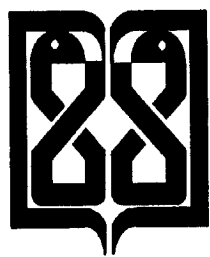


۱۳۸۰ / ۴ / ۳۰



دانشگاه علوم پزشکی تهران
دانشکده داروسازی

پایان نامه:

جهت دریافت درجه دکتری

موضوع:

**بررسی خصوصیات تراژونیک عصاره گیاه فنوگریک در داخل
بدن موش صحرائی**

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر محمد عبداله
جناب آقای دکتر امید سبزواری

012530

نگارنده:

۳۵۷۱۵

پرویز قدیری عشقی

شماره پایان نامه: ۴۱۷۸

سال تحصیلی: ۷۹-۸۰

تقدیه به:

استاد عزیزم جناب آقای دکتر عبدالهی
که بدون راهنمایی ایشان، انجام این
تحقیق بر من ممکن نبود. باشد که
گوشه گویکی از وظایف یک شاگرد را به
جا آورده باشم.

تقدیم به:

استاد عزیزه جناب آقای دکتر سبزواری
که بدون راهنمایی های ایشان، انجام
این تحقیق بر من ممکن نبود. باشد که
گوشه کوچکی از وظایف یک شاگرد را به
جا آورده باشم.

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزه که در تمام عمر،
راستی و درستی، تلاش و امید را در
کوشش زمره کردند و به من آموختند
که بیاموزم و بیاموزانم؛
آنچه را که انسانیتش می نامیم. من
هستیم را مدیون مهربانی، محبت و
تلاش بیوقفه آنان هستیم.

چکیده

گیاه شنبلیله در بسیاری از اقوام به صورت خوراکی از دیرباز مورد استفاده بوده است. همچنین از این گیاه در زمینه‌های درمانی نیز استفاده می‌شود. از دانه‌های این گیاه سالیان متمادی است که برای درمان دیابت استفاده می‌گردد. در این مطالعه عصاره‌ای از گیاه تهیه شد و اثرات سمی و تراتولوژی آن بر روی موش سوری بررسی گردید. LD50 این عصاره با روش Probit analysis برای موش صحرائی 4/1 g/kg و برای موش سوری 3/5 g/kg تعیین گردید.

علاوه بر LD50 و Mortality عصاره نیز تعیین گردید و نشان داده شد که بین دوز و مرگ و میر

یک رابطه مستقیم وجود دارد و با افزایش دوز، مرگ و میر نیز افزایش می‌یابد.

می‌یابد.

در بررسی ظاهری جنین‌ها با دوزهای 0,01/8g/kg و 1/6 و 3/2 بجزء در مورد BPD در دوز 3/2 هیچ تغییر معنی داری مشاهده نشد. جنین‌ها از نظر اسکلتی با روش رنگ آمیزی H & E بررسی گردیدند و تغییرات خفیف تا متوسط در استخوان‌سازی مشاهده شد که نیاز به بررسی‌های بیشتر و دقیقتری دارد. بنابراین پیشنهاد می‌شود اثرات تراتولوژی این گیاه و عصاره آن با توجه به اینکه اطلاعات کمی در مورد آن وجود دارد، بیشتر بررسی شود.

در متن اصلی
تأثیر خزانگی
نسبت

فهرست مطالب

۱	مقدمه
۷	اصول عمومی تراتولوژی
۷	۱- فاکتورهای ژنتیکی (Genetic Factors Influence)
۷	۲- دوره‌های زمانی حساس Critical Periods
۸	۳- مکانیسم‌های ابتدایی (Initiating Mechanisms)
۹	۴- مراحل ایجاد نقص رشد و نمو
۹	Consequences of Abnormal Development
۹	۵- دسترسی به جنین Access to Embryo and Fetus
۱۰	۶- رابطه دوز و پاسخ Dose-Response Relationship
۱۰	مکانیسم اثر تراژونها
۱۰	۱- موتاسیون Mutation
۱۱	۲- اختلال کروموزومی Chromosomal Abnormality
۱۱	۳- مقابله با میتوز Mitotic Interference
۱۲	۴- مقابله با وظایف اسید نوکلئیک
۱۲	Interference with Nucleic Acid Function
۱۲	۵- کمبودهای تغذیه‌ای Nutritional Deficiencies
۱۳	۶- اشکال در تهیه انرژی Deficient or Altered Energy Supply
۱۳	۷- تغییر در اسمولاریتی Change in Osmolarity
۱۴	۸- تغییرات ساختمانی در غشاء سلولی
۱۴	Ultrastructural changes in cell membranes
۱۴	۹- مهار آنزیمی Enzyme Inhibition
۱۴	آزمایشات تراتولوژی
۱۹	تراتولوژی
۲۲	سیستم‌های نمو In vivo و In vitro

