مقاله اصیل پژوهشی

اثر استیل‌ال‌کارنیتین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت هیپوکامپ موش صحرایی صرعی

مهرداد روغنی[1]، زهرا کیاسالاری[2]، محسن خلیلی[3]، فرزانه پسران[4]

چکیده

زمینه و هدف: صرع، یک بیماری عصبی نسبتاً شایع است. استرس اکسیداتیو، نقش مهمی در پاتوژنز صرع دارد. در این مطالعه، اثر استیل ال‌کارنیتین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی صرعی، مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی به پنج گروه: شم، صرعی، صرعی تحت تیمار با اسید والپروئیک و سه گروه صرعی تحت درمان با استیل‌ال‌کارنیتین با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و اسید والپروئیک با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در سه روز قبل از جراحی تقسیم شدند. رفتار تشنجی موش‌ها، در دوره‌های زمانی ۴ ساعته بررسی شد و برای اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو، میزان مالون‌دی‌آلدئید و نیتریت و سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز در هموژنه بافت هیپوکمپ تعیین شد. داده‌ها پس از ورود به نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۶)، با استفاده از آزمون‌های آماری ANNOVA یک‌طرفه و x^2 تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تجویز استیل‌ال‌کارنیتین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب کاهش معنی‌دار شدت تشنج‌ها گردید (به ترتیب $P<۰/۰۵$ و $P<۰/۰۱$)؛ همچنین درمان با استیل‌ال‌کارنیتین در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح مالون‌دی‌آلدئید را به طور معنی‌داری کاهش داد ($P<۰/۰۵$) اما تغییر معنی‌داری در مورد سطح نیتریت و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: پیش‌تیمار با استیل‌ال‌کارنیتین، دارای اثر ضدّ تشنجی بوده و در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در حیوانات صرعی می‌گردد و تأثیر مطلوب بر سطح نیتریت و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز ندارد.

واژه‌های کلیدی: استیل‌ال‌کارنیتین، صرع، اسیدکاینیک، مالون دی‌آلدئید، نیتریت و نیترات، آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۲؛ ۲۰ (۱): ۲۰-۲۸.

دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۱۲ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۲۵

[1] نویسنده مسؤول، استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
آدرس: تهران- بلوار کشاورز- خیابان شهید عبدالله‌زاده- دانشگاه شاهد- دانشکده پزشکی- گروه فیزیولوژی
تلفن: ۸۸۹۶۴۷۹۲-۰۲۱ نمابر: ۰۲۱۸۸۹۶۶۳۱۰ پست الکترونیکی: mehjour@yahoo.com
[2] دانشیار، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
[3] استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی و مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی طب سنتی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
[4] دانش‌آموخته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

مقدمه

صرع، یک بیماری عصبی با شیوع حدود ۱٪ در جامعه انسانی می‌باشد که در طی آن، تخلیه‌های نورونی و تشنّج‌های مکرّر به علت افزایش تحریک‌پذیری نورونی مشاهده می‌شود (۱). تشنج‌های ناشی از صرع، به طور کلی به دو نوع موضعی و عمومی تقسیم می‌شوند. از نظر بالینی نیز حملات صرع با اختلالات حسی، حرکتی، خودمختار و روانی، با حفظ نسبی هوشیاری و یا از دست‌رفتن هوشیاری همراه می‌باشد (۲). شایع‌ترین فرم صرع موضعی در بزرگسالان، صرع لب گیجگاهی می‌باشد که به درمان‌های دارویی رایج نیز مقاوم است و بر اثر پیدایش کانون‌های تخلیه مکرر در هیپوکامپ و یا آمیگدال رخ می‌دهد و تشنج در آن، با از دست‌رفتن هوشیاری همراه است (۲). علت این نوع صرع، تغییرات ساختمانی و متابولیک در مدارهای عصبی هیپوکامپ می‌باشد که با دژنراسیون نورونی هیپوکامپ و تغییرات عملکردی مشخص می‌شود. برای ایجاد این نوع صرع در موجودات آزمایشگاهی، از اسیدکاینیک یا پیلوکارپین استفاده می‌شود. اسیدکاینیک، آنالوگ گیرنده‌های گلوتامات در گروه نوروتوکسین‌ها می‌باشد که تزریق سیستمیک یا داخل مغزی آن، از طریق تحریک گیرنده‌های خاصّ گلوتاماتی، موجب القای تشنج و آسیب نورونی می‌گردد (۴،۳).

