

بررسی اثر والپروات سدیم در حضور ویتامین C و E بر تشنج ناشی از استریکنین در موش صحرائی بالغ

رها زال خانی^{۱*}، احمدعلی معاضدی^{۲،۱}، حسین نجف‌زاده‌ورزی^{۳،۴}

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲. مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فناوری ترانسژنیک دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، اهواز، ایران.
۳. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، اهواز، ایران.
۴. گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، اهواز، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۲۳

زمینه: صرع یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عصبی است و مصرف دوزهای زیاد بعضی از داروهای ضد صرعی به افزایش بیش از حد رادیکال‌های آزاد و آسیب مغزی می‌انجامد. از این‌رو در این تحقیق برای کنترل بهتر تشنج با عارضه جانبی کمتر، اثر ترکیب دوز کم والپروات سدیم با ویتامین C و E بر تشنج القا شده توسط استریکنین در موش صحرائی ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۹ سر موش صحرائی ویستار به ۷ گروه تقسیم شدند: شاهد (سالین 1ml/kg)، والپروات سدیم (۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ویتامین C (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ویتامین E (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و والپروات سدیم با ویتامین C یا ویتامین E. برای القای تشنج، ۳۰ دقیقه بعد از دریافت درون صفاقی سالین یا دارو، استریکنین به صورت زیرپوستی تزریق شد. سپس مدت زمان شروع تشنج و مدت زمان تا مرگ و میزان زنده ماندن طی ۳۰ دقیقه ثبت شد.

یافته‌ها: ترکیب والپروات سدیم و ویتامین C زمان شروع تشنج ($p=0/000$) و مدت زمان تا مرگ ($p=0/006$) را به طور معناداری نسبت به گروه شاهد افزایش داد و میزان زنده ماندن ۵۷ درصد بود. همچنین والپروات سدیم در حضور ویتامین E، شروع تشنج ($p=0/024$) و زمان مرگ ($p=0/000$) را به طور معناداری نسبت به گروه شاهد به تأخیر انداخت و ۶۶ درصد موش‌ها زنده ماندند.

نتیجه‌گیری: مصرف دوز کم والپروات سدیم با ویتامین‌های C یا E، فعالیت ضدتشنجی دارو را افزایش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها:

استریکنین، تشنج، موش صحرائی، والپروات سدیم، ویتامین C، ویتامین E.

مقدمه

تشنج (Seizure)، به تغییر گذرای رفتاری به دلیل تخلیه ریتمیک و هم‌زمان جمعی از نورون‌های سیستم اعصاب مرکزی گفته می‌شود و اگر این تشنج‌ها تکرار شوند بیماری صرع نامیده می‌شود [۱]. صرع اختلال عصبی شایعی است که حداقل ۵۰ میلیون نفر از مردم جهان را درگیر کرده است [۲].

دارو درمانی معمول‌ترین روش درمانی بیماران صرعی است که فقط در ۷۰ درصد از بیماران مؤثر است و ۳۰ درصد باقیمانده از تشنج رنج می‌برند [۳]. با وجود داروهای ضد صرعی گوناگون، این بیماری به‌طور کامل قابل کنترل نیست و یافتن روشی مطمئن برای درمان قطعی صرع یا کنترل آن ضروری به نظر می‌رسد. تداخل مثبت بین عمل داروهای ضد صرعی و

* نویسنده مسئول: رها زال خانی
نشانی:

تلفن: ۰۶۱-۳۳۳۳۱۰۴۵
دورنگار:
رایانه: rahazalkhani@gmail.com
شناسه ORCID: 0000-0003-2708-5254

جذب رادیکال‌های آزاد از اثرات سوء پراکسیداسیون لیپیدها در بافت مغزی در مدل تشنج القا شده توسط پیلوکارپین و کلرید آهن در موش صحرایی جلوگیری می‌کند [۱۸، ۱۹]. همچنین ویتامین محلول در آب C با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، هیپوکامپ، باعث افزایش مدت زمان تأخیر تا اولین تشنج و کاهش مرگ‌ومیر در موش صحرایی در تشنج القا شده توسط پیلوکارپین می‌شود [۲۰]. کاهش غلظت ویتامین C با اثر بر ساختار و عملکرد سیستم اعصاب مرکزی سبب آسیب سلول‌های مغزی و به هم خوردن تعادل رهاایش انتقال‌دهنده‌های عصبی می‌شود [۱۷].

استریکنین، آنتاگونیست رقابتی گیرنده‌های مهاری گلیاسین است که برای القای تشنج موضعی ساده در آزمایشگاه استفاده می‌شود. تشنج موضعی ساده به انواعی از تشنج گفته می‌شود که عملکرد الکتریکی مغز فقط در یک یا چند ناحیه از مغز مختل شود و هوشیاری در این نوع از تشنج از دست نمی‌رود. بعضی محققان تشنج ایجاد شده توسط استریکنین را به‌عنوان مدل تشنج مقاوم به درمان معرفی کرده‌اند [۲۱-۲۳]. به نظر می‌رسد که درمان ترکیبی داروهای ضدصرعی با ویتامین‌ها، نقش مؤثرتری در کنترل تشنج‌ها داشته باشد و نیز از عوارض سوء ناشی از مصرف دوز زیاد دارو جلوگیری به عمل آورد [۵]. از آنجایی که در مطالعات دیگران از دوزهای بالای والپروات سدیم و ویتامین‌ها استفاده شده است، لذا در این تحقیق میزان اثربخشی دوز کم والپروات سدیم با ویتامین‌های C و E را در مدل تشنج القا شده توسط استریکنین، مدل تشنجی مقاوم به درمان و متفاوت با گزارش‌های ارائه شده در موش صحرایی بالغ بررسی کردیم.

مواد و روش

در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی 20 ± 20 گرم استفاده شد. دمای محل نگهداری 22 ± 20 و دوره روشنایی روزانه بین ساعت‌های ۷ تا ۱۹ تنظیم شد. همه آزمایش‌ها بین ساعت‌های ۱۰ صبح تا ۲ بعد از ظهر انجام شد. تمامی اصول دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز شماره EE/97.3.24.49755/scu.ac.ir رعایت شد.

برای انجام این تحقیق داروهای والپروات سدیم (شرکت سیگما)، استریکنین (سیگما)، ویتامین C (شرکت سیگما) و ویتامین E (شرکت اسوه) به کار برده شد. والپروات سدیم با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم [۲۴]، ویتامین C با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ویتامین E با دوز ۱۰۰

روش‌های درمانی دیگر مانند مصرف آنتی‌اکسیدانت‌ها، می‌تواند روشی مؤثر در کنترل صرع‌های غیرقابل درمان باشد [۴].

تعادل بین اکسیدانت و آنتی‌اکسیدانت‌ها، یکی از عناصر مهم در حفظ هومئوستازی بدن است. رادیکال‌های آزاد محصولات جانبی متابولیسم طبیعی بدن هستند که توسط جاروبگرهای آنزیمی و غیرآنزیمی از سلول حذف می‌شوند و سلول را از آثار مخرب رادیکال‌ها حفاظت می‌کنند [۵]. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد یا کاهش کارایی آنتی‌اکسیدانت‌ها سبب ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. رادیکال‌های آزاد و در رأس آن‌ها ترکیبات مشتق از اکسیژن فعال از مهم‌ترین عوامل شکل‌گیری استرس اکسیداتیو هستند. استرس اکسیداتیو در ایجاد بسیاری از بیماری‌های عصبی از قبیل آلزایمر، پارکینسون، صرع و تشنج نقش دارد [۴]. تشنج‌های طولانی سبب آزاد شدن رادیکال‌های آزاد و مرگ نورون‌ها می‌شود [۶، ۷]. بنابراین کاهش میزان ترکیبات اکسیداتیو و تقویت سیستم‌های حذف‌کننده این رادیکال‌ها اهمیت بسزایی در بهبود این بیماری دارد [۴، ۶-۱۰].

والپروات سدیم از جمله داروهای ضد صرعی است که به دلیل اینکه از طریق مکانیسم‌های مختلفی عمل می‌کند، در کنترل انواع زیادی از تشنج‌ها مانند تشنج غایب، میوکلونیک، تونیک-کلونیک، کانونی یا بدون عمومی شدن ثانویه نقش دارد. والپروات باعث تقویت سیستم مهاری گابا آرژیک، کاهش فعالیت سیستم تحریکی گلوتامات آرژیک، مهار کانال‌های سدیم و کاهش متابولیسم گلوکز می‌شود؛ اما عوارض جانبی ناشی از مصرف دوزهای بالا و طولانی مدت این دارو، استفاده از آن را با نگرانی همراه کرده است [۱۱]. گزارش‌های متناقضی درباره اثر والپروات سدیم بر سیستم آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. مطالعه بیماران صرعی تحت درمان با والپروات سدیم نشان داده است که والپروات باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و رادیکال‌های آزاد و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌هایی مانند آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز می‌شود [۷، ۱۲-۱۴]. اما همچنین نشان داده‌اند که والپروات با مهار پراکسیداسیون لیپیدی از مرگ سلول‌های قشر مغزی موش صحرایی در محیط کشت جلوگیری می‌کند [۱۵] که نشان می‌دهد حفاظت نورون از آسیب اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های عمل والپروات سدیم است [۵].

مطالعات نشان داده‌اند که میزان ویتامین‌ها در بیماران مبتلا به صرع کاهش می‌یابد [۱۶]. ویتامین‌ها نقش مؤثری در بهبود بیماری‌های عصبی دارند [۱۷]. آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی مانند ویتامین محلول در چربی E (آلفا توکوفرول) با

نتایج

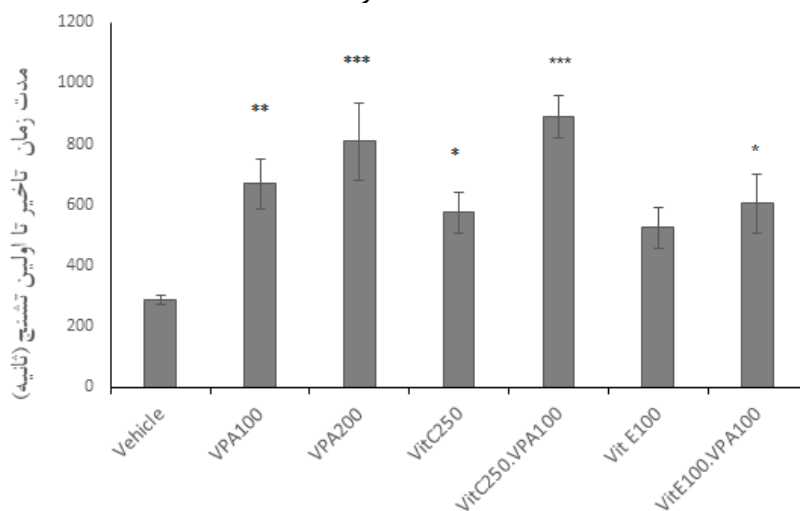
نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی والپروات سدیم با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، زمان شروع تشنج را به ترتیب با $(p = 0/003)$ و $(p = 0/000)$ و مدت زمان تا مرگ را با $(p = 0/000)$ و $(p = 0/020)$ نسبت به گروه شاهد به طور معناداری به تأخیر انداخت اما با دوز کمتر والپروات سدیم برخلاف حفاظت کامل با دوز حداکثر، فقط ۳۶ درصد از حیوانات زنده ماندند (جدول ۲ و شکل ۱).

تزریق درون صفاقی ویتامین C با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت جداگانه و توأم با والپروات سدیم، زمان شروع تشنج را به ترتیب با $(p = 0/039)$ و $(p = 0/000)$ نسبت به گروه شاهد به طور معناداری به تأخیر انداخت. به رغم اینکه، تزریق ویتامین C به طور جداگانه تأثیری بر مدت زمان تا مرگ نداشت و فقط ۱۴ درصد موش‌ها زنده ماندند اما تزریق توأم ویتامین C با والپروات سدیم باعث افزایش معنادار مدت زمان تا مرگ نسبت به گروه شاهد شد $(p = 0/006)$ و تعداد ۵۷ درصد موش‌ها زنده ماندند (جدول ۲ و شکل ۱).

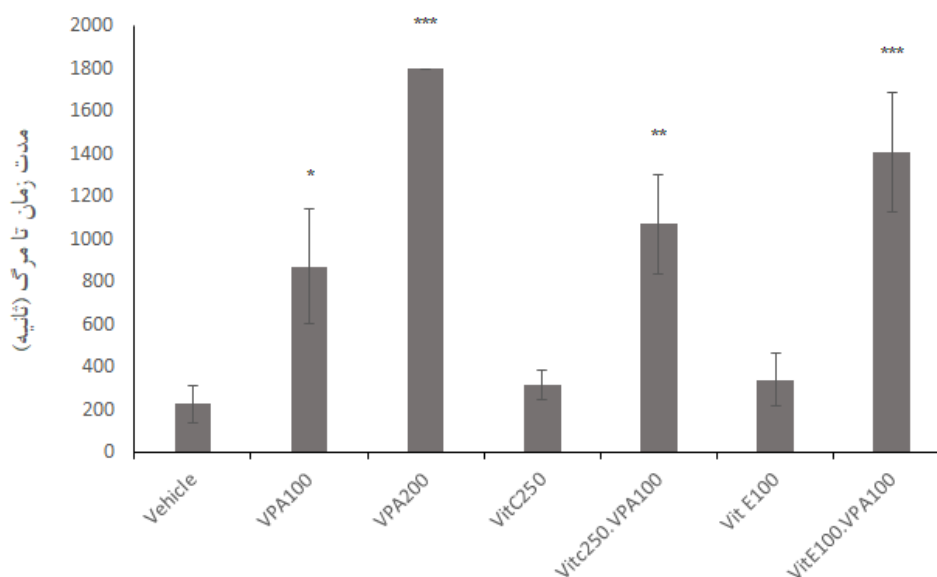
تزریق درون صفاقی ویتامین E با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، زمان شروع تشنج و مدت زمان تا مرگ را نسبت به گروه شاهد افزایش داد اما این تغییر معنی دار نبود و هیچ کدام از موش‌ها زنده نماندند (جدول ۲ و شکل ۱) اما تزریق توأم ویتامین E و والپروات سدیم با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، زمان شروع تشنج $(p = 0/024)$ و مدت زمان تا مرگ $(p = 0/000)$ را نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری افزایش داد و ۶۶ درصد موش‌ها زنده ماندند (جدول ۲ و شکل ۱).

میلی گرم بر کیلوگرم [۲۵] و ۱ استریکنین با دوز ۳ میلی گرم بر کیلوگرم [۲۱] در نرمال سالین حل شدند. استریکنین به صورت زیرپوستی و بقیه داروها و سالین به صورت درون صفاقی تزریق شدند. در هر نوبت محلول‌ها به صورت تازه تهیه شدند.

گروه‌های مورد استفاده در این آزمایش به شرح زیر بودند: گروه شاهد: دریافت‌کننده سالین به میزان ۱ میلی لیتر بر کیلوگرم (Vehicle)، گروه والپروات سدیم با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (VPA100)، گروه والپروات سدیم با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (VPA200)، گروه ویتامین C با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم (VitC250)، گروه توأم والپروات سدیم و ویتامین C به ترتیب با دوز ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم (VitC250.VPA100)، گروه ویتامین E با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (VitE100)، گروه توأم والپروات سدیم و ویتامین E هر دو با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (VitE100.VPA100). به منظور ایجاد تشنج، نیم ساعت بعد از تزریق سالین، والپروات سدیم و ویتامین‌ها، محلول استریکنین به حیوان تزریق شد. محلول استریکنین موجب ایجاد انقباضات تونیک-کلونیک می‌شود و ۱۰۰ درصد حیوانات می‌میرند. سپس شاخص‌های تشنج شامل مدت زمان تا شروع تشنج، مدت زمان تا مرگ طی ۳۰ دقیقه بعد از تزریق استریکنین ثبت شد. برای بررسی آماری داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون LSD و با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. میانگین \pm خطای استاندارد داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۰ به صورت نمودار نشان داده شده است و اختلاف میانگین‌ها با $(p \leq 0/05)$ معنادار تلقی شد.



شکل ۱. بررسی اثر ترکیبی والپروات سدیم و ویتامین C و E بر مدت زمان تاخیر تا نخستین تشنج القا شده توسط استریکنین در موش صحرائی بالغ. *، **، ***، نشان دهنده تفاوت معنادار به ترتیب در سطح $(p \leq 0/001)$ ، $(p \leq 0/01)$ و $(p \leq 0/05)$ با گروه شاهد (حلال) است (شاهد: Vehicle، والپروات سدیم: VPA، ویتامین E و C: Vit E و Vit C). داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند.



شکل ۲. بررسی اثر ترکیبی والپروات سدیم و ویتامین C و E بر مدت زمان تا مرگ ناشی از تشنج القا شده توسط استریکنین در موش صحرایی بالغ. ***، **، * نشان دهنده تفاوت معنادار به ترتیب در سطح (p ≤ 0.001)، (p ≤ 0.01) و (p ≤ 0.05) با گروه شاهد (حلال) است (شاهد: Vehicle). والپروات سدیم: VPA، ویتامین E و C: Vit E و Vit C. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شده‌اند

جدول ۱. میانگین زمان شروع تشنج و مدت زمان تا مرگ در گروه‌های شاهد، والپروات سدیم و ویتامین E و C. ***، **، * نشان دهنده تفاوت معنادار به ترتیب در سطح (p ≤ 0.001)، (p ≤ 0.01) و (p ≤ 0.05) با گروه شاهد است. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شده‌اند.

گروه	میانگین زمان شروع تشنج	میانگین مدت زمان تا مرگ
شاهد (سالین)	۲۸۸/۱۷ ± ۱۴	۲۲۶/۸۴ ± ۸۵
والپروات سدیم (۱۰۰ mg/kg)	۶۷۰/۸۲ ± ۵۵**	۸۷۱/۲۶۷ ± ۳۳*
والپروات سدیم (۲۰۰ mg/kg)	۱۲۵ ± ۸۰۷***	۱۸۰۰***
ویتامین C (۲۵۰ mg/kg)	۵۷۵/۶۷ ± ۶۶*	۳۱۵/۶۷ ± ۵۰
والپروات سدیم (۱۰۰ mg/kg) + ویتامین C	۸۹۱/۷۰ ± ۱۶***	۱۰۷۱/۲۳۲ ± ۶۶**
ویتامین E (۱۰۰ mg/kg)	۵۲۴/۶۷ ± ۸۳	۱۲۴ ± ۳۴۰
والپروات سدیم (۱۰۰ mg/kg) + ویتامین E	۹۸ ± ۶۰۴*	۱۴۰۶/۲۸۲ ± ۳۳***

د. بحث

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که به‌رغم اینکه دوز ۱۰۰ والپروات سدیم مدت زمان تأخیر تا شروع تشنج و همچنین مدت زمان تا مرگ را به طور معناداری نسبت به گروه شاهد افزایش می‌دهد؛ اما برخلاف دوز ۲۰۰ فقط ۳۶ درصد از موش‌ها زنده ماندند. همچنین تزریق ویتامین C به تنهایی بر مدت زمان تا مرگ افزایش معناداری ایجاد نکرد و فقط ۱۴ درصد موش‌ها زنده ماندند. تزریق ویتامین E، زمان شروع تشنج و مدت زمان تا مرگ را نسبت به گروه شاهد افزایش داد اما این

تغییرات معنی‌دار نبودند و از مرگ و میر موش‌ها جلوگیری نکرد. اما کاربرد توأم دوز کم والپروات سدیم با ویتامین C و E باعث افزایش معنی‌دار مدت زمان تأخیر تا اولین تشنج و مدت زمان تا مرگ و افزایش میزان زنده ماندن تا ۶۶٪ می‌شود (جدول ۲ و شکل ۱).

مطابق با نتایج حاضر خاویز و همکاران [۲۰] گزارش داده‌اند که تزریق درون صفاقی ویتامین C (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، نیم ساعت قبل از القای تشنج با پیلوکارپین، مدت زمان تا نخستین تشنج را در موش صحرایی بالغ افزایش می‌دهد و سبب افزایش فعالیت کاتالازی هیپوکامپ و کاهش

افزایش مدت زمان تا نخستین تشنج و کاهش مدت زمان تشنج القا شده توسط پنتیلن تترازلول در موش‌های سوری دارد. همچنین سوبانیک و همکاران [۷، ۲۹] گزارش دادند که مصرف داروهای ضد صرعی والپروات سدیم و کلوبازام همراه با آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین E، پراکسیداسیون لیپیدی را در مغز موش بعد از شوک الکتریکی تشنج‌زا کاهش می‌دهد.

از آنجایی که در آزمایش حاضر از دوز کم والپروات سدیم (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) همراه با ویتامین C و E استفاده شد و مدت زمان تا نخستین تشنج و مدت زمان تا مرگ به طور معناداری افزایش یافت، همچنین میزان مرگ‌ومیر موش‌ها کاهش یافت، می‌توان امیدوار بود که استفاده از دوز کمتر دارو، عوارض جانبی آن را نیز به حداقل برساند.

نتیجه‌گیری

ویتامین‌های C و E باعث افزایش فعالیت ضد تشنجی دوز کم والپروات سدیم در موش صحرایی در مدل تشنج القا شده توسط استریکنین می‌شود.

تشکر و قدردانی

تمامی ضوابط منشور اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی (شماره EE/97.3.24.49755/scu.ac.ir) در روند اجرای آزمایش رعایت شد. در آخر از معاونت آموزشی دانشگاه شهید چمران اهواز برای حمایت این تحقیق تقدیر و تشکر می‌شود.

References

- [1]. Mc Namara JO. Cellular and molecular basis of epilepsy. J Neurosci. 1994; 14:3413-3425.
- [2]. Ono T, Galanopoulou A. Epilepsy and epileptic syndrome. In: Shamin IA, Neurodegenerative Diseases, Springer US. 2012; 99-113.
- [3]. Sander JW. The use of antiepileptic drugs principles and practice. *Epilepsia*. 2004;45:28-34.
- [4]. Aguiar C, Almeida A, Araújo P, Abreu R, Chaves E, Vale O et al. Oxidative stress and epilepsy. *Oxid Med Cell Longev*. 2012; 14:2012.
- [5]. Sobaniec W, Solowiej E, Kulak W, Bockowski L, Smigielska-Kuzia J, Artemowicz B. Evaluation of the influence of antiepileptic therapy on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in erythrocytes of children with epilepsy. *Child Neurol*. 2006; 21: 558-62.
- [6]. Shin E, Jeong J, Chung Y, Kim W, Ko K, Bach J et al. Role of oxidative stress in epileptic seizures. *Neurochem Int*. 2011; 59(2): 122-37.
- [7]. Sobaniec W. Lipid peroxidation in experimental and clinical epilepsy and the effects of sodium valproate and vitamin E on these processes. *Neurosciences*. 1992; 18(3): 123-30.
- [8]. Devi P, Manocha A, Vohora D. Seizures, antiepileptics, antioxidants and oxidative stress: an insight for researchers. *Expert Opin Pharmacother*. 2008; 9(18): 3169-77.
- [9]. Mahle C, Dasgupta A. Decreased total antioxidant capacity and elevated lipid hydroperoxide concentrations in sera of epileptic patients receiving phenytoin. *Life Sci*. 1997; 61(4): 437-43.
- [10]. Ono H, Sakamoto A, Sakura N. Plasma total glutathione concentrations in epileptic patients taking anticonvulsants. *Clinica chimica acta*. 2000; 298(1-2):135-43.
- [11]. Loscher W. Basic pharmacology of valproate: A review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drug*. 2002;16(10): 669-694.
- [12]. Avcicek A, Iscan A. The effects of carbamazepine, valproic acid and phenobarbital on the oxidative and antioxidative balance in epileptic children. *Eur. Neurol*. 2007; 57(2):65-9.
- [13]. Yiş U, Seckin E, Kurul SH, Kuralay F, Dirik E. Effects of epilepsy and valproic acid on oxidant status in children with idiopathic epilepsy. *Epilepsy Res*. 2009; 84(2-3):232-7.
- [14]. Yüksel A, Cengiz M, Seven M, Ulutin T. Erythrocyte glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and serum lipid peroxidation in epileptic children with valproate and carbamazepine monotherapy. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2000; 11(1):73-81.
- [15]. Shao L, Young LT, Wang JF. Chronic treatment with mood stabilizers lithium and valproate prevents excitotoxicity by inhibiting oxidative stress in rat cerebral cortical cells. *Biol Psychiatry*. 2005; 58:879-884.
- [16]. Nemade ST, Melinkeri RR. Oxidative and antioxidative status in epilepsy. *Pravara Med. Rev*. 2010; 2(4):8-10.
- [17]. Das A, Sarwar MS, Hossain MS, Karmakar P, Islam MS, Hussain ME et al. Elevated serum lipid peroxidation and reduced vitamin C and trace element concentrations are correlated with Epilepsy. *Clin EEG Neurosci*. 2018:1550059418772755.
- [18]. Akitane Mori, Isao Yokoi, Yasuka Noda; Natural antioxidant may present post-treatment epilepsy: A

- proposal based on experimental animal studies; *Acta Med. Okayama*: 2004; 58 (3):111-18
- [19]. Barros D, Xavier S, Barbosa C, Silva R, Maia D, Oliveira A, Freitas R, Effects of the vitamin E in catalase activities in hippocampus after status epilepticus induced by pilocarpine in wistar rats, *Neurosci Lett*. 2007; 416: 227-230.
- [20]. Xavier SM, Barbosa CO, Barros DO, Silva RF, Oliveira AA, Freitas RM. Vitamin C antioxidant effects in hippocampus of adult Wistar rats after seizures and status epilepticus induced by pilocarpine. *Neurosci Lett*. 2007; 420(1):76-9.
- [21]. Patwardhan RV. Models of seizures and epilepsy. *World Neurosurg*. 2006; 65(2): 213.
- [22]. Löscher W. Animal models of epilepsy and epileptic seizures. *Neurochem Res*. 2017; 42(7):1873-1888.
- [23]. Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*. 2011; 20(5): 359-68.
- [24]. Töllner K, Wolf S, Löscher W, Gernert M. The anticonvulsant response to valproate in kindled rats is correlated with its effect on neuronal firing in the substantia nigra pars reticulata: a new mechanism of pharmacoresistance. *J Neurosci*. 2011; 31(45):16423-34.
- [25]. Tome AD, Ferreira PM, Freitas RM. Inhibitory action of antioxidants (ascorbic acid or α -tocopherol) on seizures and brain damage induced by pilocarpine in rats. *Arq Neuropsiquiatr*. 2010; 68(3):355-61.
- [26]. Santos LF, Freitas RL, Xavier SM, Saldanha GB, Freitas RM. Neuroprotective actions of vitamin C related to decreased lipid peroxidation and increased catalase activity in adult rats after pilocarpine-induced seizures. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008; 89(1):1-5.
- [27]. Avvıldız M, Yıldırım M, Agar E. The effects of vitamin E on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Exp Brain Res*. 2006; 174(1): 109-13.
- [28]. Goudarzvand M, Javan M, Mirnajafi-Zadeh J, Tiraihi T. Combined administration of vitamins E and D3 on demyelination and remyelination of rat's hippocampus. *J Sabzevar Univ Med Sci*. 1388; 16(2): 62-71.
- [29]. Sobaniec W, Kułak W, Sobaniec H, Farbiszewski R, Drozdowski W. Effects of clobazam and vitamin E on the lipid peroxidation in the rat brain after electroconvulsive shock. *Rocz Akad Med Białymst*. 1999; 44:134-40.
- [30]. Alhassan AW, Mohammed DK, Saleh MI, Mshelia PP, Yarube IU, Lawan I. Combined effect of sodium valproate and ascorbic acid on pentylenetetrazole-induced seizures in mice. *BAJOPAS*. 2017; 10(1): 47-50.

Investigation the effect of sodium valproate in the presence of vitamin C and E on seizure induced by strychnine in adult rat

Raha Zalkhani^{1*}, Ahmad Ali Moazedi^{1,2}, Hossein Najafzadehvarzi³

1. Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran (ORCID: 0000-0003-2708-5254)
2. Stem Cell and Transgenic Technology Research Center, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran | Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Abstract

Background Epilepsy is one of the most common neurological diseases. Taking high doses of some drugs leads to excessive free radical's increase and brain damage. Therefore, in this study for better control of seizure with less side effects, the effect of combine low dose of sodium valproate with vitamin C and E on seizure induced by strychnine in adult rat was evaluated.

Materials & Methods In this experimental study, 49 Wistar rats were divided into 7 groups: sham (saline: 1 ml/kg), sodium valproate (100 or 200 mg/kg), Vitamin C (250 mg/kg), vitamin E (100 mg/kg) and sodium valproate with vitamin C or vitamin E groups. For induction of seizure, 30 min after intraperitoneal administration of saline or drugs, strychnine was injected, subcutaneously. Then convulsion onset time and death time and survival rate were recorded.

Results Sodium valproate with doses of 100 and 200 mg/kg delayed the convulsion onset time and death time significantly compared to the control group and the survival rate was 36% and 100%, respectively. The combination of sodium valproate and vitamin C significantly increased the time to start seizure ($P=0.000$) and death ($P=0.006$) than the sham group and the survival rate was 57%. Also, sodium valproate in the presence of vitamin E delayed the onset of seizure ($P=0.024$) and the death time ($P=0.000$) compared to the sham group significantly and 66% of the rats survived.

Conclusion The use of low dose of sodium valproate with vitamins C or E increases the anticonvulsant activity of the drug.

Received: 2018/06/03

Accepted: 2018/08/14

Keywords: sodium valproate, strychnine, rats, seizure, Vitamin C, Vitamin E.