

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ، خرداد -

اثر تزریق داخل بطنی سالوبرینال، یک مهار کننده جدید سنتز پروتئین، بر تشنجات ناشی از پنتیلن ترازوول در موش صحرایی نر

مهین ایزدی^۱، محمد ابراهیم رضوانی^۲، منصور اسماعیلی دهچ^۳

دریافت مقاله: ۹۲/۰۹/۲۴ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۲/۱۱/۱۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۳/۰۱/۲۶ پذیرش مقاله: ۹۳/۰۲/۰۱

چکیده

زمینه و هدف: سالوبرینال، که داروی مهارکننده سنتز پروتئین است، نقش مهمی در بهبود خواب و کاهش فعالیت عصبی، با افزایش فعالیت سیستم مهاری گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA-a) دارد. بر این اساس هدف این مطالعه بررسی اثر این عامل بر تشنجات ناشی از پنتیلن ترازوول می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی نخست برای ثبت الکتروانسفالوگرام بوسیله عمل جراحی استریوتاکسی، سه الکترود روی جمجمه موش‌های صحرایی نر نصب و سپس یک کانول جهت تزریق داخل بطنی در بطن راست کاشته شد. پس از بهبودی، هر حیوان، حلال دارو (دیازپام ۰/۲ میلی‌گرم) به ازاء هر حیوان دوز ۲۵ یا ۵۰ میکروگرم سالوبرینال داخل بطنی و پس از ۱۰ ساعت دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنتیلن ترازوول به شکل زیر پوستی دریافت کرد. برای مدت ۶۰ دقیقه کمیت‌های الکتروفیزیولوژیک و رفتاری تشنج ثبت و ارزیابی شد.

یافته‌ها: سالوبرینال در دوزهای ۲۵ و ۵۰ توانست زمان بروز حملات تونیک – کلونیک را به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل به تعویق بیاندازد ($p < 0.05$). علاوه بر این، مدت زمان امواج تشنجی مغز (Epileptic Discharge Duration) و مدت زمان امواج تشنجی با دامنه بالا در فاز حمله (Ictal Discharge Duration) را به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داد ($p < 0.05$). در حیواناتی که سالوبرینال دریافت کرده بودند، مراحل پایین‌تری از حملات تشنجی طبق معیار Racine مشاهده گردید ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد سالوبرینال می‌تواند در زمان کوتاهی پس از تزریق داخل مغزی موجب کاهش حملات صرعی شود و همچنین سنتز پروتئین در هنگام بروز حملات تشنجی امری ضروری است.

واژه‌های کلیدی: تشنج، سالوبرینال، مهار کننده سنتز پروتئین، موش صحرایی، پنتیلن ترازوول

۱- کارشناس ارشد گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد، ایران
۲- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد، ایران

تلفن: ۰۳۵۱-۸۲۰۳۴۱۰، دورنگار: ۰۳۵۱-۸۲۰۳۴۱۴، پست الکترونیکی: erezvani@yahoo.com

۳- دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد، ایران

مقدمه

گلوتاماتی موجب ایجاد تشنج می‌شود. همچنین، تزریق داخل بطنی سالوبرینال، خواب بدون حرکات سریع چشم (Non-Rapid Eye Movement NREM) را افزایش می‌دهد و هموستان خواب را تعدیل می‌کند و با فعال‌سازی عصب‌های محرک خواب و مهار کردن عصب‌های محرک بیداری، باعث القاء احساس خواب می‌شود. این ماده شدت Non-REM و شدت امواج دلتا را در الکتروانسفالوگرام (EEG) [Electroencephalography] می‌دهد [۵].

در گزارش دیگری مشخص شده است که سالوبرینال عصب‌های سازنده گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز [Glutamic acid decarboxylase (GAD)] را در بخش تاجی هسته پری‌اپتیک افزایش می‌دهد. به علاوه این ماده سطح فعالیت عصب‌های کولینرژیک و نیز تعداد عصب‌های کولینرژیک بیان‌کننده کولین استیل ترانسفراز [Choline acetyly transferase (ChAT)] را در بخش ماغنوس‌لولا ر مغز قدامی (Magnocellular basal forebrain) کاهش می‌دهد [۶]. از طرف دیگر، فعال شدن سیستم گاباارژیک و مهار سیستم کولینرژیک هر دو می‌توانند موجب مهار شنج شوند [۷-۸].

بر اساس این شواهد فرض مطالعه حاضر این است که، سالوبرینال می‌تواند با افزایش فعالیت سیستم گابا رژیک و مهار سیستم کولینرژیک حملات تشنجی را تضعیف یا مهار نماید. طبق این فرضیه، آزمایشی طراحی شد که در آن اثر تزریق داخل بطئی سالوبرینال را بر تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول (Pentylenetetrazol، PTZ) بررسی شود.

