدت۶۰ دقیقه انجام شد.

۴. مرحله شستشوی رازیانه رومی به وسیله ACSF (کنترل ثانویه) انجام گردید (۱۷).

و- تجزیه و تحلیل آماری

تمام اطلاعات به صورت میانگین و خطای معیار (Mean ± SEM) ارایه شد. با توجه به نتایج آزمون S-K جهت نرمال بودن متغیرها، مقایسه بین دو گروه به وسیله آزمون غیر پارامتری Mann-Whitney rank sum و مقایسه بین چند گروه توسط آزمون ANOVA با پس آزمون Dunnett انجام گرفت. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تفسیر شد.

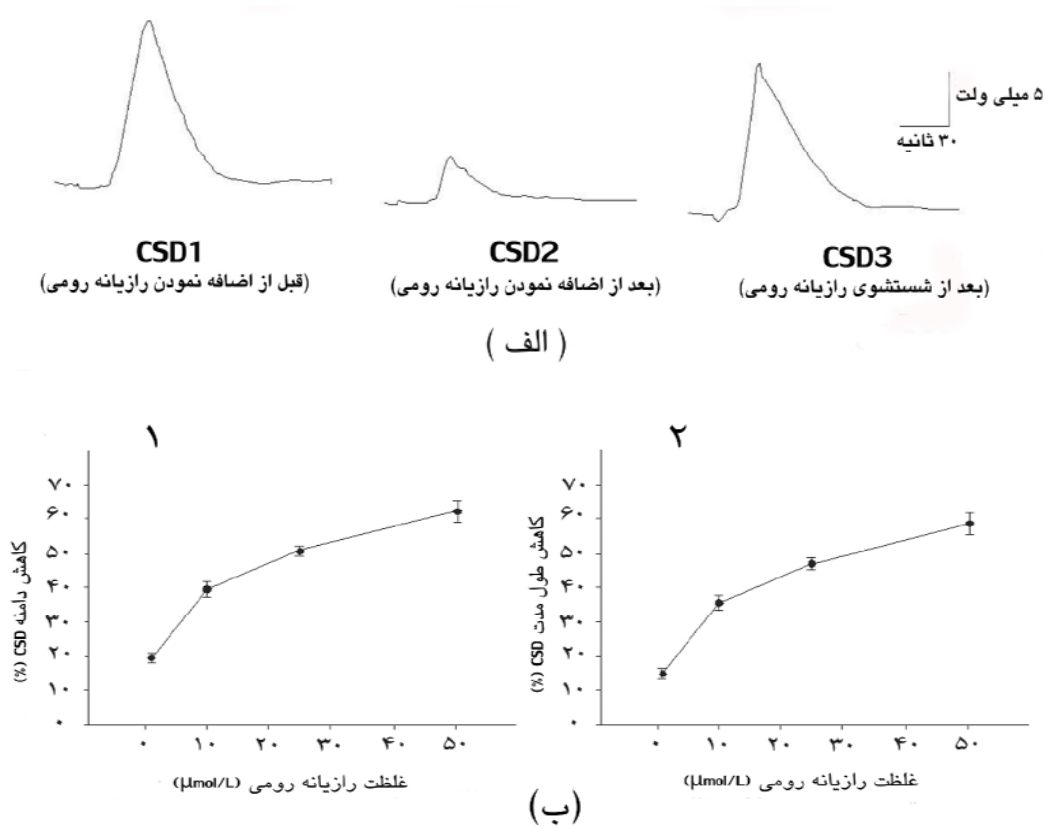
انجام این آزمایشات توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه مونستر آلمان با کد G۷۹/۲۰۰۲، AZ: ۵۰/۰۸۳۵ تأیید شده است