۲۲	سیستم‌های نمو معمول و مورد استفاده
۲۳	سیستم کشت اندام
۲۳	این روش دو تکنیک اساسی دارد (۳۶)
۲۴	سیستم کشت رویان غیر پستانداران و غیر ماکیان
۲۴	سیستم کشت بافت
۲۵	گیاه شنبلیله
۲۵	تریگونلا فونوم گرائکوم <i>Trigonella Foenum - Graecum L</i>
۲۵	مشخصات گیاهی
۲۵	جنس <i>Trigonella L.</i>
۲۶	اختصاصات
۲۶	پراکندگی جغرافیایی
۲۷	محل رویش در ایران
۲۷	نحوه تکثیر
۲۷	ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه
۲۷	پروتئین و کربوهیدراتها
۲۷	مواد معدنی موجود در شنبلیله
۲۸	صور دارویی
۲۸	اثرات درمانی گیاه شنبلیله
۳۰	شنبلیله در طب سنتی
۳۰	حلبه (شنبلیله)
۳۱	اثرات فارماکولوژیک
۳۳	مواد
۳۳	دستگاهها
۳۴	الف) انتخاب مدل حیوانی مناسب
۳۵	ب) دوزاژ

۳۵	ج) روش مصرف دارو.....
۳۵	د) دوره مصرف دارو.....
۳۵	۱- روش باردار کردن موشهای صحرایی ماده.....
۳۶	تست اسمیر.....
۳۷	تجویز دارو Drug Administration.....
۳۸	روش کار در لابراتوار بافت‌شناسی.....
۳۹	مرحله قالبگیری.....
۳۹	مرحله برش بافت.....
۴۰	طرز تهیه چسب آلبومین.....
۴۰	تهیه عصاره برگ گیاه شنبلیله.....
۴۱	مرحله رنگ‌آمیزی معمولی هماتوکسلین - اریتروزین H & E:.....
۴۲	محاسبه درصد مرگ و میر (Mortality).....
۴۲	مشاهدات ظاهری.....
۴۳	تعیین میانگین وزنی موشهای مادر در روز صفر.....
۴۳	تعیین LD50 عصاره برگ گیاه فنوگریک در موش صحرایی ماده Rat.....
۴۴	تعیین LD50 عصاره برگ گیاه فنوگریک در موش سوری ماده.....
۴۵	نتایج و مشاهدات.....
۴۵	الف) تعیین LD50.....
۴۵	ب) Mortality.....
۴۵	ج) مشاهدات ظاهری جنین‌ها.....
۴۶	د) مشاهدات بافت‌شناسی: (سلولی) اسکلتی.....
۵۲	بحث و نتیجه‌گیری.....
۵۶	پیشنهادات.....
۵۷	منابع فارسی.....
۵۷	منابع خارجی.....

