

# اثر اتانول بر کارآیی داروی والپرویک اسید در موش سوری

محمد محمدزاده<sup>۱</sup>، اکبر پژهان<sup>۱</sup>، سید جواد میرنجفی زاده<sup>۲</sup>، آرش اکبری<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> استادیار گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار

<sup>۲</sup> استاد گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۳</sup> مربی گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی

نشانی نویسنده مسؤول: سبزوار، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دکتر محمد محمدزاده

E-mail: mohamad1353@gmail.com

وصول: ۹۰/۴/۶، اصلاح: ۹۰/۶/۲۰، پذیرش: ۹۰/۸/۲

## چکیده

**زمینه و هدف:** اتانول به عنوان ضد تشنج و پیش برنده تشنج و در پاره‌ای موارد بی‌اثر بر تشنج معرفی شده است. در رابطه با مداخله اتانول بر نقش ضد تشنجی والپرویک اسید گزارشی وجود ندارد. در پژوهش حاضر، نقش اتانول بر کارآیی داروی ضد تشنجی والپرویک اسید مورد بررسی قرار گرفته است.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی، هشت گروه موش سوری در محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم، روز در میان (سه بار در هفته) پنتیلین تترازول (pentylenetetrazol; PTZ) به صورت داخل صفاقی (۳۷ mg/kg) دریافت می‌کردند. گروه‌های دریافت‌کننده اتانول (۱ g/kg) و PTZ (۰/۵)، ۳۰ دقیقه بعد از اتانول (داخل صفاقی، یک گروه ۷ روز و گروه دیگر ۲۱ روز متوالی) تزریق می‌شد. گروه دریافت‌کننده والپرویک اسید (Valproic acid; VPA) و اتانول، والپرویک اسید (۱۰۰ mg/kg) ۵ دقیقه قبل از اتانول (۱ g/kg) تزریق شد. بلافاصله پس از هر بار تزریق PTZ، رفتار هر حیوان به مدت ۲۰ دقیقه زیر نظر گرفته می‌شد و مراحل رفتاری ثبت می‌شد. مدت زمان مرحله ۴ تشنج (S<sub>4</sub>D)، مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S<sub>4</sub>L) و مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۱ تشنج (S<sub>1</sub>L) برای هر حیوان پس از تزریق PTZ ثبت و داده‌ها با گروه کنترل مربوطه مقایسه شدند. سطح معناداری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Statistica V. 5.5 انجام گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج تحقیق نشان داد که S<sub>4</sub>D تجمعی در گروه اتانول با غلظت ۱ g/kg به مدت ۷ روز (۳۱/۸٪) و به مدت ۲۱ روز (۴۸/۳٪) نسبت به PTZ+Saline کاهش معناداری داشت ( $P < 0/001$ ). پارامترهای S<sub>4</sub>L (۱۱۲/۶ درصد PTZ+Saline) و S<sub>1</sub>L تجمعی افزایش معناداری (۱۱۶/۸ درصد PTZ+Saline) پیدا کرد ( $P < 0/001$ ). تزریق VPA (۱۰۰ mg/kg) باعث کاهش معنادار S<sub>4</sub>D تجمعی (۳۹ درصد PTZ+Saline) ( $P < 0/001$ )، افزایش معنادار (۲۱۶/۸ درصد PTZ+Saline) S<sub>4</sub>L تجمعی ( $P < 0/001$ ) و افزایش معنادار (۱۴۹ درصد PTZ+Saline) S<sub>1</sub>L تجمعی شد ( $P < 0/001$ ). تزریق توأم داخل صفاقی اتانول و VPA در مقایسه با دو گروه VPA (۵۶/۱٪) و اتانول (۷ روزه) (۴۶/۱٪) کاهش معناداری در S<sub>4</sub>D تجمعی ( $P < 0/001$ )، افزایش معناداری در S<sub>4</sub>L تجمعی ( $P < 0/001$ ) ایجاد کرد (نسبت به گروه VPA ۲۳۳/۹ درصد و گروه اتانول ۴۵۰ درصد) اما تغییر معناداری در S<sub>1</sub>L تجمعی ایجاد نکرد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد که نه تنها اتانول (۱ g/kg) به عنوان ضد تشنج عمل می‌کند بلکه تزریق توأم آن (۷ تزریق متوالی روزانه) با VPA، اثرات ضد تشنجی والپرویک اسید را تقویت می‌کند. (مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۸/شماره ۴/صص ۲۴۲-۲۳۵).