یافته‌ها

الف- یافته‌ها پس از تزریق KCl

تجویز موضعی کلرید پتاسیم در لایه‌های ۱ و ۲ قشر مغز منجر به ایجاد پتانسیل منفی DC و به دنبال آن موج مثبت (دامنه: ۲/۱ ± ۱۳/۸ mv، مدت: ۶ ± ۹۸ ثانیه) گردید. امواج CSD در جهت مخالف جریان مایع ACSF با سرعت ۰/۳ ± ۳/۲ میلی‌متر در دقیقه منتشر شد (شکل ۱، الف). در این مطالعه، اثر ۶ غلظت متفاوت رازیانه رومی (۵۰ μM/L، ۲۵، ۱۰، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۸-۶ نمونه برای هر غلظت) بر روی خصوصیات CSD ایجاد شده به وسیله کلرید پتاسیم بر روی قشر مغز بررسی گردید. نسبت دومین به اولین موج پتانسیل منفی DC (CSD۲/CSD۱) در نمونه‌های شاهد و نمونه‌های تحت تأثیر رازیانه رومی محاسبه گردید.

در شکل ۱ قسمت الف نمونه‌ای از ثبت پتانسیل خارج سلولی قشر حسی- پیکری مغز رت نشان داده شده است؛ با توجه به این شکل مشاهده می‌گردد که تجویز رازیانه رومی در غلظت‌های بالاتر (۵۰ μM/L، ۲۵، ۱۰، ۱) توانسته است سبب کاهش دامنه و سرعت سیر CSD شده (CSD_2)، با شستشو و حذف آن، دیاره دامنه و سرعت سیر آن افزایش می‌یابد (CSD۳). سرعت سیر CSD بعد از شستشوی نمونه‌ها با رازیانه رومی (با غلظت‌های بالاتر یعنی ۵۰ μM/L، ۲۵، ۱۰، ۱) از ۰/۳ ± ۳/۲ به ۰/۴ ± ۲/۸ میلی‌متر در دقیقه کاهش یافت، ولی این تغییر از نظر آماری معنی‌دار نبود (P = ۰/۳) (شکل ۱. نمودار الف).



الف- نمونه CSD قبل (CSD_1)، بعد از شستشو با رازیانه رومی (CSD_2) و پس از شستشوی بافت با ACSF و حذف رازیانه رومی (CSD_3). ب- منحنی غلظت- پاسخ اثر رازیانه رومی در غلظت‌های مختلف بر روی دامنه (ب ۱) و مدت (ب ۲) CSD. در موارد الف و ب ایجاد CSD در بافت مغزی به وسیله تزریق محلول KCl انجام گردیده است. ج- اثر رازیانه رومی با غلظت ۵۰µmol/L بر روی تعداد دفعات بروز (ج ۱) و دامنه (ج ۲) CSD. در این قسمت CSD به وسیله شستشوی بافت مغزی با محلول مایع مغزی- نخاعی مصنوعی با غلظت پایین NaCl ایجاد گردیده است. علامت ستاره (*) در بالای ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف است ($P < ۰/۰۵$).

هر چند ۶۰ دقیقه پس از شستشوی نمونه‌ها با رازیانه رومی با غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میکرومول در لیتر، اثری بر روی دامنه، مدت و سرعت انتشار CSD ملاحظه نشد؛ با این حال، رازیانه رومی در غلظت‌های بالاتر به صورت وابسته به دوز، باعث کاهش دامنه و مدت CSD گردید (شکل ۱، نمودار ب ۱ و ۲). دامنه CSD۲ (P = ۰/۰۳۴) و نسبت CSD۲/CSD۱ (P < ۰/۰۰۱) به صورت معنی‌داری بعد از شستشوی نمونه‌ها با رازیانه رومی با غلظت‌های ۱، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میکرومول در لیتر کاهش یافت (شکل ۱، نمودار الف و ب ۱).

رازیانه رومی در غلظت‌های یاد شده باعث کاهش معنی‌دار مدت CSD نیز گردید؛ به طوری که در شکل ۱، نمودار ب ۲ ملاحظه می‌شود تجویز رازیانه رومی در غلظت‌های بالاتر سبب کاهش مدت CSD از ۶ ± ۹۸ ثانیه به ۷ ± ۷۶ ثانیه شد (P < ۰/۰۲).