صرع یکی از شایع‌ترین اختلالات نورولوژیک با شیوع تقریباً $0.3\% / 0.5\%$ است [۱]. ایجاد صرع می‌تواند به صورت اکتسابی و یا ژنتیکی باشد، که در مورد اخیر یک استعداد زمینه‌ای ژنتیکی، وقایع شبه صرعی را آغاز می‌کند. وقایعی از قبیل صدمه مغزی ناشی از ضربه، سکته مغزی، عفونت سیستم عصبی مرکزی، نثوپلاسم، خونریزی داخل مغزی، تشنج‌های ناشی از تب و صرع پایدار موجب صرع اکتسابی می‌شوند. فاکتورهای تشنج، زمینه ارثی و خانوادگی، سن، جنس و بیماری‌های عصبی در پیشرفت صرع مؤثر می‌باشند [۲].

شد. بعد از جراحی به منظور جلوگیری از ورود مواد خارجی به درون کانول راهنما از سرسوزن ۳۰ به عنوان درپوش استفاده گردید.

جراحی: برای بیهوش کردن حیوان، از مخلوط کتامین و زایلازین (۱۰ میلی گرم در کیلوگرم، ۱۰۰ میلی گرم/کیلو گرم) به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده گردید. پس از بیهوش کردن، حیوان به گونه‌ای درون دستگاه استریوتاکسی قرار داده شد، که جمجمه حیوان کاملاً در وضعیت افقی قرار گیرد. پس از ایجاد برش در روی جمجمه، کانول راهنما در بطن جانبی راست مغز کار گذاشته شد که مختصات آن بر اساس اطلس پاکسینوز [۹]، به صورت $0^{\circ}/2^{\circ}$ میلی‌متر به جلو و $0^{\circ}/4^{\circ}$ میلی‌متر به سمت راست نسبت به برگما و $0^{\circ}/3^{\circ}$ میلی‌متر زیر سخت شame بود.

پس از تعیین دقیق نقاط فوق بر روی جمجمه با استفاده از متنه دندانپزشکی، جمجمه را در آن نقطه سوراخ کرده و سپس الکترود و کانول را در محل‌های مخصوص به خود قرار داده و توسط سیمان دندانپزشکی در محل خود محکم گردید. قبل از کارگذاری کانول، الکترودهای تک قطبی که به عنوان Record Differential و Earth می‌باشند از استفاده می‌شدند، توسط پیچ‌های متصل به آن‌ها به ترتیب روی استخوان‌های آهیانه راست، چپ و استخوان پیشانی جمجمه محکم شدند.

ایجاد تشنج: به منظور ثبت امواج EEG می‌باشد، الکترود ثبات و الکترودهای تک قطبی که روی جمجمه حیوان متصل شده بودند توسط یک سیم شیلد دار به آمپلی‌فایر (High gain coupler) در دستگاه PowerLab متصل گردید. خروجی آمپلی‌فایر بوسیله برد A/D به کامپیوتر متصل شده و ثبت توسط برنامه کامپیوتوی انجام

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی به روش زیر انجام شد:

مواد شیمیایی: انواع نمک‌ها برای ساخت مایع مغزی نخاعی از شرکت کیمیاگستر (تهران، ایران) تهیه شد. دیازپام از شرکت داروسازی ابوریحان (تهران، ایران) و سالوبرینال از شرکت مهسا دارو نمایندگی سانتاکروز (Santa cruz, USA) تهیه شد.

حیوانات: در این تحقیق تجربی از ۲۸ سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار در ۴ گروه ۷ تایی و در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوان‌ها در حیوان خانه با درجه حرارت ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط تاریکی / روشنایی ۱۲ ساعته بوده و با دسترسی آزاد به آب و غذا، نگهداری شدند. پس از جراحی به منظور جلوگیری از آسیب در محل جراحی، حیوانات در قفس‌های جداگانه نگهداری می‌شدند.

تهییه الکترود و کانول: برای ثبت فعالیت‌های عصبی مغز حیوانات تشنجی از الکترودهای تک قطبی استفاده شد. جهت تهییه الکترودهای تک قطبی که به عنوان الکترودهای Record و Earth می‌باشند از Differential سیم مسی پوشش دار استفاده گردید. برای این منظور، قطعه‌ای از سیم مسی به طول ۳ الی ۴ سانتی‌متر را قطع کرده و به یک انتهای آن پین سوکت مخابراتی و به انتهای دیگر یک پیچ عینک لحیم گردید. برای تزریق دارو به داخل بطن مغزی از سر سوزن ۳۰ به عنوان کانول تزریق و از سر سوزن ۲۷ به عنوان کانول راهنما استفاده شد. به منظور قرار گرفتن کانول تزریق در محل مورد نظر، کانول راهنما هنگام جراحی، در فاصله یک میلی‌متر بالاتر از بطن جانبی مغز قرار گرفته و توسط سیمان دندانپزشکی ثابت