**واژه‌های کلیدی:** اتانول؛ تشنج؛ کیندلینگ؛ پنتیلین تترازول؛ والپرویک اسید.

## مقدمه

صرع (epilepsy) یک اختلال نورولوژیک و شایع است که مشخصه آن تشنج‌های غیرقابل پیش‌بینی و دوره-ای است. با وجود تحقیقات گسترده هنوز روش قطعی درمان صرع شناخته نشده است. داروهای ضد صرع موجود فقط در ۴۰ درصد موارد، تشنج را از بین برده و در بقیه موارد، فقط فراوانی وقوع تشنج‌ها را کم می‌کنند (۱,۲). استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی برای ایجاد صرع در شناخت هر چه بهتر مکانیسم‌ها و عوامل دخیل در صرع، ارزیابی داروهای ضد صرع و دستیابی به روش‌های درمانی مؤثر در این بیماری بسیار مفید می‌باشد. مدل، کیندلینگ یکی از مدل‌های رایج برای ایجاد صرع لوب گیجگاهی می‌باشد. تشنج‌های حاصل از این مدل مشابه تشنج‌های موضعی پیچیده می‌باشد که به‌صورت ثانویه عمومی می‌شوند. یکی از دو نوع کیندلینگ، کیندلینگ شیمیایی (به‌واسطه داروهای شیمیایی همانند پنتیلن ترازول (PTZ) است (۳,۴).

همانند بسیاری از بیماری‌ها توجه به ریسک فاکتورهای این اختلال عصبی مهم می‌باشد. یکی از ریسک فاکتورهای این بیماری الکلی می‌باشد (۵, ۶). شیوع مصرف الکلی بویژه در جوامع غربی نسبتاً بالا است. حتی در جامعه ما علی‌رغم توصیه‌های دینی، مصرف این ماده کم و بیش وجود دارد. گزارش‌های ارائه شده در برخی شهرها و مناطق در این زمینه قابل تأمل است. به-عنوان مثال، در مطالعه‌ای که در مناطق ۲۲ گانه تهران در سال ۱۳۸۱ به‌صورت خوشه‌ای بر روی پسران ۱۵ تا ۱۸ ساله صورت گرفت، نشان داد که ۱۶/۸ درصد آنان از مشروبات الکلی استفاده می‌کنند (۷). در مطالعه دیگری در دانشگاه تبریز، مشاهده شد که ۱۰/۱ درصد از دانشجویان الکلی مصرف می‌کنند (۸).

در رابطه با اثر مصرف الکلی بر تشنجات صرعی گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد (۹-۱۱, ۶, ۵) به عنوان مثال، اسکورزا گزارش داده است که خوراندن الکلی

در موش‌ها باعث افزایش وقوع تشنج می‌شود (۹). در همین راستا گزارش‌های دیگری نیز وجود دارد که نشان می‌دهد مصرف مزمن الکلی با دوز زیاد موجب افزایش شدت و فرکانس تشنج می‌شود (۱۰, ۱۲). اما در سایر مطالعات نشان داده شده است که اتانول اثر ضد تشنجی دارد (۵, ۱۳). در اکثر موارد این اثر ضد تشنجی در دوره-های کوتاه مدت مصرف الکلی بروز می‌کند. گزارش‌هایی نیز حاکی از بی‌اثری الکلی بر تشنجات صرعی منتشر شده است. در بیماران مصروع غیر الکلی، مصرف الکلی در حد کم تا متوسط اثری بر تشنج ندارد (۱۴). همچنین نشان داده شده است که مصرف ۱۵ روزه الکلی (دوز ۲ و ۳ گرم به ازای هر کیلوگرم) بر مدل‌های تشنجی Maximal electroshock و PTZ بی‌اثر بوده است (۶, ۱۱).

یکی از داروهای ضد تشنجی پُر مصرف والپرات سدیم است (۱۵). با توجه به اثرات ضد و نقیض الکلی بر تشنج و نبود درمان قطعی برای بیماران صرعی و این‌که الکلی به‌عنوان یک ریسک فاکتور شناخته شده است (۶)، همچنین با توجه به این‌که در رابطه با اثر اتانول بر کارایی داروهای ضد تشنجی گزارش‌های زیادی وجود ندارد (۱۶)، مطالعه اثر الکلی بر شدت تشنجات در مدل آزمایشگاهی کیندلینگ شیمیایی و کارایی داروی ضد تشنجی (والپرات سدیم) می‌تواند مورد علاقه و توجه مراکز درمانی باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی موش‌های سوری در محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم پس از طی یک دوره ۱۰ روزه دست‌آموز کردن به هشت گروه (هر گروه هشت سر) به-صورت تصادفی تقسیم شدند. در گروه اول به‌منظور صرعی کردن حیوانات، تزریق روز در میان (هر ۴۸ ساعت) داخل صفاقی پنتیلن ترازول (PTZ) (۳۷ mg/kg) انجام شد (۱۰, ۱۷). بلافاصله پس از هر بار تزریق، رفتار حیوان به مدت ۲۰ دقیقه تحت نظر گرفته می‌شد و مدت