علی‌رغم آنکه در دو دهه اخیر، پیشرفت‌های زیادی در خصوص درمان‌های دارویی صرع و عوارض ناشی از آن حاصل شده و داروهای ضدّ صرع متعدّد در بازار دارویی یافت می‌شود ولی حدود یک سوم بیماران صرعی، به داروهای رایج، پاسخ نداده و مصرف درازمدّت داروها نیز عملاً در جلوگیری از پیشرفت بیماری و روند پاتوژنز آن تأثیر ندارد (۵). در طی چند سال اخیر، مواد طبیعی در درمان بیماری‌های عصبی به طور روزافزون استفاده شده‌اند (۶). استیل ال‌کارنیتین، یک ترکیب آمینواسیدی مشتق از لیزین و متیونین می‌باشد که نقش مهمی در متابولیسم مواد غذایی به‌ویژه چربی‌ها دارد و به عنوان یک مکمّل غذایی، مطرح است. تاکنون در خصوص این ماده، مشخص شده است که دارای خاصیّت کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو در مدل تجربی بیماری آلزایمر القاشده با بتاآمیلوئید می‌باشد؛ موجب کاهش میزان آسیب مغزی در مدل تجربی ایسکمی مغزی می‌گردد؛ دارای اثر ضدّ صرعی در مدل تشنج عمومی القاشده با ماده پنتیلن‌تترازول می‌باشد و جلوی آسیب نورونی را در مدل تجربی بیماری پارکینسون می‌گیرد (۷– ۱۳).

با توجه به شباهت زیاد مدل صرع القاشده توسط تزریق داخل هیپوکامپی اسیدکاینیک با صرع لوب گیجگاهی در انسان (۱۳) و عدم وجود گزارش در مورد اثربخشی این ماده در این نوع صرع، بررسی حاضر به منظور بررسی اثر آن بر برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو انجام شد.

روش تحقیق

در این مطالعه تجربی، از ۴۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور تهران) در محدوده وزنی ۲۱۰– ۲۶۰ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها، در دمای ۲۱– ۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج)، به مدت ۶ هفته دسترسی داشتند. در ضمن، بر اساس دستورالعمل‌های توصیه‌شده توسط انستیتو ملّی بهداشت آمریکا (NIH) بررسی‌های لازم برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی به انجام رسید.

موش‌های صحرایی، به ۵ گروه یکسان شم (جراحی کاذب)، صرعی، صرعی‌شده و دریافت‌کننده اسید والپروئیک (سیگما، آمریکا) با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و صرعی‌های دریافت‌کننده استیل ال‌کارنیتین (سیگما، آمریکا) با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از سه روز قبل از جراحی تقسیم شدند. برای صرعی‌نمودن حیوانات، از اسیدکاینیک (سیگما، آمریکا)، به میزان ۴ میکروگرم حل‌شده در محلول نرمال‌سالین تزریق‌شده به داخل ناحیه CA3

هیپوکامپ سمت راست، با مختصات استریوتاکسیک قدامی- خلفی: ۴/۳ میلی‌متر، جانبی: ۴/۲ میلی‌متر و شکمی ۴/۲ تا ۴/۴ میلی‌متر زیر سطح جمجمه استفاده شد. برای تزریق داخل مغزی اسیدکاینیک به میزان ۵ میکرولیتر، از سرنگ هامیلتون و از دستگاه استریوتاکس (ناریشیگه، ژاپن) استفاده گردید. بیهوشی نیز توسط مخلوط کتامین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گزیلازین به میزان۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام شد. پس از ثابت‌نمودن حیوان در فریم دستگاه و زدن یک برش طولی بر روی سر و ضدّ عفونی‌نمودن ناحیه سر، محل تزریق با توجه به مختصات بالا مشخص شد و با استفاده از دریل دندانپزشکی بک، سوراخ ایجاد گردید. گروه شم فقط محلول نرمال‌سالین دریافت نمود. دوز استیل ال‌کارنیتین، بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شد (۱۳). در بیست و چهار ساعت اول پس از جراحی و پس از گذشت ۴ هفته، موش‌ها از نظر رفتار تشنجی، بر اساس تقسیم‌بندی Racine (رتبه‌بندی از صفر تا پنج) در یک فاصله زمانی چهارساعته با استفاده از دوربین ثبت دقیق رفتار (AM2, Korea،SAMSUNG) و انتقال داده‌ها به کامپیوتر و به صورت غیر برخط، مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این خصوص، نمره صفر برای عدم مشاهده پاسخ، نمره یک برای مانتینگ، چشمک‌زدن و یا کلونوس صورت در حدّ خفیف، نمره دو برای تکان‌دادن 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 بلندشدن بر روی دو پا و نمره پنج برای تشنجات کلونیک و سر تا سری در بدن و از دست‌رفتن تعادل در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۴ هفته، موش‌ها با استفاده از اتر، کشته شده و پس از جداسازی بلوک هیپوکامپ و تهیه هموژنه ۱۰٪ در محلول سالین سرد، آزمایشات بعدی در مورد آنها انجام شد.

سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) با استفاده از کیت (سیگما، آمریکا)، بر پایه روشی بود که اساس آن، واکنش تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) بود که در آب جوش انجام گرفت و روش کار آن قبلاً بیان شد (۱۴). برای محلول استاندارد نیز از رقّت‌های مختلف تتراتوکسی‌پروپان استفاده شد.

سنجش غلظت نیتریت و نیترات

سنجش غلظت نیتریت و نیترات بافت هیپوکامپ، براساس واکنش گریس و دستورالعمل کیت (سیگما، آمریکا) و روش کار مطالعه قبلی انجام گرفت (۱۴). محلول استاندارد نیز شامل رقّت‌های مختلف نیتریت سدیم بود.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، بر اساس دستورالعمل کیت (سیگما، آمریکا) و روش مطالعه قبلی بود (۱۴). قاعده کلی آن، بر پایه مهار احیای نیتروبلوتترازولیوم توسط سیستم گرانتین- گزانتین اکسیداز، به عنوان تولیدکننده سوپراکسید می‌باشد.

آنالیز آماری

داده‌ها پس از ورود به نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۶) تجزیه و تحلیل شدند؛ به این ترتیب که پس از تأیید پارامتریک‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگورو- اسمیرنوو، از آزمون ANNOVA یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمون‌های بیوشیمیایی و میانگین رفتار تشنّجی و از آزمون $x2$ برای رخداد رفتار تشنّجی در گروه‌ها استفاده شد و تمام نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد بیان گردید. در تمام بررسی‌ها، $P<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

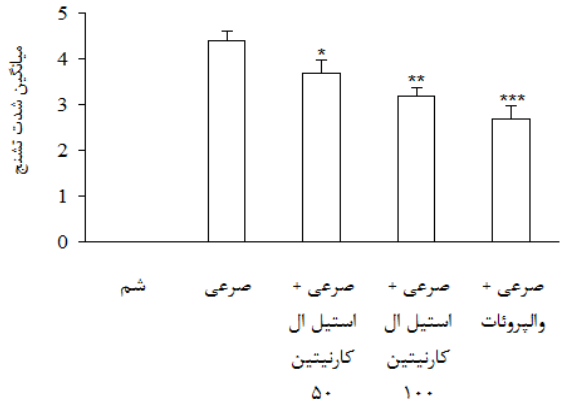
جدول یک، نتایج مربوط به درصد حیوانات با رفتار تشنجی در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. در این خصوص در گروه شم، هیچگونه رفتار تشنجی در حیوانات مشاهده نشد. در گروه صرعی، رفتار تشنجی با نمره بالا به

دفعات در بیست و چهار ساعت اول در تمام حیوانات و رفتار تشنجی در ۸۷/۵٪ حیوانات پس از گذشت چهارهفته مشاهده شد و پیش‌درمان با استیل‌ال‌کارنیتین، باعث کاهش معنی‌دار درصد حیوانات با رفتار تشنّجی در هر یک از این دوره‌های زمانی گردید (P<۰/۰۱–۰/۰۵)؛ به علاوه، پیش‌درمان با اسید والپروئیک در گروه صرعی نیز موجب کاهش معنی‌دار تعداد حیوانات با رفتار تشنّجی در مقایسه با گروه صرعی در همین دوره‌های زمانی شد (P<۰/۰۰۵–۰/۰۱)؛ همچنین میانگین نمره تشنج (نمودار یک) در گروه‌های صرعی‌شده و پیش‌تیمارشده با استیل‌ال‌کارنیتین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه صرعی کمتر بود (به ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱).