فصل اول

مقدمه

مقدمه

نگرش به اختلالات رویان، جنین و نوزاد انسان سابقه طولانی دارد و با سرگذشت تاریخی انسان عجین است. تولد نوزاد ناقص الخلقه حادثه‌ای است که موجب رعب، وحشت و کنجکاوی می‌شود و اسناد وقوع آنها در اشکال مختلف منتقل شده است. افسانه‌ها، آثار هنری و یادداشت‌های مربوط به نوزادان ناقص الخلقه را می‌توان در آثار فرهنگی بسیاری از تمدن‌ها یافت. این آثار نشان‌دهنده تاریخچه دانش انسان در این زمینه می‌باشند. گمان می‌رود که بسیاری از نقاشی‌های افسانه‌ای منشأ گرفته از نوزادان ناقص الخلقه بوده است. تشابه بین توصیف انسانهای اساطیری و باستانی به آنچه امروزه، آن را به عنوان الگوی ناهنجاری‌های مادرزادی انسان می‌شناسیم قابل توجه می‌باشد. در گذشته تولد نوزاد ناقص الخلقه به عنوان یک حادثه شوم تلقی می‌شد و در فرهنگ لغت لاتین با عنوان هیولا (Monster) از نوزاد ناقص الخلقه یاد شده است. اعتقاد دیگری مبنی بر تأثیر قوه بینایی (چشم زخم) و احساسات مادران روی جنین در طول بارداری وجود داشته است که ناقص الخلقه بودن نوزادان را به این امر نسبت می‌دادند. در هر حال انسان برای یافتن راز این تغییرات در تکاپو و جستجو بود تا اینکه با پیشرفت علوم دلایل متعددی برای نقص‌های مادرزادی بیان شد ولی شکی نیست که این تغییرات عجیب، وحشتناک و ترساننده در شکل و رفتار انسان هنوز برای ما به صورت یک راز بزرگ باقی مانده است و نکات مبهم بسیاری در مورد علل بوجود آمدن کودکان ناقص الخلقه برایمان باقی مانده است ولی با گسترش فن‌آوری به تدریج پاسخ‌سؤالات داده شده و پایه‌گذار شاخه‌ای جدید از علم سم‌شناسی شد که در ابتدا ناهنجارزایی (تراتولوژی) نامیده می‌شود. این واژه اولیه توسط تعدادی از واژه‌های عمومی‌تر مانند سم‌شناسی تکاملی (Developmental Toxicology) که به مطالعه طیف وسیعی از تأثیرات ناخواسته روی جنین و تأثیر پاسخهای متوالی بر گونه‌های مختلف می‌پردازد، جایگزین شده است. امروزه تأثیر داروها بر مواد شیمیایی و سموم، بیماریهای عفونی و ژنتیکی و شرایط و عوامل مکانیکی در روند تکاملی رویان و جنین به اثبات رسیده است لذا این امر خود باعث افزایش اهمیت سم‌شناسی تکاملی می‌گردد (Tyl R.W., 1999).

این علم به شناخت عوامل بروز ناهنجاری در جنین و نحوه عملکرد آنها کمک شایسته‌ای

کرده و پیشگیری از بروز عوارض ناخواسته را ممکن می‌سازد. امروزه یکی از مهمترین آزمایشات لازم و اجباری جهت تصویب قابل مصرف بودن هر دارو و ماده درمانی، آزمایشات تراتولوژی می‌باشد (Kamal R. & et al, 1991). این آزمایشات با استفاده از لوازم و ابزار موجود در حیوانات پستاندار بخصوص جوندگان (موش صحرایی و موش سوری) انجام می‌گیرد ولی گهگاه مواردی مشاهده می‌شود که داروها بدون اینکه در این آزمایشات مضر شناخته شوند در انسان تراتوژن می‌باشند (Kamal R. & et al, 1991).

بنابراین جمع‌آوری اطلاعات اپیدمیولوژیکی و گسترش دادن آزمایشات *in vitro* نقش مهم و باارزشی را دارا می‌باشند. امروزه آزمایشات تراتولوژی در اغلب مراکز سم‌شناسی مجهز به کشورها انجام می‌گیرد که در شناسایی عوامل سمی و مضر هر منطقه مؤثر است.

تاریخچه تراتولوژی

ناهنجارزایی (تراتولوژی) و یا سمیت تکاملی به هر گونه تغییر ساختاری و عملکردی برگشت پذیر یا برگشت ناپذیر گفته می‌شود که توسط عوامل محیطی از طریق تداخل در هموستاز، رشد عادی، تمایز، تکامل و یا رفتار ایجاد می‌شود (Jain S.C. & et al, 1988). به تعبیر دیگر ناهنجارزایی یکی از شاخه‌های مهم علم سم‌شناسی است که طی آن به مطالعه علل و عوامل ایجاد عوارض سوء ناخواسته در جنین پرداخته می‌شود (عبداللهی، م، ۱۳۷۲).

علاوه بر داروها، مواد شیمیایی و سموم، بیماریهای عفونی و ژنتیکی و شرایط و عوامل مکانیکی نیز می‌توانند باعث تولید کودک ناقص‌الخلقه گردند (Menezel E., 1963; Bouaziz E., 1976).