در گروه هفتم والپرات سدیم (Danisco, Denmark) با غلظت 100 mg/kg قبل از هر بار تزریق PTZ به صورت داخل صفاقی به گروهی از حیوانات دریافت کننده الکل تزریق می شد (۱۸). نتایج داده های گروه های دوم تا پنجم نشان داد که مصرف الکل با دوز 1 g/kg (گروه ۲) بیشترین اثر مهارى را داشته و از این رو، اتانول به مدت ۷ روز هر بار ۵ دقیقه بعد از والپرویک اسید تزریق می شد. والپرات سدیم در نرمال سالین ۰/۹ درصد حل می شد (۱۵). مقایسه درون گروهی (Repeated Measure ANOVA) در مورد S<sub>4</sub>D, S<sub>1</sub>L, S<sub>4</sub>L و میانگین مرحله حمله بین گروه های دوم تا پنجم انجام گردید. برای ارزیابی اثر الکل بر کارایی والپرات سدیم داده های حاصل از گروه هفتم و هشتم (گروهی که ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ فقط والپرویک اسید دریافت می کرد) مقایسه شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار آماری Statistica V. 5.5 انجام گرفت.

## یافته ها

**الف) اثر تزریق اتانول با غلظت ۱ و ۰/۵ گرم به ازای یک کیلوگرم حیوان بر کمیت های تشنجی:** تزریق اتانول با دوز 1 g/kg به یک گروه از حیوانات به مدت ۷ روز (۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ) (10 ml/kg) موجب کاهش معناداری (۳۱/۸ درصد PTZ+Saline) در S<sub>4</sub>D در طی ۱۰ بار تزریق PTZ نسبت به گروه کنترل شد که ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ فقط سالین دریافت می کردند ( $F_{(9,63)}=6.1, p<0/001$ ). تزریق غلظت 1 g/kg الکل به مدت ۲۱ روز هم موجب کاهش معناداری در S<sub>4</sub>D در طی ۱۰ بار تزریق PTZ نسبت به گروه کنترل (PTZ+Saline) گردید ( $F_{(9,54)}=8.2, p<0/001$ ) (شکل ۱). تجزیه و تحلیل مقدار S<sub>4</sub>L نشان داد که تزریق غلظت 1 g/kg الکل به مدت ۷ روز موجب افزایش معناداری در مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج در طی ۱۰ بار تزریق PTZ نسبت به گروه PTZ+Saline

زمان مراحل رفتاری (S<sub>4</sub>D, S<sub>1</sub>L, S<sub>4</sub>L) و مرحله حمله ثبت می گردید. به طور کلی، تزریق PTZ تا کیندل شدن ادامه می یافت.

مراحل تشنجی بعد از هر بار تزریق PTZ بدین ترتیب می باشد:

- ۱- مرحله صفر، بدون هیچ پاسخ؛
- ۲- مرحله یک، حرکت دادن سر به طرف بالا و پایین (Head Nodding)؛
- ۳- مرحله دوم، کلونوس اندام جلویی (Forelimb clonus) و ترشح بزاق؛
- ۴- مرحله سوم، ایستادن روی هر دو پا (Rearing) توأم با کلونوس اندام جلویی؛
- ۵- مرحله چهارم، ایستادن روی هر دو پا همراه با دست دادن تعادل و افتادن (Rearing & Falling) (۴). کمیت هایی که در تحقیق حاضر اندازه گیری و آنالیز شدند، بدین ترتیب بود:

S<sub>1</sub>L: مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۱ حمله.

S<sub>4</sub>L: مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ حمله.

S<sub>4</sub>D: مدت زمانی که حیوان هنگام تشنج در مرحله ۴ به سر می برد.

مرحله حمله: بیشترین مرحله حمله ای را که حیوان پس از هر بار تزریق PTZ نشان می دهد (۴).

در گروه های دوم تا پنجم که اثر الکل بر شدت تشنجات مورد ارزیابی قرار گرفت، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ، الکل با دوزهای ۱ و ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم (۵) به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد. در گروه های دوم تا پنجم، دوز ۱ و ۰/۵ الکل به ترتیب به مدت ۷ روز و ۲۱ روز به حیوانات تزریق شد. البته الکل با نرمال سالین ۰/۹ درصد رقیق می گردید. پارامترهای اندازه گیری شده (S<sub>4</sub>D, S<sub>1</sub>L, S<sub>4</sub>L) در گروه های دوم تا پنجم با گروه ششم مقایسه شدند که تمام پروتکل کار مشابه گروه های دوم تا پنجم می باشد به استثنای این که هم حجم الکل، نرمال سالین تزریق می شوند.