جدول ۱- درصد حیوانات با رفتار تشنجی، پس از جراحی در گروه‌های مختلف

گروه	۲٤ ساعت اول پس از جراحی	هفته پنجم پس از جراحی
شم	۰	۰
صرعی	٪۱۰۰	٪۸۷/۵
صرعی+والپروئات	***٪۲۵	**٪۵۰
صرعی+استیل‌ال‌کارنیتین ۵۰mg/Kg	*٪۵۰	*٪۶۲/۵
صرعی+استیل‌ال‌کارنیتین ۱۰۰mg/Kg	**٪۳۷/۵	**٪۵۰

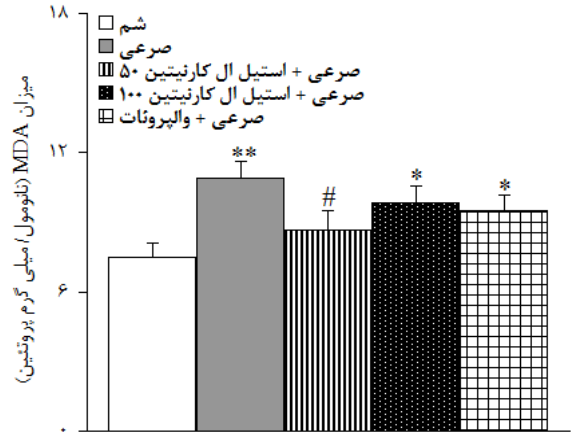
* P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۵ (در مقایسه با گروه صرعی) (n=۸ در **هر گروه**) (**آزمون** x^2)



نمودار ۱- میانگین نمره تشنج در هفته پنجم پس از جراحی در گروه‌های مختلف. * P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۵ (در مقایسه با گروه صرعی) (n=۸ در هر گروه) (آزمون ANNOVA یک‌طرفه).

در خصوص سطح مالون‌دی‌آلدئید، این پارامتر در گروه صرعی به میزان ۴۵/۳ درصد از گروه شم و در حدّ معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۱)؛ همچنین سطح آن در گروه صرعی و تیمارشده با مقدار پایین استیل ال‌کارنیتین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز در حدّ ۲۱/۱۰ درصد از گروه صرعی کمتر بود که این تفاوت نیز از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

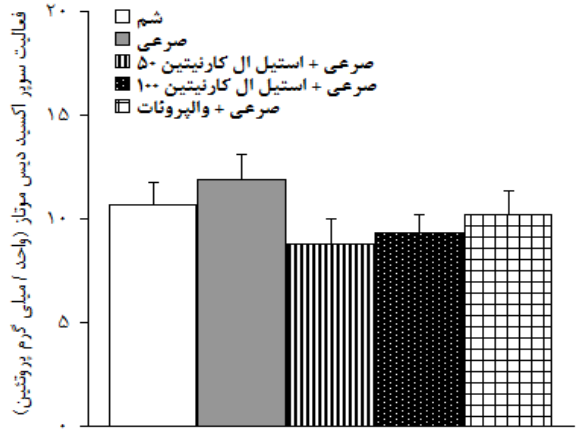
در گروه صرعی و تیمارشده با دوز بالای استیل‌ال‌کارنیتین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز سطح مالون‌دی‌آلدئید به میزان ۱۰/۱ درصد از گروه صرعی کمتر بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ همچنین در گروه صرعی و تحت تیمار با اسید والپروئیک نیز سطح مالون‌دی‌آلدئید ۱۳/۷ درصد از گروه صرعی کمتر بود؛ هر چند این تفاوت از نظر آماری به حدّ معنی‌دار نرسید (نمودار ۲).



نمودار ۲- میانگین میزان مالون‌دی‌آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) در هموژنه بافت هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (استیل‌ال‌کارنیتین، در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز شده است) پس از گذشت ۴ هفته. * P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه شم)، # P<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه صرعی).

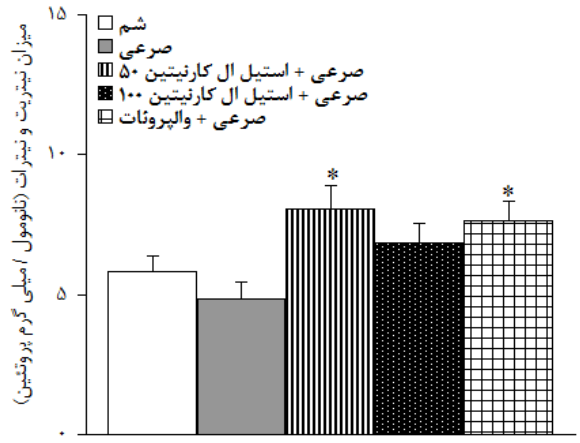
در مورد سطح نیتریت و نیترات (نمودار ۳) نیز در گروه صرعی، این پارامتر به میزان ۱۷/۲۴ درصد از گروه شم کمتر بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ همچنین سطح این شاخص در گروه صرعی تیمارشده با دوز پایین استیل‌ال‌کارنیتین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بالاتر (در