- ۲- مدت زمان تخلیه‌های الکتریکی تشنجی مغز [Epileptic Discharge Duration, (EDD)]: مدت زمانی که مغز امواج تشنجی نشان می‌دهد.
- ۳- مدت زمان حمله تشنج در فاز حملات تونیک - کلونیک [Ictal Discharge Duration, (IDD)]: برای اندازه‌گیری این کمیت که بیانگر مدت زمانی است که حیوان در مرحله تشنج به سر می‌برد، زمان، بین لحظه تحريك تا لحظه‌ای که حیوان از حالت تشنج خارج می‌شود اندازه‌گیری گردید.
- ۴- مراحل مختلف تشنج: مراحل مختلف تشنج بر اساس معیار اصلاح شده Racine [۱۰]، به شرح زیر درجه‌بندی می‌شوند:

مرحله ۰: بدون پاسخ، مرحله ۱: تکان‌های (انقباضات) ناگهانی گوش و صورت، مرحله ۲: تکان‌های میوکلونیک بدون بلند شدن روی پاهای (Rearing)، مرحله ۳: کلونوس یک طرفه اندام‌های جلویی، مرحله ۴: بلند شدن روی دو پا (Rearing) و کلونوس دست‌ها و گاهی خم شدن حیوان به یک طرف، مرحله ۵: از دستدادن تعادل حیوان و بروز حملات عمومی در همه اندام‌ها (حملات تونیک-کلونیک) روش تزریق زیر پوستی و داخل مغزی دارو: برای انجام این تزریق دوز مشخصی از دارو را توسط سرنگ انسولین کشیده و با بالا گرفتن پوست پشت گردن حیوان، مثلثی در جلوی ناحیه گرفته شده به وجود می‌آید، آنگاه دارو در بخش تحتانی مثلث تزریق می‌شود. برای تزریق دارو به داخل بطن مغزی، از لوله پلی‌اتیلنی (PE-20) ساخت شرکت Stoelting که یک سر آن به سرسوزن ۳۰ متصل شده بود، استفاده گردید. قبل از تزریق دارو، لوله مزبور و سرسوزن که ابتدا با آب مقطر استریل و سپس با داروی استریل شستشو داده شده بود از دارو پر شده، بعد سر آزاد

شد. پس از پایان هر ثبت، کمیت‌های الکتروفیزیولوژیک به وسیله نرمافزار EEG/EPG اندازه‌گیری گردید.

پس از دوره بهبودی، هر حیوان جهت انجام مطالعات به شکل جداگانه نگهداری می‌شد. هر حیوان در شروع آزمایش قبل از این که PTZ دریافت نماید، بوسیله رابط سوکت‌دار به PowerLab متصل می‌شد و برای ۲ دقیقه ثبت انسفالوگرام انجام گرفت. این ثبت پایه به دو منظور انجام شد: اول این که از نداشتن اغتشاش الکتریکی و یا سیگنال‌های ناخواسته اطمینان حاصل شود و دیگر این که ثبت پایه به عنوان معیاری برای تغییر آمپلی تود انسفالوگرام در شرایط تزریق دارو و PTZ در نظر گرفته شود.

پس از این مرحله به هر موش نخست، مایع مغزی نخاعی صناعی [artificial cerebrospinal fluid (aCSF) که محتوی DMSO به میزان ۱٪/۰ بود و یا سالوبرینال تزریق شد و دوباره برای مدت ۵ دقیقه ثبت گرفته شد. این ثبت به منظور دادن فرصت برای اعمال اثر دارو و نیز بررسی اثر دارو بر EEG داده شد. در مرحله بعد، داروی تشنج‌زای PTZ به شکل زیر پوستی (Subcutaneous) تزریق و برای ثبت انسفالوگرام و کمیت‌های تشنجی به مدت ۶۰ دقیقه ثبت انجام شد و رفتار حیوان مورد ارزیابی قرار گرفت. کمیت‌های رفتاری مشاهده شده و نیز الکتروفیزیولوژیک به شرح ذیل اندازه‌گیری شد:

- مدت زمان تأخیری بین تحریک الکتریکی تا شروع حملات تونیک - کلونیک Generalized Tonic-Clonic Seizures (GTCS): برای اندازه‌گیری این کمیت، فاصله زمانی بین شروع تحریک الکتریکی تا شروع حملات تونیک - کلونیک محاسبه می‌گردید.

محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. بعد از یک هفته از محل کانول، برش‌گیری به عمل آمده تا محل الکترود و کانول مشخص شود. در همه آزمایش‌ها، فقط داده‌های مربوط به موش‌هایی که جایگاه الکترود و کانول طبق مطالعه بافت‌شناسی درست بود، مورد ارزیابی نهایی قرار می‌گرفت.