جدول ۱: اثر تزریق اتانول با غلظت ۱ و ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم حیوان در ۷ و ۲۱ روز متوالی و اثر تزریق VPA و VPA+Eth 1 (7 days) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ بر میانگین هفتگی مرحله حمله

گروه	PTZ+Saline	PTZ+ Eth1 (7)	PTZ+ Eth1 (21)	PTZ+ Eth0.5 (7)	PTZ+ Eth0.5 (21)	PTZ+VPA	PTZ+VPA+Eth1 (7)	میانگین مرحله حمله
پس از ۳ تزریق	۳/۷ ± ۰/۳	*۲/۲ ± ۰/۴	*۲/۱ ± ۰/۴	۴/۲ ± ۰/۳	۴/۵ ± ۰/۳	*۲/۲ ± ۰/۵	***\$۰/۷ ± ۰/۳	
پس از ۷ تزریق	۴/۱ ± ۰/۳	**۲/۱ ± ۰/۳	*۲/۱ ± ۰/۵	۳/۷ ± ۰/۴	۳/۲ ± ۰/۵	**۲ ± ۰/۵	**۱ ± ۰/۳	
پس از ۱۲ تزریق	۵ ± ۰	**۲/۲ ± ۰/۵	*۳/۱ ± ۰/۴	۳/۸ ± ۰/۴	۳/۷ ± ۰/۵	**۱/۸ ± ۰/۵	**۱/۶ ± ۰/۴	

\* \*\* و \*\*\* به ترتیب نشان‌دهنده  $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$  و  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه PTZ+saline می‌باشد. # نشان‌دهنده  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه PTZ+Eth 1 (7 days) و \$ نشان‌دهنده  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه PTZ+VPA می‌باشد. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۸ سر می‌باشند.

درصد)،  $S_4L$  [F(9,81)=3.5, p<0.001] را به طور معناداری افزایش (۲۱۶/۸ درصد) و  $S_1L$  [F(9,126)=1.9, p<0.05] را نیز افزایش (۱۴۹ درصد) داد (شکل ۳). میانگین مرحله حمله در گروه والپرویک اسید (۱/۸±۰/۵) نسبت به گروه PTZ+Saline (۵±۰) کاهش معناداری داشت (جدول ۱).  
**ج) اثر تزریق والپرویک اسید + اتانول بر کمیت‌های تشنجی:** تزریق توأم اتانول و VPA توانست  $S_4D$  را نسبت به گروه اتانول ۱ به طور معناداری کاهش دهد (۴۷ درصد) [F(9,117)=9.2, p<0.001] (۷). این تزریق توأم  $S_4D$  را نسبت به گروهی که فقط VPA دریافت کرده بودند نیز کاهش داد (۵۷/۱ درصد) [F(9,99)=6.5, p<0.001]. مصرف توأم اتانول و VPA باعث افزایش ۲۳۳/۹ درصد و ۴۵۰ درصد در  $S_4L$  به ترتیب نسبت به گروه VPA [F(9,99)=4.4, p<0.001] و گروه اتانول [F(9,126)=27, p<0.001] شد.

میانگین مرحله حمله در گروه تزریق توأم والپرویک اسید و اتانول ۱ (۷ روزه) (۱/۶±۰/۴) نیز نسبت به گروه والپرویک اسید (۱/۸±۰/۵) و گروه اتانول ۱ (۷ روزه) (۲/۲±۰/۵) تفاوت معناداری نشان نداد. مقایسه بین گروه والپرویک اسید و اتانول ۱ (۷ روزه) با گروه والپرویک اسید و همچنین با گروه اتانول ۱ (۷ روزه) فقط در هفته اول کاهش معناداری نشان داد (جدول ۱).

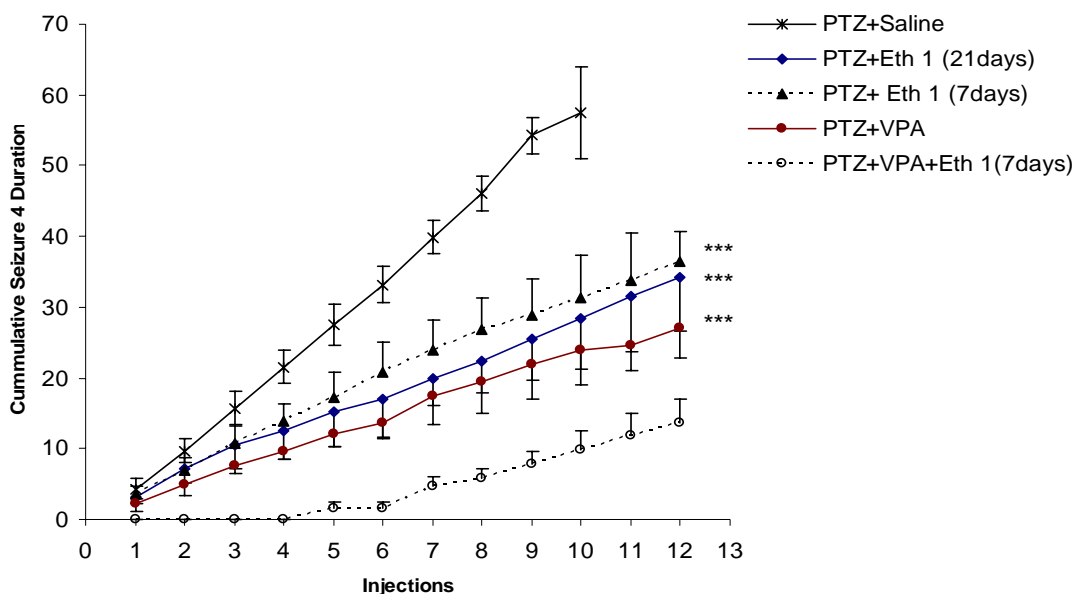
### بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق اتانول با غلظت ۱ g/kg در دوره زمانی ۷ و ۲۱ روزه دارای اثر ضد