حدّ ۶۶/۷٪) از گروه شم بود (P<۰/۰۵)؛ همچنین در گروه صرعی تیمارشده با دوز بالای استیل‌ال‌کارنیتین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز سطح نیتریت و نیترات به میزان ۴۱٪ از گروه شم بیشتر بود؛ هر چند این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ همچنین در گروه صرعی و پیش‌تیمارشده با اسیدوالپروئیک، سطح این پارامتر از گروه شم در حدّ معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۵).



نمودار ۳- میانگین میزان نیتریت و نیترات هموژنه بافت هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (استیل‌ال‌کارنیتین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز شده است) پس از گذشت ۴ هفته. * P<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه شم).

از نظر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز (نمودار ۴)، این شاخص در گروه صرعی به میزان ۱۲/۲۶ درصد از گروه شم بیشتر بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نشد؛ همچنین فعالیت این آنزیم در گروه صرعی و تیمارشده با دوز پایین استیل‌ال‌کارنیتین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز در حدّ ۲۶ درصد از گروه صرعی و تیمارنشده کمتر بود و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. در گروه صرعی و تیمارشده با دوز بالای استیل‌ال‌کارنیتین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح فعالیت آنزیم به میزان ۲۱/۸۴ درصد از گروه صرعی کمتر بود و این تفاوت به سطح معنی‌دار نرسید. همین وضعیت در مورد گروه صرعی پیش‌تیمارشده با والپروئات نیز وجود داشت.



نمودار ٤- میانگین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز هموژنه بافت هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (استیل ال کارنیتین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز شده است) پس از گذشت ۴ هفته.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز استیل‌ال‌کارنیتین، دارای اثر ضدّ تشنجی بوده و در دوز پایین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در حیوانات صرعی‌شده، موجب کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید می‌گردد و تأثیر مطلوب بر سطح نیتریت و نیترات و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز ندارد.

صرع لب گیجگاهی، یک نوع صرع فوکال محسوب می‌شود که در درازمدّت خود را با حملات تشنجی مکرّر نشان می‌دهد (۲). در این خصوص، این کانون‌های صرعی به تدریج به سایر نواحی سیستم لیمبیک گسترش یافته و با دژنراسیون بارز نورونی، خود را نشان می‌دهند (۴، ۵). القای صرع لب گیجگاهی با استفاده از تزریق داخل هیپوکامپی اسیدکاینیک، به حالت واقعی آن در انسان بسیار شبیه می‌باشد که این مدل در بررسی حاضر مورد استفاده قرار گرفته است (۱۴). بر اساس شواهد موجود، استرس‌اکسیداتیو (که بخش اعظم آن در میتوکندری‌ها به عنوان ارگانل اصلی متابولیسم مواد غذایی رخ می‌دهد)، نقش مهمی در پاتوژنز صرع‌های اکتسابی از قبیل صرع لوب تمپورال دارد (۴، ۵). در بررسی حاضر نیز که مدل تجربی صرع، با استفاده از اسیدکاینیک ایجاد شد نیز

شباهت بالایی با لب تمپورال از نظر مکانیسمی وجود دارد (۱۴). در جریان استرس‌اکسیداتیو، برخی شاخص‌های بیوشیمیایی نظیر مالون‌دی‌آلدئید، در بافت هیپوکامپ افزایش می‌یابند (۱۴)؛ همچنین انتظار می‌رود، سطح نیتریت نیز افزایش و سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز به عنوان یک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کاهش نشان دهد (۱۴).

نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد، مواد با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، قادر به اعمال اثرات ضدّ صرعی و ضدّ تشنجی در بدن می‌باشند (۱۵، ۱۶)؛ در این خصوص، آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق کاهش‌دادن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نواحی دخیل در پاتوژنز صرع شامل هیپوکامپ، موجب کاهش شدّت و احتمال رخداد تشنج می‌گردند (۱۷). آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند از طریق افزایش پایداری غشاهای سلولی، موجب افزایش مقاومت نورون‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو گردند و از طرفی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در برابر آسیب اکسیداتیو افزایش دهند (۱۸). همین مکانیسم احتمالاً می تواند، در مورد اثرات حفاظتی استیل‌ال‌کارنیتین در مدل صرع القاشده توسط اسیدکاینیک در این تحقیق، مطرح باشد که از نظر بیوشیمیایی خود را با کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید در بافت مغز نشان می‌دهد. اثرات حفاظت عصبی و آنتی‌اکسیدانی استیل‌ال‌کارنیتن قبلاً توسط Karalija و همکاران (۲۰۱۲) در مدل تجربی ضایعه نخاعی نشان داده شده است (۱۷)؛ همچنین پیش از این معلوم شده است که در حالت صرع، اوتوفاژی در برخی نواحی مغز افزایش می‌یابد و ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، می توانند در جهت کاهش اوتوفاژی و مرگ نورونی عمل نمایند (۱۸، ۱۹). در تأیید این گفته، مطالعه Annadurai و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داد که استیل‌ال‌کارنیتین، قادر به پیشگیری از استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی می‌باشد که از این نظر، مشابه با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر ویتامین E عمل می‌نماید (۲۰)؛ همچنین بخشی از اثر سودمند استیل‌ال‌کارنیتین را احتمالاً می‌توان به اثرات نوروپروتکتیو آن در جلوگیری از آسیب نورون‌های هیپوکامپ، به دنبال تزریق اسیدکاینیک نسبت داد. در این رابطه، اثرات نوروپروتکتیو این ماده قبلاً توسط Hota و همکاران در سال ۲۰۱۱ در محافظت عصبی در مدل تجربی هیپوکسی القاشده، مورد تأیید قرار گرفته است (۲۱)؛ همچنین مشخص شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها، به طور کلّی می‌توانند از بروز اختلال عملکردی سیتوکروم‌اکسیداز جلوگیری نموده و سطح ترکیبات فسفات‌دار پرانرژی و نیتریک‌اکسید را در نواحی مختلف مغز به‌ویژه ناحیه هیپوکامپ، کاهش دهند (۲۲) که خود موجب کاهش شدّت آسیب نورونی به دنبال تزریق ماده نوروتوکسیک‌اسیدکاینیک به داخل مغز می گردد که در نتیجه، تغییرات پلاستیسیته کمتری در ناحیه هیپوکمپ رخ می‌دهد و خود را با شدت و دفعات کمتر حملات تشنجی نشان می‌دهد. با در نظر گرفتن مطالب پیش‌گفته و اینکه بهترین شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید می‌باشد، می‌توان گفت که استیل‌ال‌کارنیتین در این بررسی در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، توانسته است موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت هیپوکمپ گردد.

در مطالعه ما از اسید والپروئیک، با توجه به اثرات حفاظت‌کنندگی آن و با توجه به کاربرد فراوان آن در بیماران صرعی، به صورت پیش‌تیمار و به عنوان یک داروی کنترل مثبت استفاده شد. پیش از این نشان داده شده است که والپروئات، علیه حملات تشنجی ماکزیمال الکتروشوک و حملات تشنجی ناشی از پنتیلن‌تترازول مؤثّر می‌باشد و در غلظت‌های بالا، ترانسپورترگابا را در مغز مهار کرده و در نتیجه، مانع تجزیه گابا می‌گردد (۲۳). در این مطالعه مشخص شد که این ماده، می‌تواند تا حدودی اثرات حفاظت نورونی خود را در برابر تزریق داخل هیپوکامپی اسیدکاینیک اعمال نماید که بخشی از این اثر را می‌توان به خواصّ آنتی‌اکسیدانتی و نوروپروتکتیوی آن نسبت داد (۲۴) که با

رفتار تشنجی کمتر همراه بود.

در این مطالعه، پیش‌تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موش‌های گروه کاینات، عملاً موجب کاهش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با گروه کاینات نگردید. هر چند در مطالعات انجام‌شده، تاکنون گزارشی در مورد اثرات سمّی استیل‌ال‌کارنیتین بر بافت مغز گزارش نشده است ولی این احتمال می‌رود که اثرات حفاظت‌کنندگی این دارو، در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشتر از دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باشد که با نتایج مطالعه Lowitt در مورد اثرات استیل‌ال‌کارنیتین در نوروپاتی دیابتی که همین دوز از دارو را به کار برده است، هم‌خوانی دارد (۲۵)؛ هر چند این موضوع به بررسی‌های بیشتر نیاز دارد.

