

اثر استیل ال کارنیتین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت هیپوکامپ موش صحرایی صرعی

مهرداد روغنی^۱، زهرا کیاسالاری^۲، محسن خلیلی^۳، فرزانه پسران^۴

چکیده

زمینه و هدف: صرع، یک بیماری عصبی نسبتاً شایع است. استرس اکسیداتیو، نقش مهمی در پاتوژنی صرع دارد. در این مطالعه، اثر استیل ال کارنیتین 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، تحت تیمار با اسید والپروئیک و سه گروه صرعی تحت درمان با استیل ال کارنیتین 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 مالون دی‌آلدئید، نیتریت و سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاژ در هموژنه بافت هیپوکامپ تعیین شد. داده‌ها پس از ورود به نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۶)، با استفاده از آزمون‌های آماری ANNOVA یک طرفه و χ^2 تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تجویز استیل ال کارنیتین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب کاهش معنی‌دار شدت تشنج‌ها گردید (به ترتیب $P < 0.05$ و $P < 0.01$ ؛ همچنین درمان با استیل ال کارنیتین در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح مالون دی‌آلدئید را به طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.05$) اما تغییر معنی‌داری در مورد سطح نیتریت و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاژ مشاهده نشد). نتیجه‌گیری: پیش‌تیمار با استیل ال کارنیتین، دارای اثر ضد‌تشنجی بوده و در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب کاهش سطح مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در حیوانات صرعی می‌گردد و تأثیر مطلوب بر سطح نیتریت و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاژ ندارد.

واژه‌های کلیدی: استیل ال کارنیتین، صرع، اسید کاینیک، مالون دی‌آلدئید، نیتریت و نیترات، آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاژ

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

دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۱۲ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۲۵

^۱ نویسنده مسؤول، استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

آدرس: تهران- بلوار کشاورز- خیابان شهید عبداللهزاده- دانشگاه شاهد- دانشکده پزشکی- گروه فیزیولوژی
تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۶۴۷۹۲- ۰۲۱۸۸۹۶۶۳۰- نمبر: ۰۲۱۸۸۹۶۶۳۱۰- پست الکترونیکی: mehjour@yahoo.com

^۲ دانشیار، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

^۳ استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی و مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی طب سنتی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

^۴ دانشآموخته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

مقدمه

است. تاکنون در خصوص این ماده، مشخص شده است که دارای خاصیت کاهش‌دهنگی استرس اکسیداتیو در مدل تجربی بیماری آزالیمر القاشه با بتامیلوئید می‌باشد؛ موجب کاهش میزان آسیب مغزی در مدل تجربی ایسکمی مغزی می‌گردد؛ دارای اثر ضد صرعی در مدل تشنج عمومی القاشه با ماده پنتیلن‌ترازول می‌باشد و جلوی آسیب نورونی را در مدل تجربی بیماری پارکینسون می‌گیرد (۷-۱۳).

با توجه به شباهت زیاد مدل صرع القاشه 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 ۴ تایی 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 توصیه شده توسط انتستیتو ملی 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 والبروئیک (سیگما، آمریکا) با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و صرعی‌های دریافت‌کننده استیل ال کارنیتین (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 حل شده در محلول نرمال سالین تزریق شده به داخل ناحیه CA3

صرع، یک بیماری عصبی با شیوع حدود ۱٪ در جامعه انسانی می‌باشد که در طی آن، تخلیه‌های نورونی و تشنج‌های مکرر 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 لوب 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 دزتراسیون 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 خاص گلوتاماتی، موجب القای تشنج و آسیب نورونی می‌گردد (۳،۴).