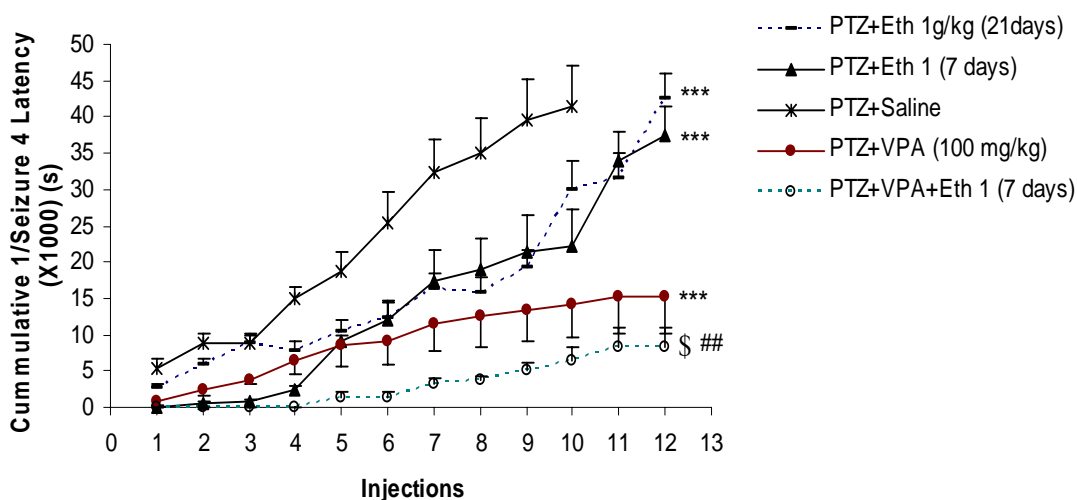
شد ( $F(9,108)=2.9, p<0.001$ ). همچنین تزریق غلظت ۱ g/kg الکل به مدت ۲۱ روز موجب افزایش معناداری در  $S_4L$  در طی ۱۰ بار تزریق PTZ نسبت به گروه PTZ+Saline گردید ( $F(9,108)=6.8, p<0.001$ ) (شکل ۲).  $S_1L$  یکی دیگر از کمیت‌های مورد ارزیابی بود. تجزیه و تحلیل نشان داد که تزریق غلظت ۱ g/kg الکل به مدت ۷ روز موجب افزایش معناداری در  $S_1L$  در طی ۱۰ بار تزریق PTZ نسبت به گروه PTZ+Saline شد ( $F(9,99)=14.6, p<0.001$ ) و تزریق همین دوز الکل به مدت ۲۱ روز موجب افزایش معناداری در  $S_1L$  در طی ۱۰ بار تزریق PTZ نسبت به گروه PTZ+Saline شد.

میانگین مرحله حمله در گروه PTZ+saline از ۳/۷±۰/۳ (پس از سومین تزریق PTZ) به ۵ (پس از دهمین تزریق PTZ) رسید. تزریق اتانول میانگین مرحله حمله را در طی ۱۲ بار نسبت به گروه PTZ+Saline کاهش داد که بر حسب هر هفته (هفته ۱ تا هفته ۴) بیان می‌شود. آزمون آماری من‌ویتنی برای مقایسه گروه‌های کاری نشان داد که میانگین مرحله حمله در گروه اتانول ۱ (۷ روزه) از ۲/۲±۰/۴ (پس از سومین تزریق PTZ) به ۲/۱۶±۰/۵ (پس از دهمین تزریق PTZ) رسید. اتانول ۰/۵ (۲۱ روزه) فقط در هفته سوم کاهش معناداری نسبت به گروه PTZ+Saline نشان داد (جدول ۱).