۲. یافته‌ها پس از شستشو با ACSF دارای غلظت کم کلرید سدیم

CSD در ۱۳ نمونه از ۱۷ نمونه‌ای که با محلول ACSF حاوی غلظت کم کلرید سدیم شستشو داده شده بود به طور خود به خودی رخ داد (دامنه: ۰/۵ ± ۱۲/۹ میلی‌ولت، مدت ۵ ± ۶۳ ثانیه). با این حال در نمونه‌های یاد شده CSD با تأخیر متوسط ۱۰ دقیقه (بین ۶ تا ۱۸ دقیقه) ظاهر و در زمان باقیمانده شستشو با این مایع به طور متوسط ۰/۳ ± ۳/۲ بار (از ۱ تا ۵ بار) پتانسیل منفی DC مشاهده شد.

سرعت سیر CSD در این نمونه‌ها ۰/۲ ± ۳/۴ میلی‌متر در دقیقه بود. هنگامی که CSD به طور مکرر به وقوع می‌پیوست، مدت آن اندکی افزایش می‌یافت ولی دامنه تغییری نمی‌کرد.

افزودن رازیانه رومی با غلظت ۵۰ میکرومول در لیتر به محلول شستشو باعث کاهش دامنه و دفعات بروز CSD گردید. در شکل ۱، نمودار ج ۲ مشاهده می‌شود که دامنه CSD از ۰/۵ ± ۱۲/۹ به ۰/۶ ± ۹/۷ میلی‌ولت کاهش یافت (P = ۰/۰۴۸) و در نمودار ج ۱ دفعات بروز آن از ۰/۳ ± ۳/۲ به ۰/۳ ± ۲/۳ بار کاهش یافت (بین ۱ تا ۳ بار، P = ۰/۰۳). مدت CSD در این مدل، تغییر آماری معنی‌داری نداشت.

بحث

CSD پدیده‌ای است که امروزه به عنوان عامل زمینه‌ای در سردردهای میگرنی و به احتمال زیاد در مرحله اورای حملات میگرنی شناخته شده است (۹-۷). هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره روغنی میوه رازیانه رومی بر روی خصوصیات CSD اعم از دفعات بروز، دامنه، مدت و سرعت انتشار به وسیله ثبت پتانسیل خارج سلولی در قشر حسی- پیکری مغز رت بود. نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز رازیانه رومی به شکل وابسته به دوز و در دوزهای بالاتر توانست خصوصیات CSD را کاهش دهد.

در تحقیق حاضر اگر چه شستشوی نمونه‌ها با غلظت‌های پایین رازیانه رومی (۰/۰۱ و ۰/۱ میکرومول در لیتر) اثری بر روی دامنه، مدت و سرعت انتشار CSD نداشت، با این حال نتایج حاصل نشان داد که رازیانه رومی توانسته است در دوزهای بالاتر باعث کاهش غیر معنی‌دار سرعت سیر CSD شود (شکل ۱، نمودار الف).

علاوه بر این، رازیانه رومی در غلظت‌های بالاتر به صورت وابسته به دوز باعث کاهش معنی‌دار دامنه و مدت CSD و نسبت CSD2/CSD1 گردید (شکل ۱، نمودار الف، ب ۱ و ۲).

در مطالعه ما، افزودن رازیانه رومی باعث کاهش تعداد دفعات بروز CSD نیز گردید (شکل ۱، نمودار ج ۱).

همان طوری که در بالا اشاره گردید CSD می‌تواند از طریق افزایش تحریک‌پذیری ساختارهای داخل جمجمه‌ای مربوط به دریافت حس درد (Nociceptive)، به خصوص تحریک هسته عصب سه قلو، باعث ایجاد سردرد گردد (۱۱-۹). مطالعات نشان داده‌اند که انتشار CSD در قشر با مهار سیستم نوروترانسمیتری گابا که دارای مکانیسم مهاری است همراه می‌باشد (۲۰). از سوی دیگر، مهار سیستم مهاری قشر مغز (Disinhibition) نیز خود به عنوان عامل بروز CSD به حساب می‌آید (۲۱).