على‌رغم آنکه در دو دهه اخیر، پیشرفت‌های زیادی در خصوص درمان‌های دارویی صرع و عوارض ناشی از آن حاصل شده و داروهای ضد صرع متعدد در بازار دارویی یافته می‌شود ولی حدود یک سوم بیماران صرعی، به داروهای رایج، پاسخ نداده و مصرف درازمدّ داروها نیز عملأ 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 روزافرون استفاده شده‌اند (۶). استیل ال کارنیتین، یک ترکیب آمینواسیدی مشتق از لیزین و متیونین می‌باشد که نقش مهمی در متابولیسم مواد غذایی به‌ویژه چربی‌ها دارد و به عنوان یک مکمل غذایی، مطرح

واکنش تیوبارتیوریکا اسید (TBA) بود که در آب جوش انجام گرفت و روش کار آن قبلاً بیان شد (۱۴). برای محلول استاندارد نیز از رقت‌های مختلف تتراتوکسیپروپان استفاده شد.

سنجهش غلظت نیتریت و نیترات

سنجهش 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 رقت‌های مختلف نیتریت سدیم بود.

سنجهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

سنجهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، بر اساس دستورالعمل کیت (سیگما، آمریکا) و روش مطالعه قبلی بود (۱۴). قاعده کلی آن، بر پایه مهار احیای نیتروبلوترازوکسیلیوم توسط سیستم گرانتین-گرانتین 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 پارامتریک بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگورو-اسمیرنوفو، از آزمون ANNOVA یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمون‌های بیوشیمیایی و میانگین رفتار تشنجی و از آزمون 2×2 برای رخداد رفتار تشنجی در گروه‌ها استفاده شد و تمام نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان گردید. در تمام بررسی‌ها، $P < 0.05$ 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

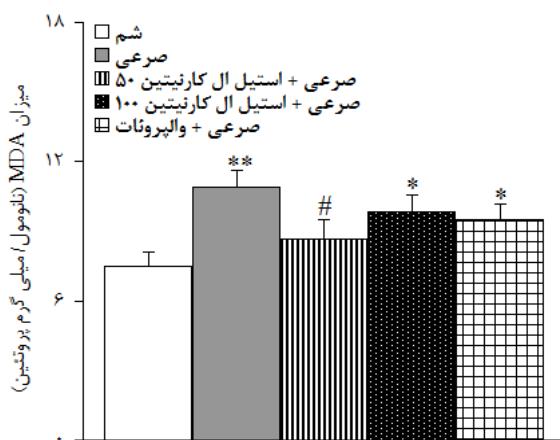
هیپوکامپ سمت راست، با مختصات استریووتاکسیک قدامی-خلفی: $4/3$ میلی‌متر، جانبی: $4/2$ میلی‌متر و شکمی: $4/2$ تا $4/4$ میلی‌متر زیر سطح جمجمه استفاده شد. برای تزریق داخل مغزی اسید کاینیک به میزان ۵ میکرولیتر، از سرنگ هامیلتون و از دستگاه استریووتاکس (ناریشیگه، ژاپن) استفاده گردید. بیهوشی نیز توسط مخلوط کتمانی به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گزیلازین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام شد. پس از ثابت‌نمودن حیوان در فریم دستگاه و زدن یک برش طولی بر روی سر و ضد عفونی نمودن 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 نرم‌مال‌سالین دریافت نمود. دوز شم استیل ال کاربینتین، 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 (رتیه‌بندی از صفر تا پنج) در یک فاصله زمانی چهار ساعته 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 مانتنینگ، چشمک‌زدن و یا کلونوس صورت در حد 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 تهییه هموژنه ۱۰٪ در محلول سالین سرد، آزمایشات بعدی در مورد آنها انجام شد.

سنجهش مالون دی‌آلدئید (MDA)

اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید (MDA) با استفاده از کیت (سیگما، آمریکا)، بر پایه روشی بود که اساس آن،

در خصوص سطح مالون دی‌آلدئید، این پارامتر در گروه صرعی به میزان $45/3$ درصد از گروه شم و در حد معنی‌داری بیشتر بود ($P<0.01$); همچنین سطح آن در گروه صرعی و تیمارشده با مقدار پایین استیل ال کارنیتین به میزان 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز در حد $21/10$ درصد از گروه صرعی کمتر بود که این تفاوت نیز از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0.05$).