روش تجزیه و تحلیل آماری: برای مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف سالوبرینال و دیازپام با aCSF در زمان‌های پس از تزریق دارو بر کمیت‌های تشنج، از آزمون ANOVA یک طرفه و پس آزمون TUKEY استفاده شد. برای یافتن اختلاف معنی دار در درصد بروز تشنج و مرگ‌ومیر در هر دو گروه از پس آزمون multiple comparison استفاده گردید. نتایج مربوط به مراحل تشنجی بوسیله آزمون آنالیز واریانس از نوع ناپارامتری Kruskal-Wallis مقایسه و آزمون آماری Duncan برای Mean \pm SEM و Median \pm interquartile است.

نتایج

الف- اثر دوزهای مختلف سالوبرینال بر تأخیر در زمان شروع حملات تونیک-کلونیک (GTCS): نتایج به دست آمده از این گروه نشان می‌دهد که حیوانات گروه کنترل که دوز ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم PTZ دریافت نموده‌اند، مدت زمان تأخیر GTCS بسیار کمتر را نسبت به گروه‌های دیگر نشان می‌دهند. داده‌هایی که در نمودار نشان داده شده است، عکس زمان GTCS یا ۱/GTCS می‌باشند و افزایش آن نشان‌دهنده کوتاه بودن این تأخیر نسبت به سایر گروه‌ها می‌باشد. اثرات

لوله پلی‌اتیلنی به سرنگ همیلتون متصل گردید. در نهایت با استفاده از سرنگ همیلتون و با سرعت تزریق ۲ میکرولیتر در ۵ دقیقه داروها یا حلال در حجم ۲ میکرولیتر تزریق شد.

گروه‌های مورد مطالعه

در این آزمایش از ۴ گروه موش صحرایی نر به شرح زیر استفاده شد:

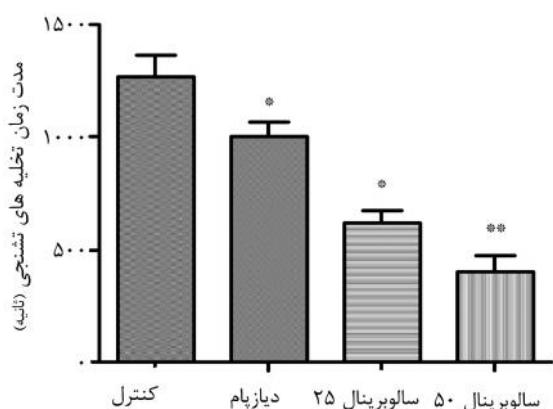
الف- گروه کنترل: از حیوانات این گروه پس از کاشتن الکترود و کانول و طی کردن دوره ببهبودی در روز آزمایش، ابتدا ثبت پایه گرفته شد و سپس به هر حیوان ۲ میکرولیتر aCSF به داخل بطن جانبی راست تزریق شد.

ب- گروه کنترل مثبت: موش‌ها در این گروه همان روند موش‌های گروه "الف" را طی می‌کنند، با این تفاوت که در این گروه به جای aCSF، دوز ۲۰ میلی‌گرم دیازپام به ازای هر حیوان دریافت می‌کنند.

ج- گروه سالوبرینال ۲۵: حیوانات این گروه نیز با گذراندن روشه مشابه گروه کنترل با این تفاوت که به جای aCSF سالوبرینال در دوز ۲۵ میکرولیتر به ازای هر حیوان با مشخصات تزریق فوق (سرعت ۲ میکرولیتر در ۵ دقیقه و حجم تزریق نهایی ۲ میکرولیتر) تیمار شدند.

د- گروه سالوبرینال ۵۰: حیوانات این گروه نیز با گذراندن روشه مشابه گروه کنترل با این تفاوت که به جای aCSF سالوبرینال در دوز ۵۰ میکرولیتر به ازای هر حیوان با مشخصات تزریق فوق (سرعت ۲ میکرولیتر در ۵ دقیقه و حجم تزریق نهایی ۲ میکرولیتر) تیمار شدند.

تأیید بافت‌شناسی: پس از پایان هر آزمایش جهت اطمینان از قرار داشتن الکترود و کانول در جایگاه صحیح، به محل کانول رنگ متیلن بلو (۰/۲۵ میکرولیتر در دقیقه، ۰/۵ میکرولیتر) تزریق شد. سپس مغز حیوانات خارج و در

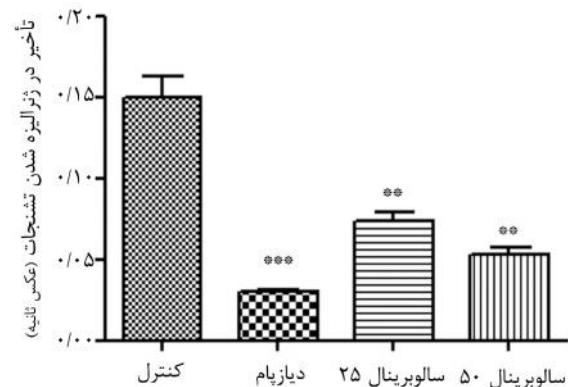


نمودار ۲- اثر تزریق دوزهای مختلف سالوبرینال بر مدت زمان تخلیه‌های تشنجی مغز به دنبال تزریق PTZ سالوبرینال در هر دو دوز، کاهش معنی‌داری را در مدت زمان تخلیه‌های تشنجی مغز ایجاد کرده است. آزمون آماری ANOVA و پس آزمون Dunnett's مورد استفاده قرار گرفته است. * و ** به ترتیب اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$ و $p < 0.01$) با گروه کنترل را نشان می‌دهد. ***: نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه سالوبرینال ۵۰ و دیازپام می‌باشد. تمامی داده‌ها بر اساس $Mean \pm SEM$ گزارش شده‌اند.