**ب) اثر تزریق والپرویک اسید بر کمیت‌های تشنجی:** تزریق والپرویک اسید،  $S_4D$  [F(9,45)=17, p<0.001] را نسبت به گروه PTZ+Saline به طور معناداری کاهش (۳۹



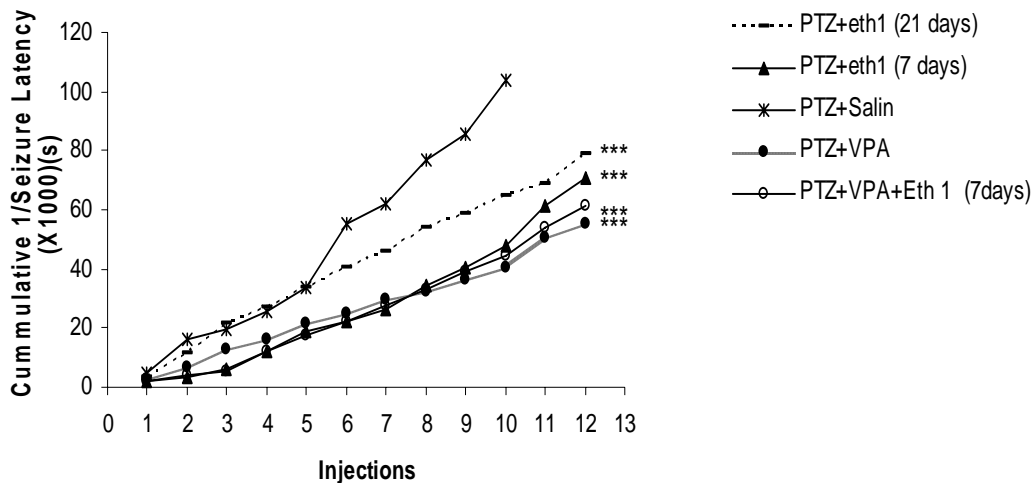
شکل ۱: مدت زمان مرحله ۴ تشنج (تجمعی) در طی ۱۲ بار تزریق PTZ در گروه (PTZ+VPA+Eth 1(7 days)) ۵ دقیقه قبل از تزریق اتانول، والپرویک اسید تزریق شد. تزریق اتانول به مدت ۷ و ۲۱ روز مدت زمان مرحله ۴ حمله را به طور معناداری کاهش داد. تزریق والپرویک اسید نسبت به گروه PTZ+Saline مدت زمان مرحله ۴ حمله را به طور معناداری کاهش داد اما نسبت به گروه‌های اتانول تغییر معناداری نداد. تزریق توأم والپرویک اسید و اتانول اگرچه مدت زمان مرحله ۴ حمله را کاهش داد اما نسبت به گروه PTZ+VPA معنادار نبود. \*\*\* نشان‌دهنده  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه PTZ+ Saline است. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده اند (n=۸).



شکل ۲: مدت زمان مرحله تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (تجمعی) (Seizure 4 Latency; S<sub>4</sub>L) در طی ۱۲ بار تزریق PTZ در گروه (PTZ+VPA+Eth 1(7 days)) ۵ دقیقه قبل از تزریق اتانول، والپرویک اسید تزریق شد. تزریق اتانول به مدت ۷ و ۲۱ روز S<sub>4</sub>L را به طور معناداری افزایش داد. تزریق والپرویک اسید S<sub>4</sub>L را به طور معناداری نسبت به گروه PTZ+Saline افزایش داد اما نسبت به گروه‌های اتانول تغییر معناداری نداد. تزریق توأم والپرویک اسید و اتانول S<sub>4</sub>L را نسبت به گروه PTZ+VPA و گروه PTZ+Eth 1 (7 days) افزایش داد. \*\*\* نشان‌دهنده  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه PTZ+ Saline است. \$ نشان‌دهنده  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه PTZ+VPA و ## نشان‌دهنده  $P < 0.01$  در مقایسه با گروه PTZ+Eth 1 (7 days) است. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند (n=۸).

مرحله چهار تشنج را در دوره زمانی هفت روزه کاهش معناداری داد و بر بقیه پارامترهای اندازه‌گیری شده اثر معناداری نداشت. همچنین بخش دیگر نتایج نشان داد که

تشنجی (کاهش مدت زمان مرحله ۴ تشنج، افزایش مدت زمان تأخیری در شروع مرحله یک و مرحله چهار تشنج) می‌باشد. تزریق اتانول با غلظت ۰/۵ g/kg تنها مدت زمان



شکل ۳: مدت زمان تأخیری تا شروع مرحله ۱ تشنج (تجمعی) (Seizure Latency; S<sub>1</sub>L) در طی ۱۲ بار تزریق PTZ در گروه (PTZ+VPA+Eth 1 (7 days)) ۵ دقیقه قبل از تزریق اتانول، والپرویک اسید تزریق شد. تزریق اتانول به مدت ۷ و ۲۱ روز S<sub>1</sub>L را به طور معناداری افزایش داد. تزریق والپرویک اسید S<sub>1</sub>L را به طور معناداری نسبت به گروه PTZ+Saline افزایش داد اما نسبت به گروه‌های اتانول تغییر معناداری نداد. تزریق توأم والپرویک اسید و اتانول اگر چه S<sub>1</sub>L را افزایش داد اما نسبت به گروه PTZ+VPA و نسبت به گروه PTZ+ Eth 1 (7 days) معنادار نبود. \*\*\* نشان‌دهنده  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه PTZ+ Saline است. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند (n=8).

