

تحقیقی

اثر حفاظتی کوآنزیم Q10 بر تشنج، حافظه فضایی کوتاه مدت و استرس اکسیداتیو در مدل صرع القا شده به وسیله اسید کاینیک در موش صحرایی

دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد*^۱، دکتر مهرداد روغنی^۲

۱- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران. ۲- استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران.

چکیده

زمینه و هدف: صرع لوب گیجگاهی شایع‌ترین نوع صرع در انسان است. بیماران مبتلا به این نوع صرع از تشنجات غیرقابل کنترل و اختلال در حافظه رنج می‌برند. این مطالعه برای ارزیابی اثر تجویز کوآنزیم Q10 بر تشنج، حافظه فضایی کوتاه مدت و برخی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو هیپوکامپ در صرع القا شده به وسیله اسید کاینیک در موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۸ سر موش صحرایی نر به شش گروه شام، گروه شام تحت تیمار با کوآنزیم Q10 (۱۰ mg/kg/bw)، گروه دریافت کننده اسید کاینیک و گروه‌های دریافت کننده اسید کاینیک تحت تیمار با کوآنزیم Q10 (۲، ۵، ۱۰ mg/kg/bw) تقسیم شدند. کوآنزیم Q10 به صورت داخل صفاقی و روزانه از یک هفته قبل از تزریق داخل هیپوکامپی اسید کاینیک (۴ μg) تجویز شد. رفتار تشنجی موش‌های صحرایی براساس تقسیم بندی Racine و حافظه فضایی کوتاه مدت با استفاده از درصد رفتار تناوبی در ماز Y تعیین گردید. همچنین میزان مالون دی آلدئید، نیتريت و سوپراکسید دیسموتاز در هیپوکامپ نیز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: موش‌های دریافت کننده تشنجات خودبخودی حاد و مزمن نشان دادند. به‌علاوه تجویز اسید کاینیک موجب کاهش درصد رفتار تناوبی (ورودهای موفق و پشت سرهم یا سریالی به‌داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه تایی)، افزایش سطح مالون دی آلدئید، نیتريت و کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در موش‌های دریافت کننده اسید کاینیک در مقایسه با گروه شام شد ($P < 0/05$). پیش‌درمان موش‌های دریافت کننده اسید کاینیک با کوآنزیم Q10، شدت وقوع تشنجات خودبخودی را در آنها کاهش داد ($P < 0/05$). همچنین کوآنزیم Q10 موجب افزایش درصد رفتار تناوب، کاهش میزان مالون دی آلدئید و نیتريت شد ($P < 0/05$)؛ ولی در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اثر معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد پیش‌درمان حیوانات دریافت کننده اسید کاینیک با کوآنزیم Q10 علاوه بر کاهش وقوع تشنجات موجب بهبود حافظه فضایی کوتاه مدت و برخی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ موش صحرایی می‌شود.

کلید واژه‌ها: کوآنزیم Q10، اسید کاینیک، صرع لوب گیجگاهی، ماز Y، مالون دی آلدئید، تشنج

* نویسنده مسؤول: دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد، پست الکترونیکی tmojarad@yahoo.com

نشانی: تهران، بزرگراه شهید همت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن و نمابر ۰۲۱-۸۸۶۲۲۷۰۹

وصول مقاله: ۹۱/۱۱/۷، اصلاح نهایی: ۹۲/۵/۱، پذیرش مقاله: ۹۲/۹/۱۶

مقدمه

موش‌های صحرایی بالغ، تزریق این دارو منجر به تشنجات حاد و زود گذر می‌شود که به دنبال آن حملات تشنجی مزمن و خودبخود ظاهر می‌شوند (۷-۹). فعال شدن گیرنده‌های اسید کاینیک منجر به فرایندهای داخل سلولی شامل فعال شدن آنزیم نیتريك اکسید سنتاز (NOS)، تشکیل رادیکال‌های آزاد، اختلال در عملکرد میتوکندری و واکنش‌های التهابی، بیان سیتوکین‌ها و استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۱ و ۱۰). سیستم اعصاب مرکزی به دلیل داشتن چربی بالا به آسیب‌های منتج از رادیکال‌های آزاد بسیار حساس است. به‌علاوه در بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو از قبیل آلزایمر، پارکینسون و

صرع بعد از سکته مغزی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های نورودژنراتیو است. این بیماری بیش از ۵۰ میلیون نفر را در جهان درگیر ساخته است (۱) که از این تعداد ۴۰ درصد دچار صرع پیچیده پارشیال به‌ویژه صرع لوب گیجگاهی هستند (۳ و ۲). یکی از مشخصه‌های صرع لوب گیجگاهی تشنجات خودبخودی است که منجر به آسیب مغز و مرگ نوروها می‌شود (۴). مدل صرع القا شده به وسیله اسید کاینیک در موش صحرایی دارای شباهت‌های بالینی بسیاری با صرع لوب گیجگاهی در انسان است (۵ و ۶). در

آزمایشگاهی و راهکارهای عملی موجود در داخل کشور رعایت گردید.

موش‌ها به‌طور تصادفی به ۶ گروه شم (SH)، شم تحت تیمار با کوآنزیم Q10 (سیگما، آلمان) (۱۰ mg/kg) (SH+CoQ10)، صرعی (KA)، سه گروه صرعی تحت تیمار با کوآنزیم Q10 (۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (KA+CoQ10) تقسیم شدند. برای صرعی کردن حیوان، اسید کاینیک (۴ μg/۱۰ μl) به صورت یک‌طرفه به‌داخل هیپوکامپ پشتی با مختصات AP، ۴/۱ میلی‌متر عقب بر گاما؛ ML، ۴/۲ میلی‌متر و ۴،۷ میلی‌متر زیر سطح جمجمه تزریق شد. کوآنزیم Q10 روزانه به مدت یک هفته قبل از تزریق اسید کاینیک به صورت داخل صفاقی به حیوانات تجویز شد.

۲۴ ساعت و دو هفته پس از تزریق اسید کاینیک رفتار تشنجی حیوانات به مدت ۵ ساعت در روز مورد بررسی قرار گرفت. بررسی و رتبه‌بندی تشنجات خودبخودی حیوانات صرعی شده براساس تقسیم‌بندی استاندارد Racine (۲۸) انجام شد که شامل ۵ مرحله صفر (بدون هیچ‌گونه واکنش)، مرحله یک (مانتینگ کلیشه‌ای و چشمک زدن و یا کلونوس خفیف صورت)، مرحله ۲ (تکان دادن سر و یا کلونوس صورت)، مرحله ۳ (پرش‌های میوکلونیک در اندام حرکتی جلویی)، مرحله ۴ (تشنجات کلونیک در اندام حرکتی جلویی و بلند شدن بر روی پاها) و مرحله ۵ (تشنجات کلونیک عمومی همراه با از دست دادن تعادل) بود.

نتایج آزمون ماز Y شاخصی از حافظه فضایی کوتاه مدت از نوع باز شناختی (Recognition) در جوندگانی نظیر موش صحرایی است. آزمون Y-maze و اندازه‌گیری رفتار تناوب (alternation behavior) در پایان کار یعنی پس از دو هفته از تزریق اسید کاینیک انجام شد. در این خصوص، میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری، از طریق مشاهده و اندازه‌گیری کردن رفتار تناوب خودبخودی حیوان در یک جلسه کاری مورد بررسی قرار گرفت. ماز مربوط به این آزمون از جنس پلکسی گلاس بود و هر بازو دارای ابعاد ۴۰×۳۰×۱۵ سانتی‌متر بود و بازوها از طریق محوطه‌ای مرکزی به هم متصل شده بودند. برای انجام آزمون هر موش صحرایی در قسمت انتهایی یک بازو قرار داده شد و امکان دسترسی آزاد آن به تمام نواحی ماز در یک دوره زمانی ۸ دقیقه‌ای فراهم بود. تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده کردن، ثبت شد. ورود حیوان به داخل یک بازو، زمانی بود که پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار گرفت. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سرهم (سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه‌تایی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب درصد تناوب از نسبت تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب

صرع، التهاب با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن منجر به مرگ سلول‌های عصبی می‌شود (۱۴-۱۲). یافته‌ها نشان می‌دهد که با فعال شدن بیش از حد گیرنده‌های اسیدهای آمینه تحریکی، فعال تر شدن جمع‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد و پایین نگهداشتن میزان گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن اجتناب‌ناپذیر است (۱۵). لذا در این شرایط موادی با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌توانند اثرات حفاظتی قابل ملاحظه‌ای از خود نشان دهند. کوآنزیم Q10 یک مولکول لیپوفیلیک است که در غشا داخلی میتوکنندری یافت می‌شود و وجود آن در واکنش‌های آنزیمی فسفریلاسیون اکسیداتیو لازم است (۱۶). کوآنزیم Q10، علاوه بر انتقال الکترون‌ها در زنجیره تنفسی میتوکندریایی، در برخی از اعمال اصلی سلول از قبیل انتقال الکترون در غشا پلاسمایی و لیزوزومی (۱۷ و ۱۸)، تعدیل آپوپتوز (۱۹)، انتقال پروتون (۲۰)، مهار پراکسیداسیون لیپیدی (۲۱) و در مواردی به عنوان عامل پرواکسیدان (۲۲) مطرح است. همچنین، در موش‌های فاقد آپوپروپروتین E، کوآنزیم Q10 مانع وقوع آتروسکلروز می‌شود (۲۳ و ۲۴). از طرف دیگر، شواهد بیانگر نقش حفاظتی کوآنزیم Q10 در سلول‌های عصبی است. چنان‌که در شرایط ایسکمی و توکسیستی، کوآنزیم Q10 با مهار استرس اکسیداتیو مانع آسیب رسیدن به هیپوکامپ می‌شود (۲۵). به‌علاوه در موش صحرایی، کوآنزیم Q10 با اثر بر اسیدوز منتج از لاکتات و تولید ATP و تعدیل نسبت فرم اکسید و احیا شده گلوکاتیون و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز اثر حفاظتی خود را در مدل ایسکمی القا شده از طریق آندوتلین اعمال می‌کند (۲۶). از آنجایی که کوآنزیم Q10 به‌عنوان یک جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است؛ در اختلالات منتج از ایسکمی - رپر فیورژن مغز که به‌دنبال تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژنی و متابولیسم غیرطبیعی انرژی حادث می‌شود؛ می‌تواند نقش حفاظتی خود را از طریق بهبود متابولیسم انرژی مغز ایفا نماید (۲۷). لذا در این مطالعه، اثر کوآنزیم Q10 بر مدل صرع القا شده به‌وسیله اسید کاینیک با ارزیابی شدت وقوع تشنجات، شاخص‌های استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ و حافظه کوتاه مدت در موش‌های صحرایی بررسی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۴۸ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس نگهداری شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش دسترسی داشتند. پروتکل‌ها و دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات

کیت SOD Assay Kit (شرکت سیگما، امریکا) و براساس دستورالعمل کیت و با توجه به منابع موجود استفاده شد (۳۰). برای سنجش پروتئین از روش مرسوم برادفورد براساس منابع استفاده شد (۳۱).

نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. برای مقایسه شاخص‌های استرس اکسیداتیو از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و توکی استفاده شد. به‌علاوه، آزمون غیرپارامتریک کروسکال والیس برای آنالیز داده‌های رفتاری مربوط به حافظه فضایی کوتاه‌مدت و آزمون کای‌اسکوئر برای آنالیز رفتار تشنجی به کار رفت. در تمام آزمون‌ها مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شدند.

یافته‌ها

براساس تقسیم‌بندی استاندارد Racine (۲۸)، در ۲۴ ساعت اول پس از تجویز اسید کاینیک به موش‌ها، ۶۰ درصد رتبه ۵، ۲۰ درصد رتبه ۴ و ۲۰ درصد رتبه ۳ را نشان دادند. دو هفته پس از تجویز اسید کاینیک، ۷۰ درصد موش‌ها (۷ موش از ۱۰ موش) رتبه ۵ رفتار تشنجی را نشان دادند. تجویز کوآنزیم Q10 در مقادیر ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درصد وقوع و مرحله ۵ رفتار تشنجی را به ترتیب به مقادیر ۴۰، ۴۰ و ۲۰ درصد کاهش داد (جدول یک).

همانگونه که نمودار یک نشان می‌دهد درصد تناوب در حیوانات صرعی به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از گروه شم است ($P < 0/001$). پیش‌درمان موش‌ها با کوآنزیم Q10 در دو دوز ۲ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه صرعی تفاوت آماری معنی‌داری در درصد تناوب نشان نداد؛ ولی استفاده از دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب افزایش آماری معنی‌داری در درصد تناوب شد ($P < 0/01$). به‌علاوه تجویز کوآنزیم Q10 ۱۰ mg/kg به گروه شم، تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه شم به‌وجود نیاورد. از نظر تعداد کل بازوی وارد شده برای هر موش که می‌تواند شاخصی از میزان توانایی حرکتی حیوان باشد؛ در عمل تفاوت معنی‌داری میان گروه‌ها یافت نشد.

در موش‌های دریافت‌کننده اسید کاینیک در مقایسه با گروه شم میزان مالون‌دی‌آلدئید ($40/49 \pm 0/40$ ng/mg protein) و نیتريت ($14/45 \pm 0/35$ nmol/mg protein) افزایش و فعالیت آنزیم

(۲-تعداد کل بازوهای وارد شده) $\times 100$ محاسبه شد (۲۹).

پس از پایان کار و کشتن حیوانات با رعایت اصول اخلاقی، بلوک هیپوکامپ مغز جدا و پس از شستشو با محلول سالین سرد و خشک کردن آن، به سرعت توزین شده و سپس بافت به همراه بافر تریس به مدت ۲ دقیقه به دستگاه هموژنایزر با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه (۱۰ درصد) شد و محلول هموژنیزه شده، سانتریفوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تمامی مراحل گفته شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام شد. پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا گردید و بخش زیرین رسوب کرده؛ دور ریخته شد و از محلول شفاف رویی برای سنجش استفاده شد. اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدئید بافتی (MDA) براساس روشی است که اساس آن، واکنش اسیدتیوباربتوریک (TBA) است که در دمای جوش انجام می‌گیرد. در این آزمایش، مالون‌دی‌آلدئید یا مواد شبه مالون‌دی‌آلدئید با اسیدتیوباربتوریک واکنش داده و رنگ صورتی ایجاد می‌کند که ماکزیم جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر است. این واکنش در $pH=2-3$ و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. بعد از سرد کردن نمونه، جذب نوری خوانده شد. برای این کار از نمونه‌های سانتریفوژ شده به مقدار ۱۵۰ میکرولیتر برداشته، به ۱/۵ میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک و ۱/۵ میلی‌لیتر از TBARS اضافه شد و تمامی نمونه‌ها و لوله‌های استاندارد با رقت‌های مختلف را به مدت ۸۰ دقیقه در بن‌ماری آب جوش قرار دادیم تا واکنش صورت گرفت. سپس محلول‌ها در دور ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و جذب نوری آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت اسپکترونیک، امریکا) خوانده شد. منحنی استاندارد براساس رقت‌های تتراتوکسی پروپان تهیه شد و جذب‌های نوری به دست آمده از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد تطبیق داده شد (۳۰).

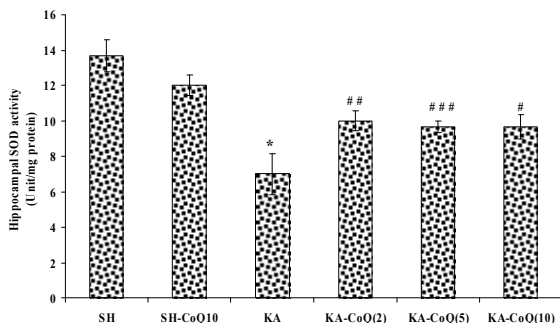
سنجش میزان نیتريت اکسید در هیپوکامپ به‌طور غیرمستقیم بر اساس واکنش گریس و بر اساس منابع موجود، انجام شد و برای منحنی استاندارد از رقت‌های مختلف نیتريت سدیم استفاده گردید (۳۰).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بافتی از

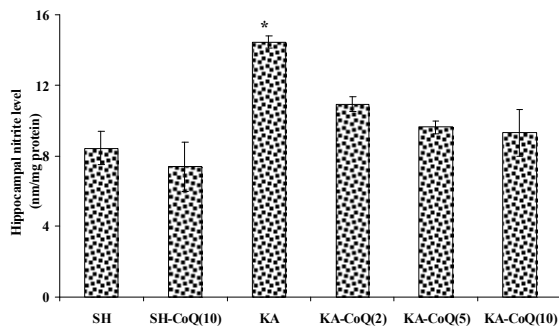
جدول ۱: تعداد و شدت وقوع Spontaneous seizure در هفته پنجم و Status epilepticus در طول ۲۴ ساعت اول پس از جراحی در گروه‌های مورد آزمایش

گروه	تعداد وقوع Status epilepticus	درصد شدت وقوع	تعداد وقوع Spontaneous seizure	درصد شدت وقوع
شم (n=۸)	۰	۰	۸ از ۰	۰
شم + CoQ10 (10 mg/kg/bw) (n=۸)	۰	۰	۸ از ۰	۰
صرعی (n=۱۰)	۱۰	۱۰۰	۱۰ از ۸	۸۰
صرعی + CoQ10 (10 mg/kg/bw) (n=۱۰)	۴	۴۰*	۹ از ۲	۲۲/۲**

آزمون کای اسکوئر، * $P < 0/05$ ، ** $P < 0/01$ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده اسید کاینیک



نمودار ۳: مقایسه میزان نیتريت میان گروه‌های شم و گروه دریافت کننده اسید کائینیک قبل و بعد از دریافت کوآنزیم Q10 با مقادیر ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقادير به صورت $Means \pm SEM$ آورده شده است.
 $P < 0.005^*$ (مقایسه گروه دریافت کننده اسید کائینیک با گروه شم)
 $P < 0.001^{\#\#}$, $P < 0.0001^{\#\#\#}$ (مقایسه گروه دریافت کننده اسید کائینیک تیمار شده با کوآنزیم Q10 با گروه دریافت کننده اسید کائینیک)



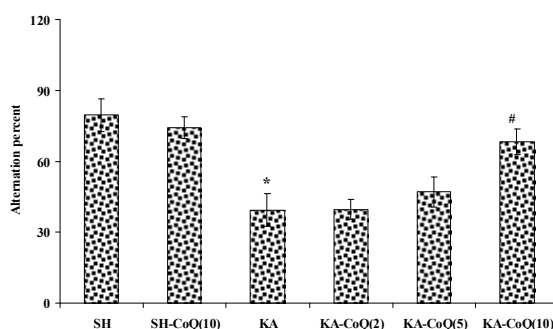
نمودار ۴: مقایسه میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میان گروه‌های شم و گروه دریافت کننده اسید کائینیک قبل و بعد از دریافت کوآنزیم Q10 با مقادیر ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقادير به صورت $Means \pm SEM$ آورده شده است.
 $P < 0.01^*$ (مقایسه گروه صرعی با گروه شم)

بحث

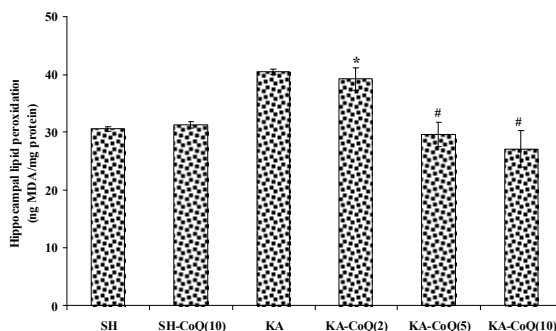
نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تجویز داخل هیپوکامپی اسید کائینیک علاوه بر این که موجب تشنجات خودبخودی حاد و مزمن می‌شود؛ حافظه فضایی کوتاه مدت را نیز تحت تاثیر قرار داده و شاخص‌های استرس اکسیداتیو را نیز افزایش می‌دهد. پیش‌درمان موش‌های صرعی با کوآنزیم Q10 در یک روند وابسته به دوز موجب کاهش شدت وقوع تشنجات، افزایش درصد تناوب در تست ماز Y و کاهش بیومارکرهای استرس اکسیداتیو می‌گردد.

صرع القا شده به وسیله اسید کائینیک در جوندگان یکی از بهترین مدل‌های صرع برای دستیابی به مکانیسم‌های درگیر در تخلیه اپیلتیکی سیستم لیمبیک به شمار می‌رود. در این مدل، اساس فعال شدن گیرنده‌های اسید کائینیکی گلو تامات مشابه با صرع لوب گیجگاهی در انسان است (۳۲). به طوری که بخش‌هایی از سیستم

سوپراکسید دیسموتاز ($7 \pm 1/15$ unit/mg protein) کاهش معنی‌داری یافت. پیش‌درمان موش‌های صرعی با دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوآنزیم Q10 به‌طور معنی‌داری میزان مالون‌دی‌آلدئید ($29/56 \pm 2/10$ و $27/16 \pm 3/17$ ng/mg protein) را در بافت هیپوکامپ کاهش داد؛ ولی در موش‌های صرعی هر سه دوز کوآنزیم Q10 موجب کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقدار نیتريت هیپوکامپ ($9/63 \pm 0/37$ و $9/3 \pm 1/3$ nmol/mg protein) شد. پیش‌درمان موش‌های صرعی با کوآنزیم Q10 با مقادیر ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیچ اثری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز هیپوکامپ نداشت (نمودارهای ۴-۲).



نمودار ۱: مقایسه درصد رفتار تناوبی در ماز Y میان گروه شم و گروه دریافت کننده اسید کائینیک قبل و بعد از دریافت کوآنزیم Q10 با مقادیر ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقادير به صورت $Means \pm SEM$ آورده شده است.
 $P < 0.001^*$ (مقایسه گروه دریافت کننده اسید کائینیک با گروه شم)
 $P < 0.01^{\#}$ (مقایسه گروه دریافت کننده اسید کائینیک تیمار شده با کوآنزیم Q10 با گروه دریافت کننده اسید کائینیک)



نمودار ۲: مقایسه میزان مالون دی‌آلدئید میان گروه شم و گروه دریافت کننده اسید کائینیک قبل و بعد از دریافت کوآنزیم Q10 با مقادیر ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقادير به صورت $Means \pm SEM$ آورده شده است.
 $P < 0.0001^*$ (مقایسه گروه دریافت کننده اسید کائینیک با گروه شم)
 $P < 0.01^{\#}$ (مقایسه گروه دریافت کننده اسید کائینیک تیمار شده با کوآنزیم Q10 با گروه دریافت کننده اسید کائینیک)

دقیقاً اهمیت این ماده در کاهش و یا افزایش آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو در بافت مشخص نیست. شواهد فراوانی دال بر نقش این ماده در بهبود انواع بیماری‌ها در انسان از جمله اختلالات سیستم عصبی، قلب و عضلات اسکلتی است (۴۲). چنانکه کاهش مقدار کوآنزیم Q10 در مغز و پلاکت بیماران پارکینسونی گزارش شده است. تجویز کوآنزیم Q10 به این افراد اختلال سیستم دوپامینرژیکي جسم سیاه را به تعویق می‌اندازد (۴۳). مطالعات نشان داده است که کوآنزیم Q10 می‌تواند موجب کاهش آپوپتوز، تغییر در نفوذپذیری میتوکندری و نوروآپوپتوز شود (۴۴). در بیماری‌های نورودژنراتیو، کاهش میزان کوآنزیم Q10 و فعالیت کمپلکس I عملکرد غشا داخلی میتوکندری و اکسیداسیون فسفویلایسیون را مختل می‌کند (۴۲). از این رو به نظر می‌رسد کمبود کوآنزیم Q10 در پاتوژنز این بیماری‌ها موثر باشد (۴۵). نتایج برخی از مطالعات نشان داده است که کوآنزیم Q10 اثرات افزایش سن و پیری را بر فشارخون (۴۶)، قلب (۴۷) و اعمال روانی-حرکتی از قبیل حفظ تعادل و حرکت هماهنگ، زمان واکنش و رفلکس، توان عضلانی و حرکات خودبخودی تخفیف می‌دهد (۴۸). همچنین توانایی موش‌ها برای انجام تست‌های حافظه‌ای از قبیل مازآبی موریس پس از دریافت رژیم غنی از کوآنزیم Q10 (روزانه ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ هفته) مختل می‌گردد (۴۹). این اختلال را می‌توان به اثر کوآنزیم Q10 بر فعالیت حرکتی، هوشیاری یا بینایی حیوان نسبت داد. به عبارت دیگر افزایش فعالیت حیوان پس از دریافت رژیم غنی از کوآنزیم Q10، توانایی آن را برای دقت در انجام تست حافظه کاهش می‌دهد (۵۰). در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد با توجه به میزان کوآنزیم Q10 تجویز شده، اثر این ماده بر فعالیت حرکتی و در نتیجه دقت و هوشیاری بسیار اندک بوده است از این رو توانسته است اثر حفاظتی خود را در انجام تست حافظه‌ای ماز Y نشان دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که پیش‌درمان با کوآنزیم Q10 می‌تواند علاوه بر جلوگیری از رخداد تشنجات خودبخودی، موجب افزایش سطح بازشناختی حیوانات صرعی گردد. نقش این ماده در جلوگیری از استرس اکسیداتیو می‌تواند یکی از مکانیسم‌های موثر در این اثرات مطرح باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۱۲۴۲۹) دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۱۳۸۹ بود که با حمایت مالی آن دانشگاه اجرا گردید.

لیمبیک از جمله هیپوکامپ و آمیگدالا نقش مهمی در ایجاد تشنجات خودبخودی حاد و مزمن ایفا می‌نمایند. شواهد موجود نشان می‌دهد که ۴ و ۲۴ ساعت بعد از تجویز اسید کاینیک، اکسیداسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ بالا می‌رود (۳۳). به‌علاوه در هیپوکامپ و کورتکس مغز، ۸ ساعت پس از تزریق اسید کاینیک، ۸- هیدروکسی-۲- داکسی گوانوزین (8-OHdG) به عنوان یکی از مارک‌های اکسیداسیون برای آسیب DNA افزایش می‌یابد (۳۴). از طرف دیگر فعال شدن گیرنده‌های اینوتروپیکي گلو تامات به وسیله اسید کاینیک موجب افزایش کلسیم داخل سلولی و دیپلاریزاسیون پتانسیل غشا میتوکندری نوروها در بسیاری از مناطق مغز به خصوص نواحی CA1، CA3 و هیپوس دندان‌های هیپوکامپ می‌شود. این اثرات موجب اختلال در مصرف اکسیژن، کاهش تولید ATP، تولید بیش از حد ROS، نیتریک اکساید و پراکسی نیتريت و در نتیجه آسیب دیدن اجزا سازنده از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شود. تجویز سیستمیک اسید کاینیک، علاوه بر افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، موجب کاهش فرم احیا شده گلو تاتیون (GSH) در هیپوکامپ می‌شود (۳۵). تجویز داخل وریدی GSH از مرگ نوروها در هیپوکامپ جلوگیری کرده و مانع ایجاد ادم در آن می‌شود (۳۶). از این رو در مناطق درگیر مغز، اختلال در عملکرد میتوکندری و پراکسیداسیون لیپیدی مرتبط با تشنجات، پیش از مرگ نوروئی به‌وقوع می‌پیوندد (۳۷). فعالیت بیش از اندازه گیرنده‌های گلو تاماتی و استرس اکسیداتیو از جمله عواملی هستند که آسیب‌پذیری نوروها را افزایش می‌دهند (۳۸). از آنجایی که استرس اکسیداتیو منتج از تزریق اسید کاینیک می‌تواند منجر به اختلالات ناشی از تشنج گردد؛ لذا به نظر می‌رسد استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها بتواند از آسیب و مرگ نوروئی جلوگیری کند.

کوآنزیم Q10 یا یوبیکوینون یک ماده فعال اکسیداسیون-احیا است که در بخش هیدروفوبیک غشا سلول‌ها قرار دارد. کوآنزیم Q10 به‌عنوان یک پروآنزیم داخل سلولی، نقش مهمی در اعمال حیاتی آن ایفا می‌نماید. علاوه بر نقش اساسی کوآنزیم Q10 در کارایی زنجیره انتقال الکترون و تولید انرژی (۳۹)؛ مطالعات نشان داده‌اند که کوآنزیم Q10 با جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد یا احیا رادیکال آلفا-توکوفرول به آلفا-توکوفرول به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در غشا داخلی میتوکندری عمل می‌کند (۴۰). از طرف دیگر، کوآنزیم Q10 از طریق اتواکسیداسیون فرم سمیکوینون خود منبع اصلی برای تولید سوپراکسید و پراکسید هیدروژن در داخل سلول محسوب می‌شود (۴۱). به‌دلیل نقش دوگانه کوآنزیم Q10 به‌عنوان پرواکسیدان و آنتی‌اکسیدان،

References

1. Strine TW, Kobau R, Chapman DP, Thurman DJ, Price P, Balluz LS. Psychological distress, comorbidities and health behaviors among U.S. adults with seizures: results from the 2002 National Health Interview Survey. *Epilepsia*. 2005 Jul;46(7):1133-9.
2. Shorvon SD. The epidemiology and treatment of chronic and refractory epilepsy. *Epilepsia*. 1996;37(Suppl 2):S1-S3.
3. Jallon P. The problem of intractability: the continuing need for new medical therapies in epilepsy. *Epilepsia*. 1997;38(Suppl 9):S37-42.
4. Ferriero DM. Protecting neurons. *Epilepsia*. 2005;46 (Suppl 7): 45-51.
5. Ben-Ari Y, Tremblay E, Riche D, Ghilini G, Naquet R. Electrographic, clinical and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculline or pentetazolate: metabolic mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. *Neuroscience*. 1981;6(7):1361-91.
6. Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav Brain Res*. 1983 Sep;9(3):315-35.
7. Goffin K, Nissinen J, Van Laere K, Pitkänen A. Cyclicity of spontaneous recurrent seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rat. *Exp Neurol*. 2007 Jun;205(2):501-5.
8. Williams PA, White AM, Clark S, Ferraro DJ, Swiercz W, Staley KJ, Dudek FE. Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *J Neurosci*. 2009 Feb; 29(7):2103-12.
9. Cavalheiro EA, Leite JP, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L. Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia*. 1991 Nov-Dec;32(6):778-82.
10. Carrasco J, Penkowa M, Hadberg H, Molinero A, Hidalgo J. Enhanced seizures and hippocampal neurodegeneration following kainic acid-induced seizures in metallothionein-I + II-deficient mice. *Eur J Neurosci*. 2000 Jul;12(7):2311-22.
11. Lehtimäki KA, Peltola J, Koskikallio E, Keränen T, Honkaniemi J. Expression of cytokines and cytokine receptors in the rat brain after kainic acid-induced seizures. *Brain Res Mol Brain Res*. 2003 Feb;110(2):253-60.
12. Perry G, Nunomura A, Hirai K, Zhu X, Pérez M, Avila J, et al. Is oxidative damage the fundamental pathogenic mechanism of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases? *Free Radic Biol Med*. 2002 Dec;33(11):1475-9.
13. Migliore L, Fontana I, Colognato R, Coppede F, Siciliano G, Murri L. Searching for the role and the most suitable biomarkers of oxidative stress in Alzheimer's disease and in other neurodegenerative diseases. *Neurobiol Aging*. 2005 May; 26(5):587-95.
14. Ashrafi MR, Shams S, Nouri M, Mohseni M, Shabani R, Yekaninejad MS, et al. A probable causative factor for an old problem: selenium and glutathione peroxidase appear to play important roles in epilepsy pathogenesis. *Epilepsia*. 2007 Sep; 48(9):1750-5.
15. Sumanont Y, Murakami Y, Tohda M, Vajragupta O, Watanabe H, Matsumoto K. Prevention of kainic acid-induced changes in nitric oxide level and neuronal cell damage in the rat hippocampus by manganese complexes of curcumin and diacetylcurcumin. *Life Sci*. 2006 Mar;78(16):1884-91.
16. Lehninger AL. The molecular organization of mitochondrial membranes. *Adv Cytopharmacol*. 1971 May;1:199-208.
17. Sun IL, Sun EE, Crane FL, Morre DJ, Lindgren A, Low H. Requirement for coenzyme Q in plasma membrane electron transport. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Dec; 89(23): 11126-30.
18. Gille L, Nohl H. The existence of a lysosomal redox chain and the role of ubiquinone. *Arch Biochem Biophys*. 2000 Mar; 375(2):347-54.
19. Walter L, Miyoshi H, Leverve X, Bernard P, Fontaine E. Regulation of the mitochondrial permeability transition pore by ubiquinone analogs. A progress report. *Free Radic Res*. 2002 Apr; 36(4):405-12.
20. Echtay KS, Winkler E, Klingenberg M. Coenzyme Q is an obligatory cofactor for uncoupling protein function. *Nature*. 2000 Nov; 408(6812):609-13.
21. Villalba JM, López-Lluch G, Santos-Ocaña C, et al. Extramitochondrial functions of coenzyme Q. In: Kagan VE, Quinn PJ, editors. *Coenzyme Q: molecular mechanisms in health and disease*. 1st. Boca Raton, FL: CRC Press. 2001; pp: 83-98.
22. Bentinger M, Dallner G, Chojnacki T, Swiezewska E. Distribution and breakdown of labeled coenzyme Q10 in rat. *Free Radic Biol Med*. 2003 Mar;34(5):563-75.
23. Egensperger R, Kösel S, Schnopp NM, Mehraein P, Graeber MB. Association of the mitochondrial tRNA(A4336G) mutation with Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1997 Aug;23(4):315-21.
24. Lalonde R, Lewis TL, Strazielle C, Kim H, Fukuchi K. Transgenic mice expressing the betaAPP695SWE mutation: effects on exploratory activity, anxiety and motor coordination. *Brain Res*. 2003 Jul; 977(1):38-45.
25. Piotrowski P, Wierzbicka K, Smiałek M. Neuronal death in the rat hippocampus in experimental diabetes and cerebral ischaemia treated with antioxidants. *Folia Neuropathol*. 2001;39(3):147-54.
26. Ostrowski RP, Piotrowski P, Pańkowska T, Smiałek M. Evaluation of morphological changes after treatment with coenzyme Q10 (CoQ10) in endothelin-1 induced experimental ischemia in the rat. *Folia Neuropathol*. 1998;36(3):185-8.
27. Ren Z, Ding W, Su Z, Gu X, Huang H, Liu J, et al. Mechanisms of brain injury with deep hypothermic circulatory arrest and protective effects of coenzyme Q10. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1994 Jul;108(1):126-33.
28. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1972 Mar;32(3):281-94.
29. Rasoolijazi H, Joghataie MT, Roghani M, Nobakht M. The beneficial effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate in an experimental model of Alzheimer's disease in rat: a behavioral analysis. *Iran Biomed J*. 2007 Oct;11(4):237-43.
30. Roghani M, Baluchnejadmojarad T. Chronic epigallocatechin-gallate improves aortic reactivity of diabetic rats: underlying mechanisms. *Vascul Pharmacol*. 2009 Aug-Sep;51(2-3):84-9.
31. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976 May; 72:248-54.
32. Ben-Ari Y, Cossart R. Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress. *Trends Neurosci*. 2000 Nov; 23(11):580-7.

33. Kim HC, Choi DY, Jhoo WK, Lee DW, Koo CH, Kim C. Aspalatone, a new antiplatelet agent, attenuates the neurotoxicity induced by kainic acid in the rat. *Life Sci.* 1997;61(24):PL 373-81.
34. Tang L, Reiter RJ, Li ZR, Ortiz GG, Yu BP, Garcia JJ. Melatonin reduces the increase in 8-hydroxy-deoxyguanosine levels in the brain and liver of kainic acid-treated rats. *Mol Cell Biochem.* 1998 Jan;178(1-2):299-303.
35. Shin EJ, Ko KH, Kim WK, Chae JS, Yen TP, Kim HJ, et al. Role of glutathione peroxidase in the ontogeny of hippocampal oxidative stress and kainate seizure sensitivity in the genetically epilepsy-prone rats. *Neurochem Int.* 2008 May;52(6):1134-47.
36. Saija A, Princi P, Pisani A, Lanza M, Scalese M, Aramnejad E, et al. Protective effect of glutathione on kainic acid-induced neuropathological changes in the rat brain. *Gen Pharmacol.* 1994 Jan; 25(1):97-102.
37. Frantseva MV, Velazquez JL, Hwang PA, Carlen PL. Free radical production correlates with cell death in an in vitro model of epilepsy. *Eur J Neurosci.* 2000 Apr;12(4):1431-9.
38. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. *Science.* 1993 Oct;262(5134):689-95.
39. Ebadi M, Govitrapong P, Sharma S, Muralikrishnan D, Shavali S, Pellett L, et al. Ubiquinone (coenzyme q10) and mitochondria in oxidative stress of parkinson's disease. *Biol Signals Recept.* 2001 May-Aug; 10(3-4):224-53.
40. Lass A, Sohal RS. Electron transport-linked ubiquinone-dependent recycling of alpha-tocopherol inhibits autooxidation of mitochondrial membranes. *Arch Biochem Biophys.* 1998 Apr; 352(2):229-36.
41. Turrens JF. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Biosci Rep.* 1997; 17(1): 3-8.
42. Beal MF. Coenzyme Q10 administration and its potential for treatment of neurodegenerative diseases. *Biofactors.* 1999; 9(2-4):261-6.
43. Shults CW, Haas RH, Passov D, Beal MF. Coenzyme Q10 levels correlate with the activities of complexes I and II/III in mitochondria from parkinsonian and nonparkinsonian subjects. *Ann Neurol.* 1997 Aug;42(2):261-4.
44. Di Giovanni S, Mirabella M, Spinazzola A, Crociani P, Silvestri G, Broccolini A, et al. Coenzyme Q10 reverses pathological phenotype and reduces apoptosis in familial CoQ10 deficiency. *Neurology.* 2001 Aug;57(3):515-8.
45. Shults CW, Oakes D, Kieburtz K, Beal MF, Haas R, Plumb S, et al. Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline. *Arch Neurol.* 2002 Oct; 59(10):1541-50.
46. Rosenfeldt FL, Haas SJ, Krum H, Hadj A, Ng K, Leong JY, Watts GF. Coenzyme Q10 in the treatment of hypertension: a meta-analysis of the clinical trials. *J Hum Hypertens.* 2007 Apr; 21(4):297-306.
47. Rosenfeldt F, Hilton D, Pepe S, Krum H. Systematic review of effect of coenzyme Q10 in physical exercise, hypertension and heart failure. *Biofactors.* 2003;18(1-4):91-100.
48. Sumien N, Sims MN, Taylor HJ, Forster MJ. Profiling psychomotor and cognitive aging in four-way cross mice. *Age (Dordr).* 2006 Sep;28(3):265-82.
49. McDonald SR, Sohal RS, Forster MJ. Concurrent administration of coenzyme Q10 and alpha-tocopherol improves learning in aged mice. *Free Radic Biol Med.* 2005 Mar;38(6):729-36.
50. Sumien N, Heinrich KR, Shetty RA, Sohal RS, Forster MJ. Prolonged intake of coenzyme Q10 impairs cognitive functions in mice. *J Nutr.* 2009 Oct;139(10):1926-32.

Original Paper

Protective effect of Co-enzyme Q10 on seizure, short term spatial memory and oxidative stress in induced-epileptic rats

Baluchnejadmojarad T (Ph.D)^{*1}, Roghani M (Ph.D)²

¹Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

²Professor, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Temporal lobe epilepsy is the most common type of epilepsy in human. Patients suffer from spontaneous seizures and memory deficiency. This study was done to assess the effect of Co-enzyme Q10 (CoQ10) administration on seizure, short-term spatial memory and stress oxidative indices in hippocampus of kainic acid-induced epilepsy.

Methods: In this experimental study, 48 male rats were randomly allocated into six groups: sham-operated; CoQ10 (10 mg/kg/bw)-treated SH; kainate; CoQ10 (2, 5 and 10 mg/kg/bw) treated kainic acid. CoQ10 was intraperitoneally administered daily for one week before intra-hippocampal injection of kainic acid (4µg/kg/bw) in animals.

Results: Kainic acid induced chronic and acute spontaneous seizures in animals. Also, kainic acid administration caused a reduction in alternational behavior rate (consecutive or serially entrance into all of arms in triplet set), increasing of malondialdehyde, nitrite level and decreasing of superoxide dismutase activity compared to sham group ($P<0.05$). Pre-treatment of kainate rats with CoQ10 decreased rate of spontaneous seizures ($P<0.05$). CoQ10 increased alternational behavior rate, decreased malondialdehyde and nitrite serum level ($P<0.05$). But it had no significant effect on superoxide dismutase activity.

Conclusion: Pre-treatment of kainic acid exposed rats with CoQ10 reduced rate of seizures and improved short-term spatial memory and oxidative stress indices in rats.

Keywords: CoQ10, Kainic acid, Temporal lobe epilepsy, Y maze, Malondialdehyde, Seizure, Rat

* Corresponding Author: Baluchnejadmojarad T (Ph.D), E-mail: tmojarad@yahoo.com

Received 26 January 2013

Revised 23 July 2013

Accepted 7 December 2013