مطالعه قبلی بر روی اثرات اسانس روغنی میوه رازیانه رومی، اثر مهاری این داروی گیاهی بر روی فعالیت بیوالکتریکی بافت قشر مغز را نشان داد. در مطالعه مذکور، رازیانه رومی توانسته بود در غلظت‌های ۱-۰/۲۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم باعث مهار فعالیت تشنجی ایجاد شده توسط تجویز Pentylenetetrazol و شوک الکتریکی با شدت حداکثر در موش شود (۲۲).

همان‌طور که بیان شد Estragole و Eugenol از ترکیبات موجود در اسانس روغنی رازیانه رومی هستند (۴-۲). این ترکیبات دارای خصوصیات بی‌حس‌کنندگی، شل کنندگی عضلانی و ضد صرعی می‌باشند (۲۳). به تازگی گزارش یک تحقیق بر روی مغز موش حاکی از آن است که Eugenol سبب مهار پتانسیل‌های شبه صرعی ایجاد شده به وسیله حذف منیزیوم از ACSF و مهار شدید CSD در نئوکورتکس و بافت‌های هیپوکامپال مغز رت می‌شود (۱۷).

شروع فرآیند مهار منتشر شونده نیاز به فعال‌سازی انتقال در سیناپس‌های تحریکی در بافت عصبی انسان و حیوان دارد (۷). همچنین فعالیت سیناپسی بر روی ایجاد و گسترش CSD می‌تواند اثر تحریکی یا مهاری داشته باشد (۲۴، ۱۷). از طرف دیگر، Long-Term Potentiation (LTP) پدیده‌ای تجربی است که برای اثبات تغییرات عملکردی طولانی مدت در سطح سیناپس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۵). این پدیده در نخاع و برخی از نواحی مغزی از جمله نئوکورتکس قابل مشاهده بود و به نظر می‌رسد در مکانیسم سلولی فرآیند درد نیز دخیل باشد (۲۶). مطالعات نشان می‌دهند که Eugenol سبب مهار انتقال سیناپسی در هر دو سطح پیش و پس سیناپسی و LTP در مغز رت می‌شود (۲۷، ۱۷).

با توجه به موارد ذکر شده چنین استنباط می‌شود که نتایج حاصل از این بررسی را می‌توان به نقش مهاری Eugenol موجود در رازیانه رومی بر روی سیناپس‌ها و به دنبال آن مهار CSD مربوط دانست. این نکته قابل ذکر است که اختلال در اتصالات پیش و پس سیناپسی هر دو به عنوان عامل درگیر در ابتلا به میگرن و صرع شناخته شده‌اند (۲۹، ۲۸).

یکی از مسایلی که در استفاده از یک دارو، از جمله داروهای گیاهی، در درمان بیماری‌ها باید مورد توجه قرار گیرد عوارض جانبی دارو می‌باشد. مطالعات انجام شده بر روی رت، بروز اختلالات حرکتی را در مصرف رازیانه رومی با غلظت‌های بالاتر از ml/kg ۱ نشان داده است (۲۲). با توجه به اطلاعات ما، عوارض جانبی این داروی گیاهی بر روی سایر بافت‌ها تاکنون بررسی نشده است.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر به همراه سایر مطالعات گذشته، نشان داد که رازیانه رومی، در صورت مؤثر بودن در کارآزمایی‌های بالینی، به عنوان یک دارو، قابلیت استفاده در سردردهای میگرنی و صرع را دارد. به نظر می‌رسد علاوه بر ادامه مطالعات حیوانی و بالینی برای اثبات اثرات درمانی رازیانه رومی در میگرن، پیش از پذیرفتن آن به عنوان یک درمان جایگزین برای این بیماری باید مطالعاتی بر روی عوارض جانبی این دارو بر روی سیستم عصبی و سایر سیستم‌های بدن نیز انجام شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد با شماره ۸۵۱۶۰ است که به صورت مشترک در مرکز تحقیقات علوم اعصاب و گروه علوم تشریحی آن دانشگاه و دپارتمان نوروفیزیولوژی دانشگاه مونستر آلمان اجرا گردیده است.