طی بررسی‌های بعمل آمده در ایالات متحده درصد اتفاقات ناخوشایند در هنگام بارداری به شرح زیر می‌باشد:

خاتمه بارداری بعد از مرحله جایگزینی ۳۱ درصد، اختلالات عمده حین تولد ۴ درصد، اختلالات خفیف تولد ۱۴ درصد، وزن پایین حین تولید ۷ درصد، مرگ و میر نوزاد (قبل از یک سالگی) ۱/۴ درصد، اختلالات عصبی ۱۶ الی ۱۷ درصد (Bouaziz E., 1976).

بنابراین این کمتر از نیمی از حاملگی‌های انسانی منجر به تولد نوزاد سالم می‌شود. این در حالیست که دلایل بروز بسیاری از این حالات هنوز ناشناخته باقی مانده است و فقط در ایالات متحده سالیانه با چنین اختلالاتی همراه می‌باشند (Bouaziz E., 1976).

در بررسی بیش از ۳۳۰۰ ماده شیمیایی از نظر توانایی ناهنجارزایی، تقریباً ۶۳ درصد آنان فاقد اثرات تراتوژن، ۷ درصد از این ترکیبات شیمیایی در یک گونه از حیوانات آزمایشگاهی دارای اثر تراتوژن، ۲۱ درصد در بسیاری از گونه‌های مورد آزمایش تراتوژن و ۹ درصد منجر به نتایج مشکوکی گردیدند (Bouaziz E., 1976).

تراتولوژی تجربی روی گونه‌های غیرپستاندار در اواخر قرن نوزدهم آغاز شد و نتایج حاصل از آن نشان داد که عواملی چون داروها و درجه حرارت روی تکامل جنین خزندگان و طیور اثر نامطلوب باقی می‌گذارد. در گذشته این تصور باطل وجود داشت که به علت وجود جفت سدهای مختلف، جنین پستانداران در مقابل عوارض سوء و ناهنجاری‌ها مقاوم هستند (عبداللهی، محمد، ۱۳۷۲).

در ابتدا علت ناهنجاری‌های انسان را به توارث ژنتیکی نسبت می‌دادند و واژه‌های مادرزادی (Congenital) و موروثی (Hereditary) می‌توانستند به جای هم به کار روند (Menezel E., 1963).

اولین گزارش‌های مربوط به نقص مادرزادی در پستانداران در سالهای ۱۹۳۰ الی ۱۹۴۰ ارائه شدند که علت را سوء تغذیه مادر می‌دانستند (فقط ویتامین A و ریوفلاوین). این مسأله توسط مطالعات دیگری پیگیری شد و در این بررسیها مشخص گردید که عوامل فیزیکی و شیمیایی مانند نیتروژن موستارد، پرتو و ... بطور مشخص تراتوژن هستند (Menezel E., 1963). در ۵۰ سال اخیر با پیدایش مدل‌های حیوانی جهت ایجاد نقص‌های مادرزادی اطلاع از اپیدمی‌های نقص خلقت در انسان، محققان گام‌های بلندی در جهت اعتلای علم تراتولوژی برداشتند.

اولین اپیدمی توسط Gregg در مورد عفونت ویروس سرخچه در زمان بارداری گزارش شد. قبل از این، ناهنجاری‌های چشم، قلب و گوش ناشناخته مانده بود تا اینکه اپیدمی عفونتهای سرخچه‌ای با یک سندرم کلینیکی آشکار گردید و علت بیماری مشخص گشت (Menezel E.,

1963). چنانچه عفونت سرخجه در طول اولین یا دومین ماه بارداری اتفاق بیافتد نقص در قلب و چشم دیده می‌شود، در حالی که ناهنجاریهای گوش بیشتر در ماه سوم حاملگی زخ می‌دهد. عفونت بعد از هفته ۱۴ باعث ناهنجاری مشخصی نمی‌شود ولی خطر اختلال در شنوایی و تکلم، همانند کندذهنی در نوزاد وجود دارد. (Bouaziz E., 1976)

