دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و پنجم، شماره ۲، صفحه ۱۰۴-۹۳ (خرداد و تیر ۱۴۰۱)

Iran South Med J 2022; 25(2): 93-104

اثر آمی‌تریپتیلین بر استرس اکسیداتیو ناشی از القاء پنتیلن تترازول در موش‌های صحرایی نر صرعی نژاد ویستار

ناصر میرازی (PhD)[1*]، سهیلا نیازی (MSc)[1]، عبدالکریم حسینی (PhD)[2]، زهرا ایزدی (PhD)[3]

[1] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
[2] گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
[3] گروه علوم و مهندسی باغبانی، مجتمع آموزش عالی نهاوند، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۱۷- پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۳/۲۲)

چکیده

زمینه: صرع دارویی می‌تواند بر اثر برخی از داروها و عوامل شیمیایی ایجاد گردد. مواد اکسید کننده از جمله ترکیبات شیمیایی ایجاد کننده صرع محسوب می‌گردند. هدف از این بررسی اثرات ضد تشنجی و آنتی‌اکسیدانی آمی‌تریپتیلین در موش‌های صحرایی نر القاء شده با پنتیلن تترازول (PTZ) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی ۲۸ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. موش‌ها در ۴ گروه ۷ سری به‌طور تصادفی تقسیم شدند: کنترل بکر (۰/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین)، گروه کنترل تشنج (PTZ، ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، گروه تجربی ۱ (PTZ+ آمی‌تریپتیلین، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، گروه تجربی ۲ (PTZ+ آمی‌تریپتیلین، ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن). تمامی تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام شد. در پایان آزمایش، موش‌ها توسط کتامین و زایلازین بیهوش گشته و بطور مستقیم نمونه‌های خون تهیه و سپس سرم آن‌ها جدا گردید. نشانگرهای استرس اکسیداتیو مانند GPx، MDA، NO و GSH اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست آمده آزمون‌ها با استفاده از تست آماری ANOVA یک طرفه و آزمون Tukey برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که تأخیر در حرکات میوکلونیک در گروه‌های درمان شده با آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه PTZ افزایش پیدا کرد. همچنین تأخیر تشنج عمومی تونیک کلونیک در گروه‌های درمان شده نسبت به گروه PTZ افزایش پیدا کرد. علاوه بر این، سطح سرمی GSH و GPx در گروه PTZ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد. سطح سرمی MDA و NO در گروه PTZ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: آمی‌تریپتیلین قادر است میزان تشنجات ناشی از تزریق PTZ در موش‌ها کاهش دهد. همچنین این دارو تأثیر مثبتی بر جلوگیری از عوامل اکسید کننده در موش‌ها دارد.

واژگان کلیدی: آمی‌تریپتیلین، آنتی اکسیدان، پنتیلن تترازول، صرع، گلوتاتیون پراکسیداز، مالون دی آلدهید

* همدان، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

E.mail: mirazi205@gmail.com
* ORCID: 0000-0002-8664-3220

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]

[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

مقدمه

صرع یک اختلال بسیار پیچیده نوروژنیک مزمن می‌باشد که تقریباً بیش از یک درصد از جمعیت جهان از آن رنج می‌برند. این بیماری با فعالیت خود به خودی و برگشتی مشخص می‌شود که ناشی از فعالیت‌های بیش از حد مغز است (۱). در بیماری صرع تشنج‌های صرعی ظاهر می‌شود. این تشنج‌ها به‌عنوان یک عملکرد غیرطبیعی و ناگهانی در بدن دیده می‌شود و غالباً با از دست دادن هوشیاری، افزایش در فعالیت عضلات، اختلال حافظه، اختلالات عصبی و احساسات غیرطبیعی همراه است (۲). تشنج‌های صرعی ممکن است بعد از آسیب‌های حاد دستگاه عصبی مرکزی ایجاد شود (مثل آسیب‌های ساختاری، سیستمی، سمی یا متابولیکی). این تشنج‌های حاد علامتی یا تحریک شده به‌عنوان تظاهرات آسیب‌های حاد در نظر گرفته شده است (۳). بر اساس علائم بالینی و ناهنجاری‌های موجود در نوار مغز، تشنج‌های منتشر به انواع غیابی (Absence seizure)، تونیک - کلونیک، میوکلونیک، آتونیک، تونیک و کلونیک تقسیم می‌شوند (۴).