در گروه صرعی و تیمارشده با دوز بالای استیل ال کارنیتین به میزان 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز سطح مالون دی‌آلدئید به میزان $10/1$ 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 مالون دی‌آلدئید $13/7$ درصد از گروه صرعی کمتر بود؛ هر چند این تفاوت از نظر آماری به حد معنی‌دار نرسید (نمودار ۲).



نمودار ۲- میانگین میزان مالون دی‌آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) در هموژنه بافت هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (استیل ال کارنیتین، در دو دوز 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز شده است) پس از گذشت 4 هفته. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ (در مقایسه با گروه صرعی). # $P<0.05$ (در مقایسه با گروه صرعی).

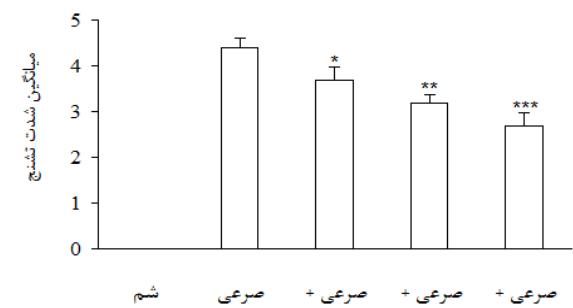
در مورد سطح نیتریت و نیترات (نمودار ۳) نیز در گروه صرعی، این پارامتر به میزان $17/24$ درصد از گروه شم کمتر بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ همچنین سطح این شاخص در گروه صرعی تیمارشده با دوز پایین استیل ال کارنیتین به میزان 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم بالاتر (در

دفعات در بیست و چهار ساعت اول در تمام حیوانات و رفتار تشنجی در $87/5\%$ حیوانات پس از گذشت چهار هفته مشاهده شد و پیش‌درمان با استیل ال کارنیتین، باعث کاهش معنی‌دار درصد حیوانات با رفتار تشنجی در هر یک از این دوره‌های زمانی گردید ($P<0.05$ - 0.1)؛ به علاوه، پیش‌درمان با اسید والپروئیک در گروه صرعی نیز موجب کاهش معنی‌دار تعداد حیوانات با رفتار تشنجی در مقایسه با گروه صرعی در همین دوره‌های زمانی شد ($P<0.005$ - 0.1)؛ همچنین میانگین نمره تشنج (نمودار یک) در گروه‌های صرعی شده و پیش‌تیمارشده با استیل ال کارنیتین در دو دوز 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم، به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه صرعی کمتر بود (به ترتیب $P<0.05$ و $P<0.01$).

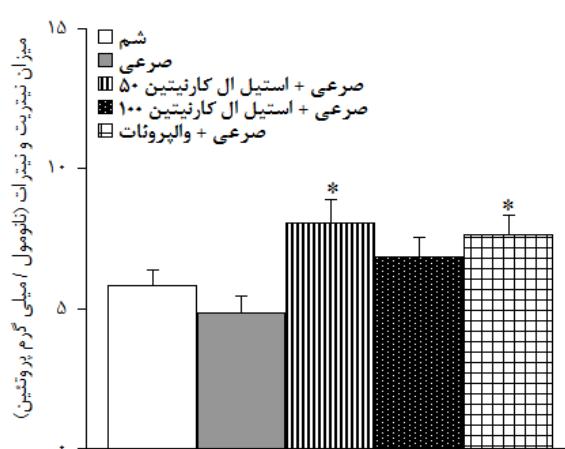
جدول ۱- درصد حیوانات با رفتار تشنجی، پس از جراحی در گروه‌های مختلف گروه‌های

گروه	۲۴ ساعت پس از جراحی	۷ پس از جراحی
شم	۰	۰
صرعی	$87/5\%$	100%
صرعی+والپروئات	50%	25%
صرعی+استیل ال کارنیتین 50mg/Kg	$62/5\%$	50%
صرعی+استیل ال کارنیتین 100mg/Kg	$87/5\%$	$37/5\%$

(در مقایسه با گروه صرعی) * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ (در مقایسه با گروه صرعی) در هر گروه (χ^2 آزمون)



نمودار ۱- میانگین نمره تشنج در هفته پنجم پس از جراحی در گروه‌های مختلف. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ (در مقایسه با گروه صرعی) (آزمون ANOVA یک طرفه). n=8 در هر گروه (آزمون χ^2).