ج- اثر دوزهای مختلف سالوبرینال بر مدت زمان امواج تشنجی در فاز حملات تونیک - کلونیک (IDT):

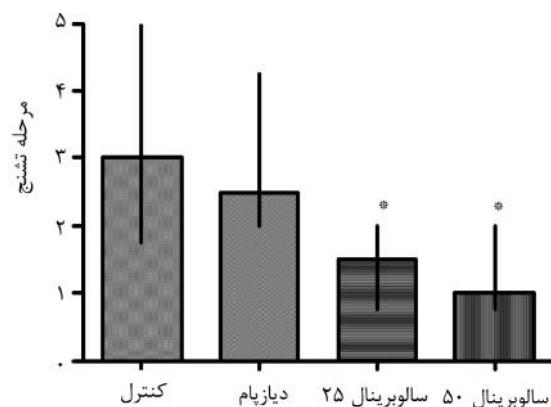
همان طوری که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود، سالوبرینال علاوه بر کاهش مدت زمان تخلیه‌های متعاقب که در قبل توضیح داده شد، توانسته است در هر دو غلظت استفاده شده تقریباً به یک اندازه بر مدت زمان حملات تشنجی در فاز حمله اثر کرده و آن‌ها را نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش دهد. این نشان می‌دهد که سالوبرینال می‌تواند سطح تحریک‌پذیری عصب‌های مغزی را به شدت کاهش داده و مانع تخلیه‌های تشنجی آن‌ها شود. دیازپام هم در این آزمایش اثرات معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داده است. تفاوتی بین گروه‌های سالوبرینال و دیازپام دیده نشد.

سالوبرینال و دیازپام بر تأخیر GTCS از لحظه آماری معنی‌دار است ($p < 0.01$). (شکل ۱).



نمودار ۱- اثر تزریق داخل بطنی دوزهای مختلف سالوبرینال و دیازپام، تأخیر در شروع حملات ناشی از تزریق زیر پوستی PTZ سالوبرینال در هر دو دوز و دیازپام در دوز 0.2 میلی‌گرم در مدت زمان توانسته است GTCS را به تأخیر بیاندازد. آزمون آماری مورد استفاده ANOVA و پس آزمون Dunnet به تأخیر بیاندازد. DZP: دیازپام معنی‌دار با گروه کنترل با $p < 0.05$. Con p < 0.01: سالوبرینال دوز 25 و 50 میلی‌گرم، Salub 25, 50: 0.2 میلی‌گرم، $generalized tonic - clonic seizure latency : GTCS$

ب- اثر تزریق داخل بطنی دوزهای مختلف سالوبرینال بر مدت زمان تخلیه‌های الکترویکی تشنجی مغز (EDD): همان طوری که در نمودار ۲ نشان داده شده است سالوبرینال در دوزهای 25 و 50 میلی‌گرم در کیلوگرم، مانند دیازپام توانسته است مدت زمان تخلیه‌های الکترویکی تشنجی مغز را کاهش دهد. اثر سالوبرینال در کاهش EDD، وابسته به دوز است، به طوری که سالوبرینال با دوز 50 با $p < 0.01$ و با دوز 25 با $p < 0.05$ مدت زمان تخلیه‌های تشنجی را کاهش داده است. مدت زمان تخلیه‌های تشنجی در گروه کنترل 1245 ± 45 ثانیه و در گروه سالوبرینال 50 ، به 400 ± 55 ثانیه می‌رسد. اثر سالوبرینال بر روی EDD نسبت به سالوبرینال در هر دو دوز به طور معنی‌داری کمتر بود.

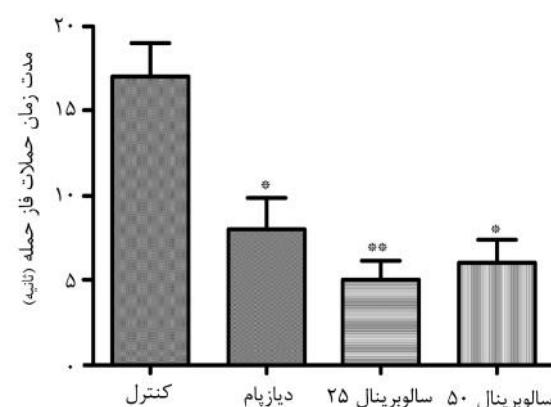


نمودار ۴- اثر تزریق دوزهای مختلف سالوبرینتال (۲۵ و ۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم) بر بروز مراحل مختلف تشنجی در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده PTZ بر خلاف دیازپام، سالوبرینتال در هر دو دوز توانسته است مراحل مختلف تشنجی را که حیوانات پس از دریافت PTZ نشان می‌دهند را به تعویق بیاندازد. آزمون آماری برای پی بودن به اختلاف بین گروه‌ها *Dunken Kruskal-Wallis ANOVA* و پس آزمون تکمیلی *TUKEY* می‌باشد. همه داده‌ها بر اساس *Median ± interquartile* نشان داده شده‌اند. *: نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین هر گروه با کنترل می‌باشد.