References

1. Zargari A. Medical Plants. 2nd ed. Tehran: The University of Tehran Publication; 1991. p. 502-7.
2. Orav A, Raal A, Arak E. Essential oil composition of Pimpinella anisum L. fruits from various European countries. Nat Prod Res 2008; 22(3): 227-32.

3. Rodrigues VM, Rosa PT, Marques MO, Petenate AJ, Meireles MA. Supercritical extraction of essential oil from aniseed (Pimpinella anisum L) using CO_2: solubility, kinetics, and composition data. J Agric Food Chem 2003; 51(6): 1518-23.
4. Yamini Y, Bahramifar N, Sefidkon F, Saharkhiz MJ, Salamifar E. Extraction of essential oil from Pimpinella anisum using supercritical carbon dioxide and comparison with hydrodistillation. Nat Prod Res 2008; 22(3): 212-8.
5. Gorji A, Khaleghi GM. History of headache in medieval Persian medicine. Lancet Neurol 2002; 1(8): 510-5.
6. Gorji A, Khaleghi GM. History of epilepsy in Medieval Iranian medicine. Neurosci Biobehav Rev 2001; 25(5): 455-61.
7. Gorji A. Spreading depression: a review of the clinical relevance. Brain Res Brain Res Rev 2001; 38(1-2): 33-60.
8. Hadjikhani N, Sanchez DR, Wu O, Schwartz D, Bakker D, Fischl B, et al. Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98(8): 4687-92.
9. Bolay H, Moskowitz MA. The emerging importance of cortical spreading depression in migraine headache. Rev Neurol (Paris) 2005; 161(6-7): 655-7.
10. Gorji A, Zahn PK, Pogatzki EM, Speckmann EJ. Spinal and cortical spreading depression enhance spinal cord activity. Neurobiol Dis 2004; 15(1): 70-9.
11. Maneesri S, Patamanont J, Patumraj S, Srikiatkhachorn A. Cortical spreading depression, meningeal inflammation and trigeminal nociception. Neuroreport 2004; 15(10): 1623-7.
12. Vikelis M, Rapoport AM. Role of antiepileptic drugs as preventive agents for migraine. CNS Drugs 2010; 24(1): 21-33.
13. Calabresi P, Galletti F, Rossi C, Sarchielli P, Cupini LM. Antiepileptic drugs in migraine: from clinical aspects to cellular mechanisms. Trends Pharmacol Sci 2007; 28(4): 188-95.
14. Mathew NT. Antiepileptic drugs in migraine prevention. Headache 2001; 41 Suppl 1: S18-S24.
15. Di Trapani G, Mei D, Marra C, Mazza S, Capuano A. Gabapentin in the prophylaxis of migraine: a double-blind randomized placebo-controlled study. Clin Ter 2000; 151(3): 145-8.
16. Sahraei H, Ghoshooni H, Hossein SS, Mohseni AA, Shafaghi B, Falahi M, et al. The effects of fruit essential oil of the Pimpinella anisum on acquisition and expression of morphine induced conditioned place preference in mice. J Ethnopharmacol 2002; 80(1): 43-7.
17. Muller M, Pape HC, Speckmann EJ, Gorji A. Effect of eugenol on spreading depression and epileptiform discharges in rat neocortical and hippocampal tissues. Neuroscience 2006; 140(2): 743-51.
18. Wernsmann B, Pape HC, Speckmann EJ, Gorji A. Effect of cortical spreading depression on synaptic transmission of rat hippocampal tissues. Eur J Neurosci 2006; 23(5): 1103-10.
19. Khaleghi GM, Tutam Y, Wassmann H, Speckmann EJ, Gorji A. Periodic fasting alters neuronal excitability in rat neocortical and hippocampal tissues. Neurobiol Dis 2009; 36(2): 384-92.
20. Kruger H, Luhmann HJ, Heinemann U. Repetitive spreading depression causes selective suppression of GABAergic function. Neuroreport 1996; 7(15-17): 2733-6.
21. Kohling R, Koch UR, Hagemann G, Redecker C, Straub H, Speckmann EJ. Differential sensitivity to induction of spreading depression by partial disinhibition in chronically epileptic human and rat as compared to native rat neocortical tissue. Brain Res 2003; 975(1-2): 129-34.
22. Pourgholami MH, Majzoob S, Javadi M, Kamalinejad M, Fanaee GH, Sayyah M. The fruit essential oil of Pimpinella anisum exerts anticonvulsant effects in mice. J Ethnopharmacol 1999; 66(2): 211-5.
23. Dallmeier K, Carlini EA. Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. Pharmacology 1981; 22(2): 113-27.
24. Sachs M, Pape HC, Speckmann EJ, Gorji A. The effect of estrogen and progesterone on spreading depression in rat neocortical tissues. Neurobiol Dis 2007; 25(1): 27-34.
25. Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. Neuron 2004; 44(1): 5-21.
26. Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? Trends Neurosci 2003; 26(12): 696-705.
27. Szabadics J, Erdelyi L. Pre- and postsynaptic effects of eugenol and related compounds on Helix pomatia L. neurons. Acta Biol Hung 2000; 51(2-4): 265-73.
28. Cohen GL. Migraine prophylactic drugs work via ion channels. Med Hypotheses 2005; 65(1): 114-22.
29. Leite JP, Neder L, Arisi GM, Carlotti CG, Assirati JA, Moreira JE. Plasticity, synaptic strength, and epilepsy: what can we learn from ultrastructural data? Epilepsia 2005; 46(Suppl 5): 134-41.