والپرویک اسید + اتانول ۱ (هفت روزه) اثر مهارى شدیدتر شده است. در تأیید این نتایج نشان داده شد که تزریق توأم اتانول و والپرویک اسید اثری بر غلظت خونی والپرویک اسید ندارد (۵). از این رو اتانول نه تنها غلظت والپرویک اسید را در خون کاهش نمی‌دهد بلکه از مسیرهایی که به عنوان مهارکننده تشنج اثر می‌گذارد، پیشرفت تشنج را به طور مضاعف نسبت به گروهی که والپرویک اسید به تنهایی دریافت کردند، مهار می‌کند.

به دنبال تزریق PTZ هر یک از مراحل چهارگانه تشنج بلافاصله یکی پس از دیگری ظهور می‌کنند. هر چه تعداد تزریق‌های PTZ بیشتر می‌شود احتمال بروز مراحل سوم و چهارم بیشتر می‌شود، به طوری که در تزریق‌های ۷ به بعد احتمال بروز مرحله چهارم به بالاتر از ۷۵ درصد می‌رسد. در صورتی که عامل مداخله‌گری مثل والپرویک اسید تزریق شود، مراحل پیشرفت تشنج آهسته می‌شود. همان‌طور که نتایج و آزمون‌های آماری مربوطه نیز نشان داد، اتانول با غلظت ۱ در هر دو گروه ۷ و ۲۱ روزه و والپرویک اسید و همچنین والپرویک اسید + اتانول میانگین مرحله حمله را نسبت به گروه کنترل کاهش داد. کاهش میانگین مرحله حمله نشان‌دهنده اثر مهارى والپرویک اسید و اتانول می‌باشد. عوامل ضد تشنجی

اگرچه والپرویک اسید به عنوان یک عامل ضد تشنج می‌باشد و اتانول (دوز ۱ g/kg) اثر ضد تشنجی دارد، تزریق توأم والپرویک (۵ دقیقه قبل از اتانول) و اتانول تفاوت معناداری با گروه والپرویک اسید دارد.

نتایج این تحقیق در راستای تحقیقاتی است که اثر ضد تشنجی برای اتانول قائل هستند (۱۰، ۱۸). البته برخی تحقیقات نشان داده‌اند که الکل به عنوان پیش برنده تشنج می‌باشد (۹، ۱۹). به عنوان مثال، گزارش‌ها نشان می‌دهد که مصرف مزمن الکل با دوز زیاد موجب افزایش شدت و دفعات تشنج می‌شود (۱۰، ۱۲). بنابراین، یکی از دلایل تفاوت اثر اتانول بر تشنج در کارهای تحقیقاتی شاید تعداد تزریق‌های روزانه الکل و نوع داروی تشنج‌زا باشد. در رابطه با اثر ضد تشنجی والپرویک اسید، گفته می‌شود که والپرویک اسید سطح گابا را در مغز افزایش داده و می‌تواند کانال‌های سدیمی را مسدود کند (۱۵). والپرویک اسید از این طریق، شدت تشنج و احتمال وقوع آن را کاهش می‌دهد چرا که مهم‌ترین نوروترانسمیتر مهارى مغز، گابا است. همان‌طور که قبلاً نیز بیان شد یکی از مکانیسم‌های اثر اتانول تحریک گیرنده‌های گابا است (۵). بنابراین، به نظر می‌رسد که هر دو ماده (والپرویک اسید و اتانول) از یک مسیر عمل کرده و بنابراین در گروه

باشد بر این که اتانول نه تنها با اثر ضد تشنجی والپرویک اسید مخالفت نمی کند بلکه باعث تقویت اثر ضد تشنجی این داروی مرسوم می شود.

به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اتانول (غلظت 1 g/kg) به عنوان یک عامل ضد تشنج است و در این غلظت با داروی ضد تشنجی والپرویک اسید تداخل اثری ندارد. این عدم تداخل اثر مربوط به مصرف کوتاه مدت (هفت روزه) الکل می باشد و شاید مصرف طولانی مدت آن از اثرات ضد تشنجی والپرویک اسید بکاهد که البته نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم آموزشی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار که حمایت مالی این طرح را بر عهده گرفتند، تشکر می شود.

همچون نوروترانسمیترهای مهاری (۲۰)، تحریک الکتریکی با فرکانس پایین (۲۱)، داروهای ضد تشنجی (۲۲) و الکل (۱۳) در غلظت های مشخص شدت تشنج (میانگین مرحله حمله) و فرکانس وقوع آن را کاهش می دهند.