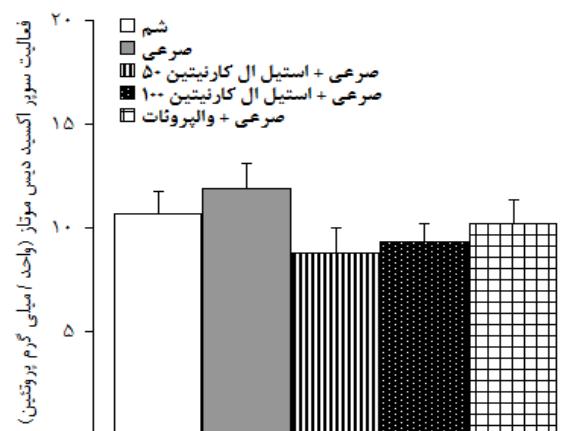
نمودار ۴- میانگین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاژ هموژنه بافت هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (استیل ال کارنیتین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروتات به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز شده است) پس از گذشت ۴ هفته.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز استیل ال کارنیتین، دارای اثر ضد تشننجی بوده و در دوز پایین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در حیوانات صرعی شده، موجب کاهش سطح مالون دی‌آلدئید می‌گردد و تأثیر مطلوب بر سطح نیتریت و نیترات و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاژ ندارد.

صرع لب گیجگاهی، یک نوع صرع فوکال محسوب می‌شود که در درازمدت خود را با حملات تشننجی مکرر 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 اسید کاینیک، 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، استرس اکسیداتیو (که بخش اعظم آن در میتوکندری‌ها به عنوان ارگانل اصلی متابولیسم مواد غذایی رخ می‌دهد)، نقش مهمی در پاتوژنر صرع‌های اکتسابی از قبیل صرع لوب تمپورال دارد (۴، ۵). در بررسی حاضر نیز که مدل تجربی صرع، با استفاده از اسید کاینیک ایجاد شد نیز

حد ۷/۶۶٪ از گروه شم بود ($P<0.05$)؛ همچنین در گروه صرعی تیمارشده با دوز بالای استیل ال کارنیتین 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 حد معنی‌داری بیشتر بود ($P<0.05$).



نمودار ۳- میانگین میزان نیتریت و نیترات هموژنه بافت هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (استیل ال کارنیتین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروتات به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز شده است) پس از گذشت ۴ هفته. * (در مقایسه با گروه شم).

از نظر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاژ (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 استیل ال کارنیتین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز در حد ۲۶ درصد از گروه صرعی و تیمارشده کمتر بود و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. در گروه صرعی و تیمارشده با دوز بالای استیل ال کارنیتین 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 والپروتات نیز وجود داشت.

استیل ال کاربینتین را احتمالاً می‌توان به اثرات نوروپروتکتیو آن در جلوگیری از آسیب نورون‌های هیپوکامپ، به دنبال تزریق اسید کاینیک نسبت داد. در این رابطه، اثرات نوروپروتکتیو این ماده قبلًاً توسط Hota و همکاران در سال ۲۰۱۱ در محافظت عصبی در مدل تجربی هیپوکسی القاشه، مورد تأیید قرار گرفته است (۲۱)؛ همچنین مشخص شده است که آنتی‌اسیدان‌ها، به طور کلی می‌توانند از بروز اختلال عملکردی سیتوکروم‌اسیداز جلوگیری نموده و سطح ترکیبات فسفات‌دار پرانزه‌ی و نیتریک‌اسید را در نواحی مختلف مغز بهویژه ناحیه هیپوکامپ، کاهش دهند (۲۲) که خود موجب کاهش شدت آسیب نورونی به دنبال تزریق ماده نوروپروتکسیک‌اسید کاینیک به داخل مغز می‌گردد 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 مطالعه پیش‌گفته و اینکه بهترین شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، میزان تولید مالون دی‌آلدئید می‌باشد، می‌توان گفت که استیل ال کاربینتین 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 حفاظت‌کننده‌ی 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 ماکریمال الکتروشوک و حملات تشنجی ناشی از پنتیلن‌ترازول مؤثر 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 اسید کاینیک اعمال نماید که بخشی از این اثر را می‌توان به خواص آنتی‌اسیدانتی و نوروپروتکتیوی آن نسبت داد (۲۴) که با