Abstract *Original Article*

Effects of Pimpinella Anisum on spreading depression in rat neocortical tissue

H. Haghir[1], A. Gorji[2], J. Hami[3]

Background and Aim: It is believed that cortical spreading depression (CSD) is underlying mechanism of aura and subsequent pain in migraine. This study was designed to investigate the effect of *Pimpinella Anisum* on CSD specifications in rat neocortical slices.

Materials and Methods: In this experimental study, CSD was induced in rat somatosensory cortical slices using two methods. At the first method, after KCl microinjection, the slices were washed out for 60 minutes with *Pimpinella Anisum* oil extract in different concentrations (0.01-50 μM/L). At the second method, slices were washed at artificial cerebrospinal fluid (ACSF) with low concentration of NaCl. Then, slices were washed with 50 μM/L *Pimpinella Anisum* oil extract for 60 minutes. In both methods, control cortical slices were washed in low alcohol containing CSF. Using extracellular potentials recording, the frequency, amplitude, duration, and propagation velocity of CSD was measured. All data were statistically analyzed.

Results: In KCl induced CSF model, the amplitude ($P < 0.001$) and duration ($P < 0.02$) of CSD was significantly decreased after superfusion of *Pimpinella Anisum* at higher concentrations with dose-dependent route. Nonetheless, adding *Pimpinella Anisum* insignificantly reduced the propagation velocity of CSD ($P = 0.3$). In CSD induction with low NaCl concentration ACSF model, adding *Pimpinella Anisum* to washing solution caused reduction of frequency ($P = 0.03$) and amplitude ($P = 0.048$) of CSD. However, the duration of CSD in this model showed no significant difference after using *Pimpinella Anisum*.

Conclusion: Regarding to our results, theoretically, *Pimpinella Anisum* is able to suppress CSD phenomenon as underlying mechanism of migraine with aura.

Keywords: *Pimpinella Anisum*, Brain Neocortex, Spreading Depression, Migraine.

Journal of Birjand University of Medical Sciences 2010; 17(3): 188.

Received: 24.11.2009 Last Received: 10.08.2010 Accepted: 19.08.2010 Online Version: 20.10.2010

[1] *Corresponding Author; Associate Professor, Department of Anatomy and Neuroscience Research Centre, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

Email: drhaghir@yahoo.com

[2] *Professor, Department of Nourophysiology, University of Münster, Münster, Germany.*

[3] *PhD Student, Department of Anatomy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*