۵- اثر دوزهای مختلف سالوبرینتال بر درصد حیواناتی که حملات تونیک-کلونیک نشان دادند و همچنین، میزان مرگ و میر در حیوانات. درصد حیواناتی که به واسطه PTZ دچار حملات کامل تشنجی شده‌اند در گروه سالوبرینتال کمتر از گروه‌های دیگر بود. به همین شکل حیوانات تحت درمان با سالوبرینتال، متعاقب دریافت PTZ هیچ‌گونه مرگ و میری نداشتند و مرگ و میر در گروه سالوبرینتال از گروه کنترل کمتر بود ($p < 0.01$) (جدول ۱).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که سالوبرینتال به عنوان یک مهارکننده سنتز پروتئین، وقni به داخل بطن مغزی تزریق می‌شود می‌تواند اثرات ضد تشنجی در مدل حاد با



نمودار ۳- اثر تزریق دوزهای مختلف سالوبرینتال (۲۵ و ۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم) بر مدت زمان حملات تشنجی در فاز حمله (IDD). همان‌طوری که در شکل مشخص است، سالوبرینتال در هر دوز ۲۵ و ۵۰ به ترتیب با $p < 0.05$ و $p < 0.01$ توانسته است مدت زمان این حملات را کاهش دهد. این آثار مانند اثر دیازپام می‌باشد. آزمون آماری *ANOVA* و پس آزمون تکمیلی *TUKEY* برای اختلاف بین هر دو گروه استفاده شده است. * و ** به ترتیب اختلاف معنی‌دار $p < 0.05$ و $p < 0.01$ نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند. تمامی داده‌ها بر اساس *Mean ± SEM* می‌گزارش شده‌اند.

د- اثر دوزهای مختلف سالوبرینتال بر مراحل مختلف تشنج (Racine) مقیاس (McGill's Racine)

نتایج مقایسه بین گروه‌ها نشان داد که مراحل مختلف تشنج در گروه‌های دریافت کننده سالوبرینتال در دوزهای ۲۵ و ۵۰ به طور معنی‌داری کمتر از گروه دریافت‌کننده حلal است. همان‌طوری که در نمودار ۴ نشان داده شده است، حیوانات گروه کنترل که حلal سالوبرینتال دریافت کرده‌اند به طور میانگین مراحل ۳ و ۴ تشنجی را پس از تزریق PTZ نشان داده‌اند. مفهوم این مراحل، توسعه بیشتر تشنج و تکوین مراحل تشنج عمومی است (نمودار ۴).

شوند. به هر حال در حین یادگیری و همانند آن در حین کیندلینگ و تشنج به سنتز پروتئین‌های جدید نیاز است [۱۶-۱۸]. در همین راستا مطالعه‌ای مشابه با مطالعه حاضر توسط Maciejak و همکارانش در سال ۲۰۱۰ انجام شد. در این مطالعه تزریق داخل مغزی سیکلوهگرامید به عنوان مهارکننده سنتز پروتئین توانست تشنجات ناشی از PTZ را مهار کند [۱۹].

در مطالعات قبلی همچنین اثرات ضد تشنجی سایر مهارکننده‌های سنتز پروتئین مطالعه شده است [۲۰-۲۱]. در این مطالعات از مدل‌های تشنجی متفاوت نسبت به مطالعه حاضر استفاده شده است ولی نتایج یکسانی به دست آمده است. تفاوت این مطالعه با مطالعات قبلی در این است که، سالوپرینال یک مهارکننده جدید سنتز پروتئین است که می‌تواند اثرات خود را حتی در زمان کوتاهی قبل از تجویز PTZ بر جای بگذارد، در حالی که در مطالعه قبل اثرات داروهای مهارکننده سنتز پروتئین حداقل ۴ ساعت قبل از تجویز PTZ آشکار می‌شند [۲۲]. مکانیسم‌های دخیل در اثرات مهاری مهارکننده‌های سنتز پروتئین مانند سیکلوهگرامید بر تشنج هنوز به خوبی مطالعه نشده است.