یکی از پارامترهای قابل قیاس برای تشنج مدت زمان مراحل تشنج و مدت زمان تأخیری تا شروع هر مرحله از تشنج می باشد. همان طور که نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد، میانگین مرحله حمله با تزریق اتانول و یا والپرویک اسید نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. همچنین گروهی که به صورت توأم والپرویک اسید و اتانول دریافت کردند میانگین مرحله حمله نسبت به هر یک از گروه های اتانول و والپرویک اسید به تنهایی در هفته اول کاهش معناداری نشان داد، اما در هفته های دو تا چهار این تفاوت معنادار نبود. شاید دلیل آن به عدم تزریق اتانول از روز هفتم به بعد برگردد و خود دلیلی

### References

1. McNamara JO. Kindling model of epilepsy. *Adv Neurol.* 1986;44:303-18.
2. Delgado-Escueta AV, Wilson WA, Olsen RW, Porter RJ. New waves of research in the epilepsies: crossing into the third millennium. *Adv Neurol.* 1999;79:3-58.
3. Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol.* 1969;25(3):295-330.
4. Barkai E, Grossman Y, Gutnick MJ. Long-term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentylenetetrazole: an in vitro study. *J Neurophysiol.* 1994;72(1):72-83.
5. Fischer W. Influence of ethanol on the threshold for electroshock-induced seizures and electrically-evoked hippocampal afterdischarges. *J Neural Transm.* 2005;112(9):1149-63
6. Kozan R, Ayyildiz M, Yildirim M, Agar E. The effects of ethanol intake and withdrawal on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Res Bull.* 2006 11;71(1-3):111-5
7. Mohammad K, Farahani FK, Mohammadi MR, Alikhani S, Zare M, Tehrani FR, et al. Sexual risk-taking behaviors among boys aged 15-18 years in Tehran. *J Adolesc Health.* 2007;41(4):407-14
8. Mohammadpoorasl A, Fakhari A, Rostami F, Vahidi R. Predicting the initiation of substance abuse in Iranian adolescents. *Addict Behav.* 2007;32(12):3153-9.
9. Scorza FA, Arida RM, Cysneiros RM, Priel MR, de Albuquerque M, Cavalheiro EA. The effects of alcohol intake and withdrawal on the seizures frequency and hippocampal morphology in rats with epilepsy. *Neurosci Res.* 2003;47(3):323-8.
10. Fischer W, Kittner H. Influence of ethanol on the pentylenetetrazol-induced kindling in rats. *J Neural Transm.* 1998;105(10-12):1129-42.
11. McQUARRIE DG, FINGL E. Effects of single doses and chronic administration of ethanol on experimental seizures in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 1958;124(3):264-71.

12. Hsieh CL, Chang CH, Chiang SY, Li TC, Tang NY, Pon CZ, et al. Anticonvulsive and free radical scavenging activities of vanillyl alcohol in ferric chloride-induced epileptic seizures in Sprague-Dawley rats. *Life Sci.* 2000;67(10):1185-95.
13. Freeman FG. Effects of alcohol on kindled seizure thresholds in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1978;8(6):641-4.
14. Höppener RJ, Kuyer A, van der Lugt PJ. Epilepsy and alcohol: the influence of social alcohol intake on seizures and treatment in epilepsy. *Epilepsia.* 1983;24(4):459-71.
15. Williams AJ, Tortella FC, Lu XM, Moreton JE, Hartings JA. Antiepileptic drug treatment of nonconvulsive seizures induced by experimental focal brain ischemia. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;311(1):220-7
16. Kleinrok Z, Dziki M, Janczarek T. The influence of ethanol on pentetrazol-induced seizures and anticonvulsant activity of phenobarbital and valproate against maximal electroshock in mice. *Pol J Pharmacol.* 1993;45(4):361-8.
17. Atapour N, Kalantaripour TP, Nourpanah M, Niazi M. Chemical kindling and seizure susceptibility in morphine dependent rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2000;10(6):483-7.
18. Borowicz KK, Czuczwar SJ. Effect of some convulsants on the protective activity of loreclezole and its combinations with valproate or clonazepam in amygdala-kindled rats. *Pol J Pharmacol.* 2003;55(5):727-33.
19. Silverstone PH, Williams R, McMahon L, Fleming R, Fogarty S. Alcohol significantly lowers the seizure threshold in mice when co-administered with bupropion hydrochloride. *Ann Gen Psychiatry.* 2008 18;7:11.
20. Dunwiddie TV. Adenosine and suppression of seizures. *Adv Neurol.* 1999;79:1001-10.
21. Gaito J, Nobrega JN, Gaito ST. Interference effect of 3 Hz brain stimulation on kindling behavior induced by 60 Hz stimulation. *Epilepsia.* 1980;21(1):73-84.
22. Hansen SL, Sperling BB, Sánchez C. Anticonvulsant and antiepileptogenic effects of GABAA receptor ligands in pentylenetetrazole-kindled mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2004;28(1):105-13.