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

نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد، مواد با خاصیت آنتی‌اسیدانی، قادر به اعمال اثرات ضد صرعی و ضد تشنجی در بدن می‌باشند (۱۵، ۱۶)؛ در این خصوص، آنتی‌اسیدان‌ها از طریق کاهش‌دادن استرس‌اسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نواحی دخیل در پاتوژن‌زد صرع شامل هیپوکامپ، موجب کاهش شدت و احتمال رخداد تشنج می‌گرددند (۱۷). آنتی‌اسیدان‌ها قادرند از طریق افزایش پایداری غشاها سلولی، موجب افزایش مقاومت نورون‌ها در برابر آسیب اسیداتیو گرددند و از طرفی ظرفیت آنتی‌اسیدانی مغز را در برابر آسیب اسیداتیو افزایش دهند (۱۸). همین مکانیسم احتمالاً می‌تواند، در مورد اثرات حفاظتی استیل ال کاربینتین در مدل صرع القاشه توسط اسید کاینیک در این تحقیق، مطرح باشد که از نظر بیوشیمیایی خود را با کاهش سطح مالون دی‌آلدئید در بافت مغز نشان می‌دهد. اثرات حفاظت عصبی و آنتی‌اسیدانی استیل ال کاربینتین قبلًاً 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 می‌باید و ترکیبات با خاصیت آنتی‌اسیدانی، می‌توانند 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 استیل ال کاربینتین، قادر به پیشگیری از استرس‌اسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی می‌باشد که از این نظر، مشابه با آنتی‌اسیدان‌های طبیعی نظیر ویتامین E عمل می‌نماید (۲۰)؛ همچنین بخشی از اثر سودمند

استیل ال کارنیتین تجویز می شد، امکان مقایسه دقیق این گروه ها فراهم می گردید.

نتیجه گیری

تجویز استیل ال کارنیتین، دارای اثر ضد تشنجی بوده و در دوز پایین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در حیوانات صرعی شده، موجب کاهش سطح مالون دی آلدئید و میزان پراکسیداسیون لیپیدی می گردد و تأثیر مطلوب بر سطح نیتریت و نیترات و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز ندارد.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر، حاصل پایان نامه دانشجویی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد با کد مصوب ۵۶ در سال ۱۳۹۰ می باشد. بدین وسیله از حمایت های مالی این دانشگاه برای انجام این طرح، تشکر و قدردانی می گردد.

رفتار تشنجی کمتر همراه بود.

در این مطالعه، پیش تیمار با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موش های گروه کاینات، عملاً موجب کاهش معنی دار میزان مالون دی آلدئید در مقایسه با گروه کاینات نگردید. هر چند در مطالعات انجام شده، تاکنون گزارشی در مورد اثرات سمی استیل ال کارنیتین بر بافت مغز گزارش نشده است ولی این احتمال می رود که اثرات حفاظت کنندگی این دارو، در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشتر از دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم باشد که با نتایج مطالعه Lowitt در مورد اثرات استیل ال کارنیتین در نوروپاتی دیابتی که همین دوز از دارو را به کار برده است، هم خوانی دارد (۲۵)؛ هر چند این موضوع به بررسی های بیشتر نیاز دارد.

یکی از محدودیت های بررسی حاضر این بود که والپرتوئات به فرم داخل صفاقی و استیل ال کارنیتین به فرم خوراکی تجویز شد. در صورتی که اسیدوالپرتوئیک با دوز بالاتر مثلاً ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و به فرم خوراکی مشابه

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 neurodegenerative 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 pentylenetetrazol-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 Roghani¹, Zahra Kiasalari², Mohsen Khalili³, Farzane Pesaran⁴

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 acid at 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 χ^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.