یکی از محدودیت‌های بررسی حاضر این بود که والپروئات به فرم داخل صفاقی و استیل‌ال‌کارنیتین به فرم خوراکی تجویز شد. در صورتی‌که اسیدوالپروئیک با دوز بالاتر مثلاً ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به فرم خوراکی مشابه استیل‌ال‌کارنیتین تجویز می‌شد، امکان مقایسه دقیق این گروه‌ها فراهم می‌گردید.

نتیجه‌گیری

تجویز استیل‌ال‌کارنیتین، دارای اثر ضدّ تشنجی بوده و در دوز پایین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در حیوانات صرعی‌شده، موجب کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و میزان پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد و تأثیر مطلوب بر سطح نیتریت و نیترات و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز ندارد.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر، حاصل پایان‌نامه دانشجویی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد با کد مصوب ۵۶ در سال ۱۳۹۰می‌باشد. بدین‌وسیله از حمایت‌های مالی این دانشگاه برای انجام این طرح، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع:

1- Banerjee PN, Filippi D, Allen Hauser W. The descriptive epidemiology of epilepsy-a review. Epilepsy Res. 2009;85 (1): 31-45.

2- McHugh JC, Delanty N. Epidemiology and classification of epilepsy: gender comparisons. Int Rev Neurobiol. 2008; 83: 11-26.

3- Jefferys JG. Advances in understanding basic mechanisms of epilepsy and seizures. Seizure. 2010; 19 (10): 638-46.

4- Dichter MA. Emerging concepts in the pathogenesis of epilepsy and epileptogenesis. Arch Neurol. 2009; 66 (4): 443-7.

5- Beghi E. Treating epilepsy across its different stages. Ther Adv Neurol Disord. 2010; 3 (2): 85-92.

6- Kim HG, Oh MS. Natural products as potential anticonvulsants: caffeoylquinic acids. Arch Pharm Res. 2012; 35(3): 389-92.

7- Abdul HM, Calabrese V, Calvani M, Butterfield DA. Acetyl-L-carnitine-induced up-regulation of heat shock proteins protects cortical neurons against amyloid-beta peptide 1-42-mediated oxidative stress and neurotoxicity: implications for Alzheimer's disease. J Neurosci Res. 2006; 84 (2): 398-408.

8- Vivoli E, Di Cesare Mannelli L, Salvicchi A, Bartolini A, Koverech A, Nicolai R, et al. Acetyl-L-carnitine increases artemin level and prevents neurotrophic factor alterations during neuropathy. Neuroscience. 2010; 167(4): 1168-74.

9- Barhwal K, Hota SK, Jain V, Prasad D, Singh SB, Ilavazhagan G. Acetyl-l-carnitine (ALCAR) prevents hypobaric hypoxia-induced spatial memory impairment through extracellular related kinase-mediated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 phosphorylation. Neuroscience. 2009; 161 (2): 501-14.

10- Kobayashi S, Iwamoto M, Kon K, Waki H, Ando S, Tanaka Y. Acetyl-L-carnitine improves aged brain function. Geriatr Gerontol Int. 2010;10 (1): S99-106.

11- Miltiadous P, Stamatakis A, Koutsoudaki PN, Tiniakos DG, Stylianopoulou F. IGF-I ameliorates hippocampal neurodegeneration and protects against cognitive deficits in an animal model of temporal lobe epilepsy. Exp Neurol. 2011; 231 (2): 223-35.

12- Xie C, Sun J, Qiao W, Lu D, Wei L, Na M, et al. Administration of simvastatin after kainic acid-induced status epilepticus restrains chronic temporal lobe epilepsy. PLoS One. 2011; 6 (9): e24966.

13- Goo MJ, Choi SM, Kim SH, Ahn BO. Protective effects of acetyl-L-carnitine on neurodegenarative changes in chronic cerebral ischemia models and learning-memory impairment in aged rats. Arch Pharm Res. 2012; 35 (1): 145-54.

14- 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; 49 (1): 194-201.

15- Wu Z, Xu Q, Zhang L, Kong D, Ma R, Wang L. Protective effect of resveratrol against kainate-induced temporal lobe epilepsy in rats. Neurochem Res. 2009; 34 (8): 1393-400.

16- Shi X, Yao BZ, Liu D. Lipoprotein lipase expression in the hippocampus and its effects on vitamin E levels in rats with epilepsy. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. 2010; 12 (5): 377-81.

17- Karalija A, Novikova LN, Kingham PJ, Wiberg M, Novikov LN. Neuroprotective effects of N-acetyl-cysteine and acetyl-L-carnitine after spinal cord injury in adult rats. PLoS One. 2012; 7 (7): e41086.

18- Aziroglu M, Kutluhan S, Uuz AC, Celik O, Bal R, Butterworth PJ. Topiramate and vitamin e modulate the electroencephalographic records, brain microsomal and blood antioxidant redox system in pentylentetrazol-induced seizure of rats. J Membr Biol. 2009; 229 (3): 131-40.

19- Cao L, Xu J, Lin Y, Zhao X, Liu X, Chi Z. Autophagy is upregulated in rats with status epilepticus and partly inhibited by Vitamin E. Biochem Biophys Res Commun. 2009; 379 (4): 949-53.

20- Annadurai T, Vigneshwari S, Thirukumaran R, Thomas PA, Geraldine P. Acetyl-L -carnitine prevents carbon tetrachloride-induced oxidative stress in various tissues of Wistar rats. J Physiol Biochem. 2011; 67 (4): 519-30.

21- Hota KB, Hota SK, Chaurasia OP, Singh SB. Acetyl-L-carnitine-mediated neuroprotection during hypoxia is attributed to ERK1/2-Nrf2-regulated mitochondrial biosynthesis. Hippocampus. 2012; 22 (4): 723-36.

22- Navarro A, Bandez MJ, Lopez-Cepero JM, Gómez C, Boveris A. High doses of vitamin E improves mitochondrial dysfunction in rat hippocampus and frontal cortex upon aging. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2011; 300 (4): R827-34.

23- Bauer J. Epilepsy therapy: issues for women and men. Curr Opin Neurol. 2001; 14 (2): 199-202.

24- Monti B, Polazzi E, Contestabile A. Biochemical, molecular and epigenetic mechanisms of valproic acid neuroprotection. Curr Mol Pharmacol. 2009; 2 (1): 95-109.

25- Lowitt S, Malone JI, Salem AF, Korthals J, Benford S. Acetyl-L-carnitine corrects the altered peripheral nerve function of experimental diabetes. Metabolism. 1995; 44 (5): 677-80.

Abstract *Original Article*

Effect of acetyl L carnitine on oxidative stress markers in hippocampus of epileptic rat

Mehrdad Roghani[1], Zahra Kiasalari[2], Mohsen Khalili[3], Farzane Pesaran[4]

Background and Aim: Epilepsy is a rather common neurological disorder. Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of epilepsy. The present study was undertaken to evaluate the effect of acetyl L carnitine (ALC) on oxidative stress markers in hippocampus of epileptic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, male rats were divided into 5 groups of sham, epileptic rats receiving valproic acidat a dose of 200 mg/kg, and 3 ALC-treated epileptic rats at doses of 50 and 100 mg/kg for 3 days pre-surgery. Seizure activity was determined in 4 h periods and for measurement of oxidative stress markers, level of malondialdehyde (MDA), nitrite, and activity of superoxide dismutase (SOD) were determined in hippocampal homogenate. The obtained data was fed into SPSS software (V: 16) for statistical analysis, one-way ANOVA and *x*2 tests were used.

Results: ALC treatment at doses of 50 and 100 mg/kg attenuated seizure intensity ($P<0.05$ and $P<0.01$, respectively), level of MDA significantly reduced ($P<0.05$) following ALC at a dose of 50 mg/kg, but nitrite level and SOD activity did not show significant changes.

Conclusion: ALC pretreatment has antiepileptic activity and at a dose of 50 mg/kg can reduce MDA level as an index of lipid peroxidation but it has no appropriate effect on nitrite level and SOD activity.

Key Words: Acetyl L carnitine, Epilepsy, Kainic acid, Malondialdehyde, Nitrite and nitrate, Superoxide dismutase enzyme

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2013; 20 (1): 20-28.

Received: June 1, 2012 ***Accepted: May 15, 2013***

[1] *Corresponding author, Professor, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran mehjour@yahoo.com*
[2] *Associate professor, Research Center neurophysiology, Shahed University, Tehran, Iran.*
[3] *Professor, Research Center for Traditional Medicine clinical neurophysiology and Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.*
[4] *Graduated School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.*