در این مدل و مطالعه حاضر از PTZ برای تشنج استفاده شده و آنتاگونیست خیلی قوی و غیر رقابتی گیرنده‌های GABA است [۲۳] و این ماده سریعاً در دسترس همه دستگاه‌های بدن قرار می‌گیرد و زمان کوتاهی طول می‌کشد تا حداکثر اثرات خود را نشان دهد. مطالعات پیشین نشان داده است که PTZ سبب افزایش

پنتیلن تترازول (PTZ) داشته باشد. همان‌طور که در نتایج نیز گزارش شده است، سالوپرینال می‌تواند بروز حملات تونیک-کلونیک ناشی از PTZ را در حیوانات آزمایشگاهی کاهش دهد. علاوه بر این، مدت زمان حملات تشنجی و به عبارت دیگر مدت زمان تخلیه‌های الکتریکی تشنجی مغز را در حین حمله تشنجی کاهش می‌دهد. بر اساس نتایج این مطالعه، سالوپرینال توانسته است حملات تشنجی ناشی از تزریق تک دوز PTZ را کاهش دهد و مانع حملات فاز حاد تشنج شود.

سابقه مصرف مهارکننده‌های سنتز پروتئین در کنترل صرع به سال ۱۹۷۹ و مطالعه Jonec و همکارانش و Anisomycin و Cycloheximide در دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موش صحرایی و به صورت داخل صفاقی استفاده کردند، هر دوی این داروها، مهار کننده سنتز پروتئین هستند و می‌توانند موجب مهار پیشرفت تشنج در مدل الکتریکی کیندلینگ شوند. مکانیسم این دو عامل در تعویق حملات تشنجی، مهار سنتز پروتئین‌های سیناپسی ذکر شده است که در القاء و پیشرفت تشنج دخیل هستند [۱۳]. به هر شکل نتایج پژوهش حاضر با مطالعه Jonec و همکارانش همسو بوده و هر دو اثرات ضد تشنجی را نشان داده‌اند.

مطالعات زیادی، نیاز به سنتز پروتئین در حین ایجاد تشنج را، ثابت کرده است. سازوکارهای یادگیری و حافظه، مانند تقویت دراز مدت فعالیت سیناپسی (Long-term potentiation, LTP) با مکانیسم‌های شکل‌گیری تشنج و کیندلینگ مشابه هستند [۱۴-۱۵]. هر دو این پدیده‌ها می‌توانند بوسیله تحریک الکتریکی با فرکانس بالا ایجاد

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد برای تأمین بودجه این تحقیق و همچنین، از آقای علی محمد موحدی برای کمکهای فنی که انجام داده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

آزادسازی نوروترانسمیترهای تحریکی مانند اسیدهای آمینه گلوتamat و آسپارتات نیز می‌شود [۲۴].

نتیجه‌گیری

به طور کلی، این شواهد نشان می‌دهند که تزریق داخل بطنی سالوبرینال به عنوان داروی مهارکننده سنتز پروتئین در مدل آزمایشگاهی تشنج می‌تواند حملات تشنجی را مهار نماید.

References

- [1] Scharfman HE. The neurobiology of epilepsy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2007; 7(4): 348-54.
- [2] Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *Neuroscientist* 2010; 16(3): 253-75.
- [3] Long K, Boyce M, Lin H, Yuan J, Ma D. Structure-activity relationship studies of salubrinal lead to its active biotinylated derivative. *Bioorg Med Chem Lett* 2005; 15(17): 3849-52.
- [4] Kessel, D. Protection of Bcl-2 by salubrinal. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 346: 1320-3.
- [5] Methippara MM, Bashir T, Kumar S, Alam N, Szymusiak R, McGinty D. Salubrinal, an inhibitor of protein synthesis, promotes deep slow wave sleep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 296: 178-84.
- [6] Methippara M, Mitrani B, Schrader Fx, Szymusiak R, McGinty D. salubrinal, an endoplasmic reticulum stress blocker, modulates sleep homeostasis and activation of sleep- and wake-regulatory neurons. *Neuroscience* 2012; 209: 108-18.
- [7] Methippara MM, Alam MN, Kumar S, Bashir T, Szymusiak R, McGinty D. Administration of the protein synthesis inhibitor, anisomycin, has distinct sleep-promoting effects in lateral preoptic and perifornical hypothalamic sites in rats. *Neuroscience* 2008; 151: 1-11.