اعتقاد بر این است که کاربامازپین و فنی‌توئین که جزو داروهای رایج ضد صرعی (Anti Epilepsy Drugs ،AEDs) هستند، باعث بلوکه شدن بلند مدت کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ و یا حفظ حالت غیرفعال بودن این کانال‌ها، می‌شوند. مرسوم‌ترین داروهایی که برای کنترل تشنج در اختلال صرع به کار می‌روند والپروات سدیم و فنی‌توئین می‌باشد. اما این داروها باعث اختلال حافظه و یادگیری می‌شوند (۵). در مطالعات بسیاری پیشنهاد شده است که اختلالات میانجی‌های عصبی مانند گلوتامات و گابا و یا گیرنده‌های آن‌ها، در آسیب‌شناسی صرع نقش بسزایی دارند (۶ و ۷). جدیدترین و متداول‌ترین داروهای ضدصرع که انواع مختلف تشنج با آن‌ها کنترل می‌شود، نه تنها قادر به کنترل تشنج در برخی از بیماران نیستند، بلکه باعث بروز عوارض جانبی هم می‌شوند (۸). آمی‌تریپتیلین (Amitriptyline ،AMT) داروی مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration ،FDA) بوده که برای درمان افسردگی در بزرگسالان مصرف می‌گردد. این دارو دارای اثرات فارماکولوژیک فراوانی می‌باشد (۹). این دارو در طبقه‌بندی داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای قرار می‌گیرد. این داروها از جذب مجدد انتقال دهنده‌های عصبی مانند سرتونین و نوراپی نفرین جلوگیری می‌کند. ساختار مرکزی سه حلقه‌ای‌ها، همراه با یک زنجیره‌ی جانبی، ساختار اصلی داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای‌ها را تشکیل می‌دهد. در کل جمعیت طبیعی بشر، شیوع اختلال یادگیری ۵ درصد می‌باشد. درحالی‌که شیوع اختلال یادگیری در افراد مبتلا به صرع در حدود ۲۰ تا ۲۵ درصد می‌باشد (۱۰). به صورت عمده AMT به انتقال دهنده‌های سروتونین و نورآدرنالین متصل می‌شود. خواص فارماکولوژیک دیگر این دارو در اعصاب مرکزی و محیطی شامل آگونیست گیرنده آلفا آدرنرژیک، فعال‌سازی سیستم اوپیوئیدی درونزاد، آنتاگونیست گیرنده NMDA، فعال‌سازی گیرنده GABA، کاهش تولید TNF-α و پروستاگلاندین E2 است (۱۱).

پنتیلن‌تترازول (Pentylenetetrazole ،PTZ)، یک آنتاگونیست گیرنده‌های گابا می‌باشد و برای القای تشنج‌های غیابی و منتشر کاربرد دارد. تزریق زیرجلدی پنتیلن‌تترازول با دوز ۸۵-۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در موش‌های صحرایی باعث تشنج‌های کلونیک در ۹۷ درصد از حیوانات می‌گردد و می‌تواند حداقل به مدت

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]
[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

پنج ثانیه ادامه داشته باشد. با تزریق این دارو بادوزهای پایین (۳۵-۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) می‌توان تشنج‌های غیابی را القا کرد. پنتیلن تترازول تعادل بین نوروترانسمیترهای تحریکی و مهاری را برهم میزند و این اتفاق به کمک انسداد گیرنده‌های گابا صورت می‌گیرد (۱۲). استفاده بلند مدت از پنتیلن تترازول می‌تواند باعث تغییر آرایش فضایی کمپلکس گیرندهٔ گابا شود. این تغییرات در فعالیت کانال‌های کلری و اتصال گابا به گیرنده اختلالاتی را ایجاد می‌کند. استرس اکسیداتیو به عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و عوامل آنتی‌اکسیدانی در بدن طلاق می‌گردد. گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) توسط برخی داروها و مواد شیمیایی تولید شده و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل استرس اکسیداتیو موجب آسیب به بافت‌های بدن می‌شود (۱۳). پنتیلن تترازول می‌تواند در مدل‌های حیوانی صرعی موجب افزایش عوامل استرس اکسیداتیو بشود. حاصل این اثرات افزایش نشانگرهای پلاسمایی مانند مالون د آلدهید (MDA) و کاهش گلوتاتیون (GSH) گردد (۱۴). اکثر تشنجات ناشی از صرع در اثر اختلال در ساختارهای قشری وهیپوکمپی تولید شده و این امر موجب اختلال در حافظه فضایی کاری جوندگان و حافظه اظهاری انسان گردد (۱۵). داروهای ضدافسردگی به‌خصوص ضدافسردگی‌های سه حلقه‌ای، برای کاهش شدت درد از جمله دردی‌هایی که بر اثر آسیب بافتی ناشی از محرک‌های مکانیکی، فیزیکی، گرمایی، توکسیک یا غیرتوکسیک ایجاد می‌شود و دردهای نوروپاتیک ناشی از فشار بر روی عصب یا ریشه‌ی آن، یا دردهای حاد و مزمنی که پس از قطع یا التهاب عصب (در اثر ضایعات التهابی و پلی نوروپاتی) ایجاد می‌شود به کار می‌روند (۱۶).

از آنجائی که تاکنون در ارتباط با اثرداروی آمی‌تریپتیلین در ممانعت از بروز صرع و تثبیت حافظه و یادگیری در مدل‌های حیوانی صرعی شده با پنتیلن تترازول تحقیقی صورت نگرفته است تصمیم گرفته شد تا با این پژوهش به بررسی چنین اثراتی پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه با رعایت کلیه موارد اخلاقی در پژوهش و رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تأکید کمیته اخلاق دانشگاه بوعلی سینا و با مصوبه و کد ۰۰۲، ۱۴۰۰، IR.BASU.REC به انجام رسید. تمامی اعمال جراحی و نمونه برداری‌ها در حیوانات، تحت بیهوشی کامل آن‌ها صورت گرفت. در این پژوهش تجربی تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدودهٔ وزنی ۲۵۰—۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط و با دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد و با چرخه روزانه ۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. همه آزمایشات برای کاهش اثر چرخه نور بر حساسیت به تشنج بین ساعت ۱۲—۹ صبح انجام شد. روش انجام شده بر روی حیوانات مورد آزمون، روش استریوتایپینگ می‌باشد (۱۷). در این روش رفتار حرکتی حیوانات در هر گروه با انتقال موش‌ها به جعبه پلاستیکی شفاف، توسط دوربین متصل به کامپیوتر به مدت نیم ساعت پس از تزریق PTZ (Sigma-Aldrich, Kimia Zistgostar Novin Co.) ثبت و ذخیره شد. تأخیر و تعداد تکان‌های میوکلونیک، همچنین تأخیر و مدت زمان تشنج تونیک – کلونیک ژنرالیزه (GTCS) در حیوانات بر اساس جدول مقیاس راسین ارزیابی شدند (جدول ۱). پس از ثبت نتایج مربوط به تشنجات تونیک و کلونیک، حیوانات توسط داروی کتامین هیدروکلراید (ALMANIA،

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]
[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

BREMER PHARMA، Ketamin10%) با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گزیلازین هیدروکلراید (Netherland، alfasan، Xylazine 2%) با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. سپس اقدام به تهیه نمونه خون به‌طور مستقیم از قلب حیوانات شد و پس از سانتریفیوژ، سرم نمونه‌ها جدا گردید. برای اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، مالون دی آلدهید (MDA)، از کیت‌های نوین نوند سلامت ایران استفاده شد. مقادیر آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و گلوتاتیون (GSH) با توجه به دستورالعمل موجود در کیت‌ها و در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند. همچنین جهت اندازه‌گیری مقدار مالون دی آلدهید در طول موج ۵۳۲ نانومتر و مقدار نیتریک اکساید (NO) در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند. تمامی آزمون‌ها توسط دستگاه میکروپلیت خوان (USA، Biote Tek ELx808) صورت گرفت.

گروه‌بندی حیوانات

موش‌ها به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۷ سری به صورت زیر تقسیم‌بندی شدند:

۱- **گروه کنترل بکر:** (۰/۵ میلی‌لیتر، سالین نرمال داخل صفاقی)

۲- **گروه کنترل تشنج:** (گروه دریافت کننده پنتیلن تترازول): دریافت کننده پنتیلن تترازول (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی)

۳- **گروه تجربی ۱:** دریافت کننده پنتیلن تترازول (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن + آمی‌تریپتیلین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی)

۴- **گروه تجربی ۲:** دریافت کننده پنتیلن تترازول (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن + آمی‌تریپتیلین ۲۰ میلی-گرم بر کیلوگرم وزن بدن) تشنج در موش‌ها به صورت تزریق داخل صفاقی پنتیلن تترازول به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ایجاد شد (۱۵). سپس محلول‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن آمی‌تریپتیلین تهیه و به صورت تزریق داخل صفاقی (با حجم ۰/۵ میلی‌لیتر) صورت گرفت. به منظور ثبت و اندازه‌گیری رفتار تشنجی، حیوانات به صورت انفرادی به جعبه‌های شفاف پلاستیکی منتقل شدند و به سرعت بعد از تزریق پنتیلن تترازول رفتار تشنجی به مدت ۱ ساعت مشاهده و ثبت شد. تظاهرات ثبت شده با مقیاس راسین (Racine's Scale) پس از تزریق پنتیلن تترازول در شش مرحله مورد بررسی قرار گرفت (۱۶). این مراحل در جدول ۱ مشاهده می‌گردد.

جدول ۱) مقیاس راسین برای تشنج ناشی از تزریق PTZ در موش‌های صحرایی

تظاهرات رفتاری	نمره
۱) علامت رفتاری ندارد	۰
۲) انقباض گوش و صورت	۱
۳) تکان دادن سر و تکان های میوکلونیک	۲
۴) کلونوس یک طرفه پیشانی با حالت لوردیک	۳
۵) کلونوس دوطرفه با رشد و سقوط	۴
۶) تشنجع عمومی تونیک کلونیک با از دست دادن حالت وضعیتی	۵

تجزیه و تحلیل آماری

در این بررسی شاخص‌های توصیفی خطای معیار ± میانگین به صورت نمودار نشان داده شده است. با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk نرمال بودن داده‌ها مورد آزمون و صحت آن‌ها مورد تأئید قرار گرفت. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، از ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار GraphPad Prism استفاده شد. در همه تجزیه و تحلیل‌ها، سطح معنی‌داری آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

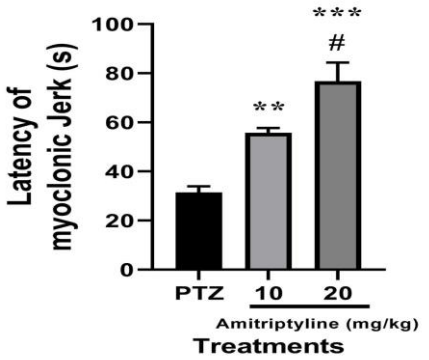
[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]

[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

یافته‌ها

- تأثیر آمی‌تریپتیلین بر تشنج ناشی از تزریق داروی پنتیلن تترازول **(تأخیر در بروز تشنج انقباضات میوکلونیک)**

نتایج تأخیر انقباض میوکلونیک در گروه‌های مورد آزمایش نشان داد که تأخیر در حرکات میوکلونیک در گروه‌های درمان شده با آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه کنترل تشنج افزایش معنی‌داری را پیدا کرده است. در گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، تأخیر در حرکات میوکلونیک نسبت به کنترل تشنج با افزایش معنی‌دار (p=۰/۰۰۹) و در گروه درمانی با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، با افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) همراه بود. تأخیر در حرکات میوکلونیک در گروه درمانی با مقدار کم نسبت به مقدار زیاد اختلاف معنی‌داری (p=۰/۰۲۳) همراه بود (نمودار ۱).

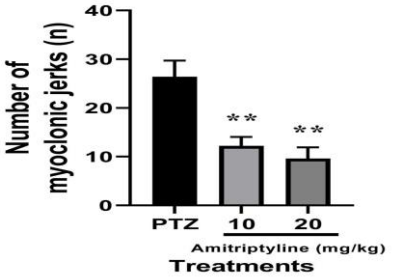


نمودار ۱) مقایسه میانگین زمان تأخیر انقباضات میوکلونیک (Latency of myoclonic jerks) در گروه‌های مورد آزمون.
* نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به کنترل تشنج. # نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین (*p<۰/۰۵).

Fig 1) Comparison of mean delay time of myoclonic contractions (Latency of myoclonic jerks) in the test groups.* Indicates a significant difference in seizure control. # Indicates a significant difference compared to treatment group with low dose of amitriptyline (*p <0.05).

- تعداد حرکات میوکلونیک (Number of Myoclonic Jerk)

در گروه‌های مورد آزمون نتایج حاصل شده از تعداد حرکات میوکلونیک نشان داد که در گروه‌های درمان شده با آمی‌تریپتیلین کاهش معنی‌داری در تعداد حرکات نسبت به کنترل تشنج ایجاد شد (p=۰/۰۰۵). تعداد حرکات در بین گروه‌های درمانی با مقادیر کم و زیاد فاقد اختلاف معنی‌دار شد (p=۰/۷۵۹)، (نمودار ۲).



نمودار ۲) مقایسه میانگین تعداد حرکات میوکلونیک (Number of myoclonic jerks) در گروه‌های مورد آزمون.
* نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به کنترل تشنج (*p<۰/۰۵).

Fig 2) Comparison of the average number of myoclonic movements (Number of myoclonic jerks) in the test groups.*Indicates a significant difference compared to seizure control (*p <0.05).

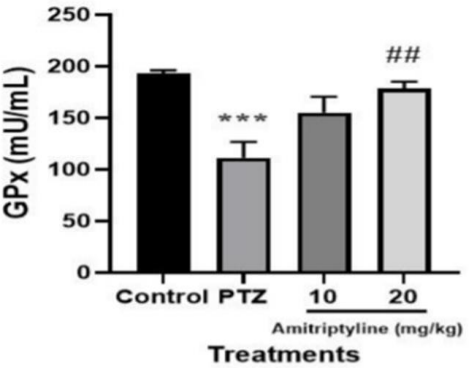
- نشانگرهای استرس اکسیداتیو

- اثر آمی‌تریپتیلین بر سطح سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

در گروه‌های مورد آزمون نتایج مقدار سطح سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نشان داده شد که میزان آنزیم فوق در گروه دریافت کننده پنتیلن تترازول نسبت به گروه کنترل از کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) برخوردار است. در گروه‌های درمان شده با آمی‌تریپتیلین میزان سطح سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز افزایش پیدا کرد. در گروه درمان شده با مقدار کم آمی‌تریپتیلین افزایش سطح سرمی آنزیم

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]
[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت کننده پنتیلن تترازول فاقد اختلاف معنی‌دار بود. اما در گروه درمانی با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین افزایش سطح سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌دار شد ولی نسبت به گروه کنترل تشنج دارای افزایش معنی‌دار (p=۰/۰۰۴) بود (نمودار ۳).

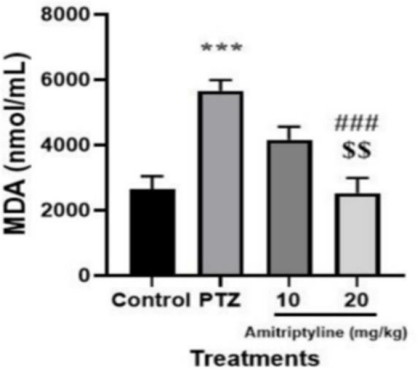


نمودار ۳) مقایسه میانگین سطح سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) در موش‌های مورد آزمون. * نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل. # نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به کنترل تشنج. (*p<۰/۰۵).

Fig 3) Comparison of mean serum levels of glutathione peroxidase (GPx) in rats.* Indicates a significant difference compared to the control group. # Indicates a significant difference compared to seizure control. (*p<0.05).

- اثر آمی‌تریپتیلین بر سطح سرمی مالون‌دی‌آلدهید (MDA)

در گروه‌های مورد آزمون سطح سرمی مالون دی آلدهید نشان داد که میزان مالون دی آلدهید در گروه کنترل تشنج نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). میزان مالون دی آلدهید در گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه کنترل و همچنین گروه کنترل تشنج تفاوت معنی‌داری نداشتند. اما در گروه درمانی با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین سطح سرمی مالون دی آلدهید نسبت به گروه کنترل تشنج (p<۰/۰۰۱) و نسبت به گروه مقدار کم آمی‌تریپتیلین کاهش معنی‌داری (p=۰/۰۴۶) را نشان داد (نمودار ۴).



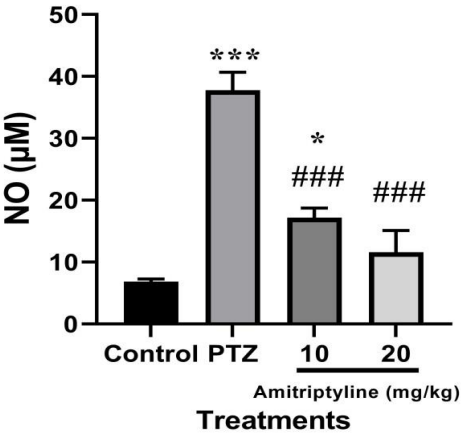
نمودار ۴) مقایسه میانگین سطح سرمی مالون دی آلدهید (MDA) در موش‌های مورد آزمون. * نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، # نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به کنترل تشنج و $ نشانگر اختلاف معنی‌دار باگروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین. (*p<۰/۰۵).

Fig 4) Comparison of mean serum malondialdehyde (MDA) levels in rats tested. *Indicates a significant difference compared to the control group. # Indicates a significant difference compared to seizure control and $ indicates a significant difference with the treatment group with low dose of amitriptyline. (*p<0.05).

- اثر آمی‌تریپتیلین بر سطح سرمی نیتریک اکسید (NO)

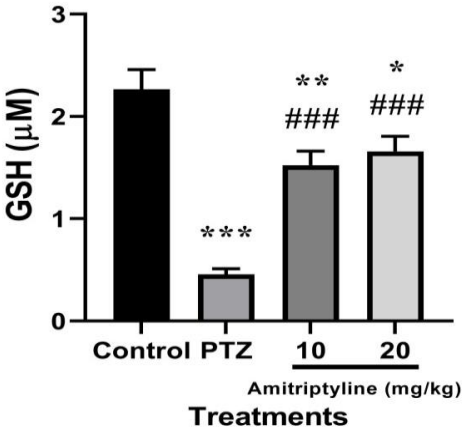
سطح سرمی نیتریک اکساید در گروه کنترل تشنج به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرد (p<۰/۰۰۱). در گروه درمان شده با آمی‌تریپتیلین با مقادیر کم، سطح سرمی نیتریک اکساید نسبت به گروه کنترل از افزایش معنی‌داری برخوردار بود (p=۰/۰۳۶). اما در گروه نسبت به گروه دریافت کنترل تشنج از کاهش معنی‌داری برخوردار شد (p<۰/۰۰۱). سطح سرمی نیتریک اکساید در گروه درمان شده با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌دار بود (نمودار ۵).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]
[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]



نمودار ۵) مقایسه میانگین سطح سرمی نیتریک اکساید (NO) در موش‌های مورد آزمون. * نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل. # نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به کنترل تشنج. (*p<۰/۰۵).

Fig 5) Comparison of mean serum nitric oxide (NO) levels in rats tested. *Indicates a significant difference compared to the control group. #Indicates a significant difference compared to seizure control. (*p<0.05).



نمودار ۶) مقایسه میانگین سطح سرمی گلوتاتیون (GSH) در موش‌های مورد آزمون. * نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل. # نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به کنترل تشنج. (*p<۰/۰۵).

Fig 6) Comparison of mean serum glutathione (GSH) levels in rats tested. *Indicates a significant difference compared to the control group. #Indicates a significant difference compared to seizure control. (*p<0.05).

- اثر آمی‌تریپتیلین بر سطح سرمی گلوتاتیون (GSH)

سطح سرمی گلوتاتیون در خون موش‌های گروه‌های مورد آزمون نشان داد که میزان گلوتاتیون در خون موش‌های گروه کنترل تشنج نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (p<۰/۰۰۱). میزان گلوتاتیون در گروه درمان شده با مقادیر کم و زیاد آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۰۱). اما در گروه‌های درمان شده سطح سرمی گلوتاتیون نسبت به گروه کنترل از کاهش معنی‌داری برخوردار بودند (p=۰/۰۰۹). سطح سرمی گلوتاتیون در گروه‌های درمان شده نسبت به هم فاقد اختلاف معنی‌دار بود. (نمودار ۶).

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که پنتیلن تترازول موجب بروز تشنج در مدل‌های حیوانی صرع می‌شود. آمی‌تریپتیلین تا حد قابل قبولی از بروز تشنج در حیوانات مورد آزمون کاهش ایجاد کرد. تصور می‌شود آمی‌تریپتیلین احتمالاً توانسته باشد در رقابت با پنتیلن تترازول بر سر اشغال کانال‌های یونی گابارژیکی، موجب بی‌اثر شدن اثرات پنتیلن تترازول گردد. از عوامل ایجاد تشنج و همچنین تغییرات رفتاری ناشی از آن، استرس اکسیداتیو و انحراف گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) از حالت عادی آن است (۱۸). مغز به‌طور خاص، به دلیل مصرف بالای اکسیژن و همچنین وجود اسیدهای چرب غیراشباع در برابر استرس اکسیداتیو آسیب‌پذیر است. گلوتاتیون در سلول‌های مغزی سنتز می‌شود و نقش‌های متعددی از جمله پاک کننده رادیکال‌های آزاد، تعدیل کننده ردوکس و انتقال دهنده عصبی را در سیستم عصبی مرکزی ایفا می‌کند. کاهش سرمی گلوتاتیون

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]
[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

می‌تواند استرس اکسیداتیو را افزایش دهد. سطوح فیزیولوژیکی گونه‌های اکسیژن فعال در سلول‌ها، توسط سیستم‌های آنزیمی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD، Superoxide dismutase)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و کاتالاز (CAT) و سیستم‌های غیرآنزیمی مانند ویتامین C، ویتامین E، کاروتن، سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی کوآنزیم Q، ملاتونین و اشکال احیا شده گلوتاتیون کاهش پیدا می‌کند (۱۹). در مطالعه‌ای که توسط انوشا و همکاران انجام شد سمیت نانوذره نیکل بر میزان آنتی اکسیدان کل و همچنین سطح سرمی مالون دی آلدهید و گلوتاتیون بررسی شد. نانوذره نیکل باعث افزایش مالون د آلدهید و کاهش سطح سرمی آنتی اکسیدان تام وگلوتاتیون شد که نشان دهنده تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌باشد (۲۰). در مطالعه حاضر، نتایج نشان دهنده کاهش سطح سرمی گلوتاتیون و افزایش نیتریک اکساید بعد از تزریق پنتیلن تترازول بود. نتایج این مطالعه، همسو با نتایج حاصل از تحقیقات اخیر است که نشان می‌دهد تزریق پنتیلن تترازول در مدل‌های حیوانی سبب افزایش استرس اکسیداتیو و افزایش سطح سرمی نیتریک اکساید و کاهش سطوح آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۲۱). داروهای ضد صرع جدید بیشتر متمرکز بر کاهش روند اکسیداسیون در مغز و نورون‌ها هستند. در مطالعه نازیروگلو (Naziroglu) و همکاران، مشخص شد که داروهای جدید ضد صرع (مانند توپیرامات و زونیسامید) اثرات پاک‌کننده‌ای بر تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال در انسان و حیوانات دارند (۲۲).

نتایج این پژوهش نشان داد که سطح سرمی مالونیل دی آلدهید افزایش و گلوتاتیون پراکسیداز کاهش پیدا نمود. این نتایج مشابه با بسیاری از نتایجی است که نشان دادند متعاقب تزریق پنتیلن تترازول در مدل‌های حیوانی در اثر افزایش استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی افزایش و سطح آنتی‌اکسیدانی کاهش پیدا کرده‌اند (۲۳). مشخص شده است که استرس اکسیداتیو در تغییر مسیر سیگنالینگ نیتروژن واکنش‌پذیر (RNS، Reactive Nitrogen signaling)، گونه‌های اکسیژن فعال و نیتریک اکساید شرکت دارد (۲۴).

تاکنون اثرات آمی‌تریپتیلین بر نیتریک اکسید و گلوتاتیون احیا در وضعیت صرع گزارش نشده است. باتوجه به یافته‌ها در مطالعه حاضر، اثرات مثبت آمی‌تریپتیلین بر تشنج را می‌توان تا حدی به خواص آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داد. مطالعه حاضر برای اولین بار اثرات آنتی‌اکسیدانی آمی‌تریپتیلین را مورد بررسی قرارداد. گلوتاتیون نقش مهمی در کاهش استرس اکسیداتیو، حفظ تعادل ردوکس، افزایش سم زدایی متابولیک و تنظیم سیستم ایمنی بدن را دارد. گلوتاتیون در داخل سلول‌ها در حالت‌های کاهش یافته یا احیا شده و یا اکسید شده که به آن فرم دی سولفید (GSSG) نیز می‌گویند، وجود دارد. در سلول‌ها و بافت‌های سالم بیش از ۹۰ درصد کل گلوتاتیون در فرم کاهش یافته است. در حالی که کمتر از ۱۰ درصد در فرم دی سولفید گلوتاتیون وجود دارد. کاهش گلوتاتیون می‌تواند استرس اکسیداتیو را افزایش دهد. همچنین ممکن است سطح سمیت تحریکی مولکول‌ها را افزایش دهد. هر دو عمل می‌توانند مرگ سلولی را در سلول‌های عصبی مشخص در پی داشته باشند (۲۵).

رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط واکنش‌های آنزیمی خارج از میتوکندری نظیر گزانتین اکسیداز، نیتریک اکسید سنتتاز، سیکلواکسیژناز، لیپواکسیژناز، سیتوکروم p450 و NADPH اکسیداز هم تولید می‌شوند. برای

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]
[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

کنترل نوروژنز ناشی از تشنج می‌توان آنزیم‌های فوق را مورد هدف قرار داد (۲۶). میزان بیش از حد نیتریک اکساید در مغز با آسیب بافتی و فرآیندهای تحلیل عصبی مرتبط است. در سیستم عصبی مرکزی و محیطی، نیتریک اکساید از طریق اثر آنزیم nNOS بر آرژینین تولید می‌شود. مهار آنزیم nNOS از طریق تولیدات دارویی می‌تواند درمانی امیدوارکننده برای برخی از انواع بیماری‌های عصبی باشد (۲۷). نیتریک اکساید در مغز از L- آرژینین توسط نیتریک اکساید سنتاز تولید می‌شود و در تنظیم عملکردهای متعدد در اندام‌های مختلف شرکت می‌کند. از واکنش نیتریک اکساید با رادیکال سوپراکسید (-O2)، پراکسی نیتریت تشکیل می‌شود که در نهایت در طول استرس اکسیداتیو به DNA، لیپید و پروتئین آسیب می‌رساند (۲۸). همچنین گزارش شده است که نیتریک اکساید در تشنج‌های ناشی از پنتیلن تترازول افزایش می‌یابد (۲۹). هم راستا با مطالعه حاضر، در پژوهش انجام شده توسط تاسکیران (Taskiran) و همکاران، که به بررسی اثرات لیکوپن برمیزان نیتریک اکساید پرداخته است، مشخص شد که لیکوپن، میزان iNOS، nNO و نیتریک اکساید را در قشر و هیپوکامپ پس از تشنج‌های صرعی ناشی از تزریق پنتیلن تترازول کاهش داده است (۳۰).

در این تحقیق با استفاده از مقادیر کم و زیاد آمی‌تریپتیلین، سطح سرمی نیتریک اکساید در گروه‌های درمان شده با آمی‌تریپتیلین به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. به نظر می‌رسد که آمی‌تریپتیلین توانسته باشد در مهار آنزیم‌های مؤثر در سنتز نیتریک اکساید نقش تأثیرگذاری داشته باشد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که آمی‌تریپتیلین از نظر آماری تأثیر قابل توجهی در تظاهرات رفتار تشنجی در مقایسه با گروه دریافت کننده پنتیلن تترازول داشت. علاوه بر این نشان داده شده که درمان موش‌های صرعی شده با آمی‌تریپتیلین سبب می‌شود که سطح سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در مقایسه با گروه دریافت کننده پنتیلن تترازول به تنهایی افزایش پیدا کند. این آنزیم نقش مهمی در محافظت ارگان‌های سلولی در برابر استرس اکسیداتیو دارد. بنابراین می‌توان چنین احتمال داد که آمی‌تریپتیلین در مهار مسیرهای اکسیدانی داخل سلولی مداخله نموده و تولید گونه‌های فعال اکسیژنی را مهار می‌کند. اینکه چگونه آمی‌تریپتیلین توانسته باشد در افزایش گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش مالونیل دی‌آلدهید نقش داشته باشد گزارشی در دست نیست و لذا نیاز به مطالعات بیشتری در این خصوص می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر نشان داده شد که اثرات محافظت‌کنندگی عصبی داروی آمی‌تریپتیلین در موش‌های صرعی شده توسط پنتیلن تترازول وجود دارد. این دارو قادر است در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد شده در حین تشنج نقش محافظت کنندکی داشته باشد.

سپاس و قدردانی

این مقاله بر گرفته شده از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی با گرایش فیزیولوژی جانوری می‌باشد که در دانشگاه بوعلی سینا همدان بانجام رسیده است. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا بابت کمک‌های مالی که در قالب گرنت پژوهشی صورت پذیرفته است نهایت تشکر و قدردانی را نمایند.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]

[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان مقاله بیان نشده است.

References:

1.Kumar A, Lalitha S, Mishra J. Possible Nitric Oxide Mechanism In The Protective Effect Of Hesperidin Against Pentylenetetrazole (PTZ)-Induced Kindling And Associated Cognitive Dysfunction In Mice. Epilepsy Behav 2013; 29(1): 103-11.

2.Sunhaya S, Manimegalai P. Detection Of Epilepsy Disorder in EEG Signal. Int J Emerg Develop 2012; 2(2): 473-9.

3.Beghi E, Carpio A, Forsgren L, et al. Recommendation For A Definition Of Acute Symptomatic Seizure. Epilepsia 2010; 51(4): 671-5.

4.Davidson L, Derry C. Seizure Classification Key To Epilepsy Management. Practitioner 2015; 259(1785): 13-9.

5.Mishra A, Goel RK. Adjuvant Anticholinesterase Therapy For The Management Of Epilepsy-Induced Memory Deficit: A Critical Pre-Clinical Study. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2014; 115(6): 512-7.

6.Rico-Villademoros F, Slim M, Calandre EP. Amitriptyline For The Treatment Of Fibromyalgia: A Comprehensive Review. Expert Rev Neurother 2015; 15(10): 1123-50.

7.Akyuz E, Polat AK, Eroglu E, et al. Revisiting The Role Of Neurotransmitters In Epilepsy: An Updated Review. Life Sci 2021; 265: 118826.

8.Perucca P, Gilliam FG. Adverse Effects Of Antiepileptic Drugs. Lancet Neurol 2012; 11(9): 792-802.

9.Kazmi Z, Zeeshan S, Khan A, et al. Anti-Epileptic Activity Of Daidzin in PTZ-Induced Mice Model By Targeting Oxidative Stress and BDNF/VEGF Signaling. Neurotoxicology 2020; 79: 150-63.

10.Reuber M, Gore J, Wolstenhome J, et al. Examining A Community Model Of Epilepsy Care For People With Learning Disabilities. Seizure 2008; 17(1): 84-91.

11.Sazhina TA, Sitovskaya DA, Zabrodskaya YM, et al. Functional Imbalance Of Glutamate- and GABAergic Neuronal Systems in the Pathogenesis of Focal Drug-ResistantEpilepsy in Humans. Bull Exp Biol Med 2020; 168(4): 529-32.

12.Karimzadeh F, Jafarian M, Gharakhani M, et al. Behavioural And Histopathological Assessment Of The Effects Of Periodic Fasting On Pentylenetetrazol-Induced Seizures In Rats. Nutr Neurosci 2013; 16(4): 147-52.

13.Klaunig JE, Wang Z, Pu X, et al. Oxidative Stress And Oxidative Damage In Chemical Carcinogenesis. Toxicol Appl Pharmacol 2011; 254(2): 86-99.

14.Shehta N, Kamel AE, Sobhy E, et al. Malondialdehyde and superoxide dismutase levels in patients with epilepsy: a case –control study.The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery. 2022; 58(51): https://doi.org/10.1186/s41983-022-00479-5

15.Uysal N, Sisman AR, Dayi A, et al. Acute Footshock-Stress Increases Spatial Learning–Memory And Correlates To Increased Hippocampal BDNF and VEGF And Cell Numbers In Adolescent Male And Female Rats. Neurosci lett 2012; 514(2): 141-6.

16.Salehi M, Mirkhalaf A, Barekatein M. Amitriptyline Efficacy In Control Of Acute Opioid Withdrawal Sundrome. Koomesh 2005; 6(3): 195-200. (Persian)

17.Farhadi E, Mirazi N, Hosseini A. Investigation Of Efficacy Of Asenapine On Passive Avoidance Learning And Memory And Oxidative Stress In Animal Model Of Seizure-Induced With Pentylenetetrazole. Acta Biol Szegediensis 2021; 2(65): 247-52.

18.Olowe R, Sandouka S, Saadi A, et al. Approches For Reactive Oxygen Speices And Oxidative Stress Quantification In Epilepsy. Antooxidants 2020; 9(10): 990.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]

[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

19.Munguia-Martinez MF, Nava-Ruiz C, Ruiz-Diaz A, et al. Immonohistochemical Study Of Antioxidant Enzymes Regulated by Nrf2 in the Models Of Epileptic Seizures (KA and PTZ). Oxid Med Cell Longve 2019; 2019: 1327986.
20-Anoosha F, Seyedalipour B, Hoseini SM.Toxicity of Nickel Nanoparticles and Nickel Chloride on Activity of Antioxidant Enzymes and Level of Lipid Peroxidation in Liver and Serum of Rats. Iran South Med J 2020; 23(1): 14-26.
21.Kawakami Y, Murashima YL, Tsukimoto M, et al. The Roles Of Dominance Of The Nitric Oxide Fractions Nitrate And Nitrite in the Epilepsy-Prone EL Mouse Brain. J Nippon Med Sch 2021; 88(3): 189-93.
22.Nazıroğlu M, Yürekli VA. Effects Of Antiepileptic Drugs On Antioxidant And Oxidant Molecular Pathways: Focus On Trace Elements. Cell Mol Neurobiol 2013; 33(5): 589-99.
23.Hassanzadeh P, Arbabi E, Rostami F. The Ameliorative Effects Of Sesamol Against Seizures, Cognitive Impairment And Oxidative Stress In The Experimental Model Of Epilepsy. Iran J Basic Med Sci 2014; 17(2): 100-7.
24.Patel M. Mitochondrial Dysfunction And Oxidative Stress: Cause And Consequence Of Epileptic Seizures. Free Radic Biol Med 2004; 37(12): 1951-62.
25.Minich DM, Brown BI. A Review of Dietary (Phyto) Nutrients For Glutathione Support. Nutrients 2019; 11(9): 2073.
26.Pearson-Smith JN, Patel M. Metabolic Dysfunction and Oxidative Stress in Epilepsy. Int J Mol Sci 2017; 18(11): 2365.
27.Mirzaei F, Khazaei M. Role Of Nitric Oxide In Biological Systems: A Systematic Review. J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(150): 192-222. (Persian)
28.Tripathi MK, Kartawy M, Amal H. The Role Of Nitric Oxide In Brain Disorders: Autism Spectrum Disorder And Other Psychiatric, Neurological, And Neurodegenerative Disorders. Redox Biol 2020; 34: 101567.
29.Kovács R, Rabanus A, Otáhal J, et al. Endogenous Nitric Oxide Is A Key Promoting Factor For Iinitiation Of Seizure-Like Events In Hippocampal And Entorhinal Cortex Slices. J Neurosci 2009; 29(26): 8565-77.
30.Taskiran AS, Tastemur Y. The Role Of Nitric Oxide In Anticonvulsant Effects Of Lycopene Supplementation On Pentylenetetrazole-Induced Epileptic Seizures In Rats. Exp Brain Res 2021; 239(2): 591-9.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]

[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]

Iran South Med J 2022; 25(2): 93-104

Original Article

Amitriptyline Effects on Pentylentetrazole-Induced Oxidative Stress in Epileptic Male Wistar Rats

***N. Mirazi** (PhD)[1*], **S. Niyazi** (MSc)[1], **A. Hosseini** (PhD)[2], **Z. Izadi** (PhD)[3]*

[1] Department of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
[2] Department of Physiology, School of Basic Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[3] Department of Horticultural Sciences and Engineering, Nahavand Higher Education Complex, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

(Received 8 Mar, 2022 Accepted 12 Jun, 2022)

Abstract

Background: Drug-induced epilepsy can be caused by certain medications and chemical agents. Oxidizing agents are among the chemical compounds that cause epilepsy. The aim of this study was to evaluate the anticonvulsant and antioxidant effects of amitriptyline on pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure in male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 28 male Wistar rats (200-250 g) were used. Rats were randomly divided into four groups (n=7): Control (0.5 ml normal saline), PTZ (PTZ, 60 mg/kg), treatment group 1 (PTZ, 60 mg/kg + amitriptyline, 10 mg/kg), treatment group 2 (PTZ, 60 mg/kg+ amitriptyline, 20 mg/kg). All injections were intraperitoneal. At the end of the experiments, the rats were anesthetized with ketamine hydrochloride (50 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) and their blood samples were directly drawn from the heart and then the sera were isolated. Oxidative stress markers such as GPx, MDA, NO and GSH were measured. The results were statistically analyzed using one-way ANOVA and Tukey's test to examine the differences between the groups.

Results: The results of this study showed that the delay in myoclonic jerks increased in the amitriptyline-treated groups compared to the PTZ group. Also, the delay of general tonic-clonic seizures increased in the treated groups compared to the PTZ group. In addition, serum levels of GSH and GPx in the PTZ group showed a significant decrease compared to the control group. Serum levels of MDA and NO in the PTZ group showed a significant increase compared to the control group.

Conclusion: Amitriptyline is able to reduce the seizures induced by PTZ injection in rats. Also, it showed a suppressing effect on some oxidizing agents in this study.

Keywords: Amitriptyline, Antioxidant, Epilepsy, Glutathione peroxidase, Pentylentetrazole, Malondialdehyde

©Iran South Med J.All right sreserved

Cite this article as: Mirazi N, Niyazi S, Hosseini A, Izadi Z. Amitriptyline Effects on Pentylentetrazole-Induced Oxidative Stress in Epileptic Male Wistar Rats. Iran South Med J 2022; 25(2): 93-104

**Address for correspondence*: Department of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. E.mail: mirazi205@gmail.com
*ORCID: 0000-0002-8664-3220

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-07-09]

[DOI: 10.52547/ismj.25.2.93]