با وجود اینکه رویان پستانداران به عوامل رایج خارجی مثل سوء تغذیه و عفونتهای داخل رحمی حساس می‌باشد، تا سال ۱۹۶۱ که ارتباط بین مصرف تالیدومید در زنان حامله و تولد نوزادان مبتلا به نقص شدید مادرزادی مشخص شد، جایگاه واقعی و کامل این یافته‌ها مورد توجه قرار نگرفت. برخلاف سرخجه، ترا توژنیسیته تالیدومید در انسان به علت ایجاد سندرم شدید و کمیاب کوتاهی اندامها، نسبتاً سریع شناخته شد (Ajabnoor M.A. & et al, 1988)، تالیدومید در سال ۱۹۵۶ توسط شرکت دارویی Chemic Grunthal به عنوان یک آرام‌بخش عرضه شد و در سراسر جهان جهت کمک به خواب و بهبود تهوع و استفراغ دوران حاملگی مورد استفاده قرار گرفت. این دارو در دوزهای خوراکی درمانی ۵۰ الی ۲۰۰ میلی‌گرم در روز هیچ‌گونه سمیتی در انسان و حیوانات بالغ نشان نداده است (Bouaziz E., 1976) و برای آن اثرات سمی و اعتیادآور مشخصی گزارش نشده بود تا اینکه در سال ۱۹۶۰ افزایش چشمگیری در میزان تولد نوزادان مبتلا به Amelia (فقدان اعضا) یا درجات مختلفی از Phocomelia (کاهش طول استخوانی‌های دراز اعضا) که معمولاً بازوها را مبتلا می‌سازد در آلمان و سایر نقاط جهان گزارش شد (Bouaziz E., 1976; Ajabnoor M.A. & et al, 1988). به عنوان مثال در کلینیک دانشگاهی اطفال در هامبورگ در سالهای ۱۹۴۹ الی ۱۹۵۹ هیچ موردی از Phocomelia مشاهده نشده بود. در سال ۱۹۵۹ تنها یک مورد، در سال ۱۹۶۰ تعداد ۳۰ مورد و در سال ۱۹۶۱ تعداد ۱۴۵ مورد گزارش شد. همچنین گزارشات مشابهی از دیگر نقاط جهان که تالیدومید به طور گسترده استفاده می‌شد، فرستاده شد. در سال ۱۹۶۱، Lienz در آلمان و McBride در استرالیا مستقلاً اعلام کردند که تالیدومید عامل این ناهنجاری‌ها است. این دارو در اواخر سال ۱۹۶۱ از بازار جمع‌آوری شد و در آگوست ۱۹۶۲ اپیدمی ناشی از آن متوقف گردید (Menezel E., 1963). گزارشاتی که در رابطه با تعداد کودکانی که در اثر مصرف تالیدومید دچار

نقص خلقت شدند متفاوت است. بعضی تعداد مبتلایان را حداقل ۸۰۰۰ نفر و در ۴۶ کشور (Clifron F.L. & et al, 1954) و بعضی تعداد مبتلایان را ۱۰۰۰۰ نفر ذکر کرده‌اند (Admur) (Menezel E., 1963). ایالات متحده از این مورد جان سالم به در برد و این به علت تعویق افتادن توزیع این دارو توسط اداره FDA آمریکا بود (Menezel E., 1963).

بدنبال آگاهی از اثرات تراتوژنیک داروها در انسان، مطالعاتی به منظور ایجاد تجربی سندرم ناهنجاریها در حیوانات انجام شد. یک یافته غیر قابل انتظار این بود که در مقابل سمیت تکاملی تالیدومید، موش سوری و موش صحرایی مقاوم بوده و خرگوش و هامستر تا حدی جواب می‌دهند. بعلاوه موشهای مختلفی از یک گونه حیوانی، حساسیت متفاوتی را به تالیدومید نشان می‌دهند. عواملی مثل اختلاف در جذب، توزیع، انتقال بیولوژیکی و انتقال جفتی به عنوان علل تفاوت در حساسیت گونه‌ها و حیوانات مختلف در نظر گرفته می‌شوند (Kamal R. & et al, 1991; El-Sokkary A.M. & et al, 1951). ماده دیگری که در سمت تکاملی انسان مورد توجه قرار گرفت دی‌اتیل استیل استرول DES می‌باشد. DES یک استروژن غیراستروئیدی صناعی است که به طور گسترده‌ای در ایالات متحده آمریکا در فاصله سالهای ۱۹۴۰-۱۹۷۰ به منظور جلوگیری از سقط جنین مصرف می‌شد مکانیسم اثر این دارو تحریک سنتز استروژن و پروژسترون در جفت می‌باشد.

طی سالهای ۱۹۶۶ الی ۱۹۶۹ هفت زن با سنین ۱۵ الی ۲۲ سال در بیمارستان عمومی ماساچوست بعلت Clear-Cell Adenocarcinoma بستری گردیدند. این تومور قبلاً در بیماران کمتر از ۳۰ سال گزارش نشده بود. (Menezel E., 1963; Ribes G. & et al, 1986)

یک مطالعه اپیدمیولوژیک ارتباط این بیماری را با مصرف DES در سه ماهه اول بارداری توسط مادران مشخص کرد. در ۷۵ درصد از فرزندان دختر در تماس با DES در داخل رحم، ناهنجاریهای خونی خوش خیم مشاهده شد. همچنین نارسایی‌های فیزیکی و کیفیت پایین سنی در مورد فرزندان پسری که در رحم با DES تماس داشته‌اند دیده شده است (Bouaziz E., 1976; Ribes G. & et al, 1986). گزارشهای دیگری از این موارد نشان دادند که درمان با DES قبل از هفته ۱۸ حاملگی می‌تواند نارسایی‌های دستگاه تناسلی را به وجود آورد. خطر آدنوکارسینومای

(Clear-Cell Adenocarcinoma) واژن و دهانه رحم در اثر تماس قبل از تولد پایین بوده است بطوری که در محدوده ۱/۴-۰/۱۴ در هزار مورد در سن ۲۴ سالگی بوده است (Petit P. & al, 1993). در یک بررسی تقریباً ۱۶۵ فرزند پسر، در هر گروه کیستهای اپیدیدیم، بیضه‌های هیپوتروفیک و آسیبهای کپسولی در ۲۵ درصد گروه تماس داشته با دارو و ۶ درصد شاهد ثبت شد و در ۲۸ درصد مردان تماس داشته کیفیت و حجم پایین منی (بدون اینکه در شاهدها دیده شود) مشاهده شده است. با وجود این، زخمهای بدخیم در فرزندان پسر مشاهده نشده است.

در مورد تراتوژنیسیته فلزات تحقیقات ابتدایی توسط (Carpenter, F. 1967) آغاز شد. این دو به مطالعه اثرات تراتوژن کادمیوم در هامستر پرداختند و به نتایجی در این زمینه دست یافتند بعدها این تحقیقات به ترکیبات آلومینیوم، آرسنیک، بور، کبالت، کروم، مس جذب، سرب، لیتیم، منگنز، جیوه، نیکل، سلنیوم، اورانیوم و روی تعمیم یافت و در مطالعه زیست‌سنجی که روی جواندگان انجام گرفت نتایج مثبتی مبنی بر تراتوژن بودن و یا سمیت این فلزات جنین بدست آمد (Sharam R.D., 1986; Sharam R.D. & et al, 1990). بعضی از موادی که به جنین نمی‌رسند نیز می‌توانند منجر به لطمه زدن به بارداری شوند. حتی خود جفت نیز می‌تواند به تنهایی هدف یک آمبریوتوکسین (عامل سمیت رویانی) واقع شود. فلزاتی همچون کادمیوم، آرسنیک و جیوه از این دسته هستند. از جمله مواد دیگری که اثر تراتوژن دارند الکل می‌باشند که علاوه بر مضرات فراوانشان مصرف آن باعث اثرات سمی مزمن رویانی می‌شوند. (سندرم جنین الکل (FAS) Fetal Alcohol Syndrome الکل سمیت‌های رویانی مختلف و غیراختصاصی بوجود می‌آورد که بصورت تأخیر در رشد داخل رحمی، اختلال در اعمال روانی - رفتاری و نارسایی‌های مجموعه‌ای - صورتی ظاهر می‌شود. در بررسی که روی بچه‌هایی با سندرم FAS انجام گرفته میزان IQ، ۶۸ برآورد و در طول زمان تغییر کمی در این مقدار مشاهده می‌شود.

مصرف کوکائین توسط مادر در دوره بارداری موجب بروز عوارضی شامل کننده شدن جفت، تولید نوزاد نارس، میکروسفالی، کاهش وزن نوزاد در حین تولد و یکسری اختلالات نورولوژیک در نوزاد مانند اختلالات خواب، لرزش، بی‌قراری، کاهش میزان تغذیه، تشنج و مرگ ناگهانی می‌شود. (Menzel E., 1963)