- [8] Gong H, McGinty D, Guzman-Marin R, Chew KT, Stewart D, Szymusiak R. Activation of c-fos in GABAergic neurones in the preoptic area during sleep and in response to sleep deprivation. *J Physiol* 2004; 556: 935-46.
- [9] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego, CA: Academic 1998.
- [10] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 32: 281-94.
- [11] Jonec V, Claude G. Wasterlain. Effect of inhibitors of protein synthesis on the development of kindled seizures in rats. *Exp Neurol* 1979; 66(3): 524-32.
- [12] Cain DP, Michael EC, William AS. Effects of protein synthesis inhibition on kindling in the mouse. *Exp Neurol* 1980; 68: 409-19.
- [13] Wasterlain CG. Inhibition of cerebral protein synthesis by epileptic seizures without motor manifestations. *Neurology* 1974; 24: 175-5.
- [14] Baudry M. Long-term potentiation and kindling: similar biochemical mechanisms? *Adv Neurol* 1986; 44: 401.
- [15] Pastalkova E, Peter S, Deana P, Emma W, André Antonio F, Todd CS. Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science* 2006; 313: 1141-4.
- [16] Duvarci S, Karim N, and Joseph EL. De novo mRNA synthesis is required for both consolidation and reconsolidation of fear memories in the amygdala. *Learning Memory* 2008; 15: 10747-55.
- [17] Blundell J, Kouser M, Powell CM. Systemic inhibition of mammalian target of rapamycin inhibits fear memory reconsolidation. *Neurobiol Learn Mem* 2008; 90: 28-35.
- [18] Sutula T, Cascino G, Cavazos J, Parada I, Ramirez L. Mossy fiber synaptic reorganization in the epileptic human temporal lobe. *Am Neurol* 1989; 26: 321-30.
- [19] Maciejak P, Szyndler J, Lehner M, Turzyska D, Sobolewska A, Bidzinski A, et al. The differential effects of protein synthesis inhibition on the expression and reconsolidation of pentylenetetrazol kindled seizures. *Epilepsy Behav* 2010; 18: 193-200.
- [20] Oretti R, Samina B, Christopher JM, Badawy A, Adrian B, Buckland P, McGuffin P. Prevention by cycloheximide of the audiogenic seizures and tryptophan metabolic disturbances of ethanol withdrawal in rats. *Alcohol Alcoholism* 1996; 31: 243-7.
- [21] Karasik GI. Effect of puromycin and cycloheximide on the course of audiogenic epileptic seizures in rats. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 1976; 26(3): 633-8.
- [22] Ogata N. Effects of cycloheximide on experimental epilepsy induced by daily amygdaloid stimulation in rabbits. *Epilepsia* 2007; 18(1): 101-8.

- [23] Onozuka M, Kin-Ya K, Ozono S. The molecular mechanism underlying pentylenetetrazol-induced bursting activity in Euhadra neurons: involvement of protein phosphorylation. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 1991; 100: 423-32.
- [24] Li ZP, Zhang XY, Lu X, Zhong MK, Ji YH. Dynamic release of amino acid transmitters induced by valproate in PTZ-kindled epileptic rat hippocampus. *Em InNeurochir* 2004; 44: 263-70.

Effects of Intracerebroventricular Administration of Salubrinal-A Protein Synthesis Inhibitor-on Epileptic Seizures Induced by Pentylenetetrazol in Male Rats

M. Izadi¹, M.E. Rezvani², M. Esmailidehaj³

Received: 15/12/2013 Sent for Revision: 01/02/2014 Received Revised Manuscript: 15/04/2014 Accepted: 21/04/2014

Background and Objective: Salubrinal- a protein synthesis inhibitor- plays a crucial role in sleep and neuronal inhibition through the GABA activation. According to these evidences, the aim of the present study was to determine the effect of salubrinal on epileptic seizures induced by pentylenetetrazol (PTZ).

Materials and Methods: In this experimental study under stereotaxical surgery, three monopolar electrodes were fixed on the skull bone of animals and a cannula was implanted in the right cerebral ventricle according to Paxinos coordinates. After 7 days of recovery, each animal received intracerebroventricular (ICV) vehicle, diazepam (0.2 mg/rat) or salubrinal (25 or 50 µg/rat) 10 minutes before Pentylenetetrazol injection (subcutaneous, 60mg/kg). Electrophysiological and behavioral parameters of induced seizures were recorded during 60 minutes.

Results : Salubrinal (25 and 50 µg/rat) significantly retarded the onset of generalized tonic-clonic seizures when compared to vehicle treatment ($p<0.05$). Epileptic discharge duration and ictal discharge duration were significantly shortened in salubrinal treated rats ($p<0.05$). Additionally, the rats treated with salubrinal (25 and 50 µg/rat) had lower seizure stage scores, as compared to vehicle treated rats ($p<0.05$).

Conclusion : The findings of this study revealed that shortly after ICV. administration of salubrinal, epileptic seizures can be significantly decreased. Also, the findings suggest that protein synthesis is an essential process during development of epileptic seizures.

Key words : Seizure, Salubrinal, Protein synthesis inhibitor, Rat, Pentylenetetrazol

Funding: This research was funded by Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Research Committee of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences approved the study.

How to cite this article: Izadi M, Rezvani ME, Esmailidehaj M. Effects of Intracerebroventricular Administration of Salubrinal-A Protein Synthesis Inhibitor-on Epileptic Seizures Induced by Pentylenetetrazol in Male Rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(3): 281-92. [Farsi]

1- MSc of Dept. of Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- Associate Prof., Dept. of Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0351) 8203410, Fax: (0351) 8203414, Email: erезvани@yahoo.com

3- Associate Prof., Dept. of Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran