

## تأثیر فنوفیبرات بر سطح پلاسمایی BDNF و مارکرهای مغزی استرس اکسیداتیو در تشنج کیندلینگ القاء شده با پنتیلن تترازول در موش کوچک آزمایشگاهی

ناهید سراحیان<sup>۱</sup> (M.Sc.)، محمدتقی محمدی<sup>۲\*</sup> (Ph.D.)، شیما شهید<sup>۳</sup> (Ph.D.)، محسن رضائی<sup>۱</sup> (M.Sc.)

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، تهران، ایران

۳- مرکز علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱

Mohammadi.mohammadt@yahoo.com

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۷۷۱۲۵۸۳

### چکیده

هدف: اثر محافظت عصبی و اعمال مختلف آگونیست‌های PPAR $\alpha$  (گیرنده فعال شده تکثیر پروکسیزومی-آلفا) مثل فنوفیبرات و بزافیرات توسط مطالعات گذشته گزارش شده است. مطالعه حاضر اثرات ضدصرعی و عملکردهای محافظت‌کننده عصبی فنوفیبرات در تشنج کیندلینگ القاء شده با پنتیلن تترازول (PTZ) در موش کوچک آزمایشگاهی را مورد ارزیابی قرار داد. مواد و روش‌ها: موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ NMRI به صورت تصادفی در سه گروه به شرح زیر قرار گرفتند (n=۸): کنترل، موش‌های کیندلینگ بدون درمان و حیوانات کیندلینگ تیمار شده با فنوفیبرات. تزریق‌های داخل صفاقی تکراری PTZ (۴۵mg/kg) یک بار هر ۴۸ ساعت جهت ایجاد تشنج کیندلینگ برای ۲۱ روز استفاده گردید. موش‌های تیمار شده به صورت دهانی فنوفیبرات در دوز ۳۰ mg/kg دریافت کردند. سطح پلاسمایی فاکتور نوروتروفیک مشتق شده مغزی (BDNF)، سطح مالون-دی‌آلدهید (MDA) مغز و تغییرات هیستوپاتولوژیک در پایان مطالعه ارزیابی شدند. یافته‌ها: دریافت فنوفیبرات به طور قابل توجهی مدت زمان تاخیری تشنج در موش‌های تیمار شده را بهبود بخشید. فنوفیبرات به طور معنی‌داری ( $P<0/05$ ) سطح پلاسمایی BDNF در موش‌های کیندلینگ تیمار شده (۱۲/۰۶±۰/۰۸ ng/mL) در مقایسه با گروه PTZ (۱۳/۴۳±۰/۲۰ ng/mL) را کاهش داد. درمان با فنوفیبرات به طور معنی‌داری ( $P<0/05$ ) سطوح MDA در موش‌های کیندلینگ درمان شده در مقایسه با گروه PTZ را ۶۸ درصد کاهش داد. همچنین فنوفیبرات آسیب‌های هیستوپاتولوژیک در حیوانات کیندلینگ تیمار شده را بهبود بخشید. نتیجه‌گیری: فنوفیبرات سطح BDNF پلاسما و سطح مغزی MDA به همراه تغییرات هیستوپاتولوژیک مغز در تشنج کیندلینگ در موش کوچک آزمایشگاهی را تصحیح کرد که ممکن است با بهبود رفتارهای تشنجی در ارتباط باشد.

واژه‌های کلیدی: فنوفیبرات، صرع مستمر، محافظت عصبی، فاکتور نوروتروفیک مشتق شده مغزی، مالون‌دی‌آلدهید

### مقدمه

رادیکال‌های آزاد اکسیژن و عوامل آپوپتوزی اشاره نمود [۳-۵]. بر اساس نتایج مطالعات تشنج‌های صرعی باعث تغییر در سطح بیان بسیاری از ژن‌های موجود در سلول‌های بافت عصبی شده که در این میان می‌توان به فاکتور نوروتروفیک مشتق شده مغزی (BDNF: Brain-derived neurotrophic factor) اشاره کرد [۶،۵]. این فاکتور یکی از اعضای خانواده نوروتروفین‌ها در بافت عصبی بوده که در شرایط طبیعی مغز در برخی از نواحی مغز از جمله قشر، آمیگدال و هیپوکامپ بیان می‌شود [۸،۷]. یافته‌های مطالعات حاکی از آن است که سطح بیان BDNF مغزی در افراد دچار اختلال صرع به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد و این تغییر در سطح بیان این فاکتور نوروتروفیک می‌تواند میزان بروز حالات صرعی را تشدید نماید

تشنج‌های صرعی (Epileptic seizures) یکی از رایج‌ترین بیماری‌های سیستم عصبی است که عدم وجود یک تعادل متناسب بین فعالیت تحریکی و مهارتی در بخشی از سیستم عصبی مرکزی دلیل اصلی آن به شمار می‌رود [۱]. در این بین، نقص در سیستم گابا (GABA) به ویژه در سطح رسپتور مهارتی گابای نوع A (GABAA) یکی از دلایل اصلی این اختلال عصبی می‌باشد [۲]. بروز این نوع از تشنج‌های مداوم و برگشت‌پذیر باعث تغییر در عملکرد و ساختار نورون‌ها شده و باعث فعال‌سازی آبشاری از سیگنال‌های مخرب بافت عصبی می‌گردد که در این بین می‌توان به فاکتورهای التهابی،

داشت تاثیر فنوفیبرات بر رفتارهای تشنجی، سطح سرمی BDNF، میزان استرس اکسیداتیو و آسیب‌های هیستوپاتولوژیک مغز در مدل تشنج کیندلیک القا شده با پنتیلین ترازول در موش کوچک آزمایشگاهی را مورد ارزیابی قرار دهد.

## مواد و روش‌ها

حیوانات. در این تحقیق که یک مطالعه مداخله‌ای - تجربی بود از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI تهیه شده از مرکز پژوهشی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) در محدوده وزنی  $23 \pm 7$  گرم و سن ۷-۸ هفته‌گی استفاده شد. در تمامی آزمایش‌ها شرایط کار با حیوانات آزمایشگاهی تعیین شده توسط کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله رعایت گردید. کد کمیته اخلاق برای مطالعه حاضر IR.BMSU.REC.1399.547 می‌باشد. حیوانات بدون داشتن محدودیتی از نظر مصرف آب و غذا در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی با درجه حرارت  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) در طی آزمایش نگهداری می‌شدند.

مدل القای تشنج کیندلینگ. برای ایجاد تشنج کیندلینگ از تزریق‌های تکراری و داخل صفاقی ماده پنتیلین ترازول (Sigma-Aldrich, Germany) به صورت یک روز در میان استفاده گردید. بدین منظور مقدار مشخصی از ماده پنتیلین ترازول در محلول استریل نرمال سالین حل می‌شد. سپس به مقدار  $45 \text{ mg/kg}$  پنتیلین ترازول از محلول تازه تهیه شده در هر نوبت تزریق استفاده می‌شد. شایان ذکر است که دوز تزریقی پنتیلین ترازول بر اساس مطالعات قبلی و نتایج آزمایشات پیلوت جهت مشاهده کیندلینگ کامل (مشاهده مرحله ۴ و ۵ تشنج به دنبال دو تزریق متوالی) در طول دوره آزمایش استفاده گردید [۲۳-۲۵]. تزریق‌های تکرار شده پنتیلین ترازول به صورت یک روز در میان از روز نخست آزمایش آغاز شده و تا روز ۲۱ آزمایش (روز پایان) ادامه پیدا می‌کرد. شایان ذکر می‌باشد مقادیر پنتیلین ترازول طوری محاسبه می‌شد که هر حیوان حدوداً به میزان  $0/5$  میلی‌لیتر از محلول مورد نظر دریافت نماید. هم‌چنین حیوانات گروه کنترل نیز این میزان حجم نرمال سالین به طور یک روز در میان در طول آزمایش به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت می‌کردند.

طراحی آزمایش و گروه‌بندی حیوانات. جهت اجرای مطالعه حاضر ۲۴ سر موش کوچک آزمایشگاهی بالغ به‌طور تصادفی در ۳ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند. گروه اول یا گروه کنترل شامل حیواناتی بودند که در طول آزمایش هیچ دارویی مصرف نکرده و روزانه نیم میلی‌لیتر محلول  $0/5$  درصد

[۹]. به طوری که ارتباط بین واریانت‌های ژنتیکی BDNF و وقوع تشنج در مطالعات قبلی گزارش شده است [۱۰]. در این راستا، تغییر در سطح سرمی BDNF هم‌سو با تغییر مغزی این فاکتور در بیماران تشنج‌های صرعی گزارش شده است [۱۱،۱۰].

گیرنده فعال شده تکثیر پروکسیزومی (PPAR) (Peroxisome proliferator-activated receptor) از عوامل تنظیمی نسخه‌برداری از ژن‌های هسته‌ای بوده که توسط لیگاند‌های متعددی فعال می‌گردد [۱۲]. این گیرنده اثرات زیستی و فیزیولوژیکی متعددی در بدن دارد که در این بین می‌توان به رشد، تمایز، مرگ (آپوپتوز)، التهاب، ترمیم و تکثیر سلولی اشاره نمود [۱۳-۱۵]. تا به حال سه ایزوفرم از این گیرنده شامل نوع آلفا ( $PPAR\alpha$ )، بتا/دلتا ( $PPAR\beta/\delta$ ) و گاما ( $PPAR\gamma$ ) در سلول‌های مختلف بدن شناسایی شده است [۱۲]. ایزوفرم آلفای این گیرنده در قسمت‌های مختلف بافت مغز بیان شده و از طروق مختلف سبب اثرات محافظت نوروئی می‌گردد [۱۷،۱۶]. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد فعال کردن  $PPAR\alpha$  از طریق مهار فاکتور نسخه‌برداری هسته‌ای  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) (Nuclear factor kappa B) پاسخ‌های التهابی را در بافت مغز سرکوب می‌نماید [۱۸،۱۶]. فعال کردن این گیرنده هسته‌ای هم‌چنین از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان درون‌زاد باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغز می‌گردد [۱۸]. از این‌رو، استفاده از آگونیست‌های  $PPAR\alpha$  باعث حفاظت نوروئی‌ها و بافت عصبی در شرایط مختلف پاتولوژیک می‌گردد [۱۵]. اثرات محافظت‌کننده نوروئی آگونیست‌های  $PPAR\alpha$  مانند فنوفیبرات در بیماری‌های تخریب‌شونده بافت عصبی گزارش شده است. نتایج تحقیق انجام شده در مدل حیوانی بیماری هانتینگتون نشان داد تیمار با فنوفیبرات قبل از القای بیماری از طریق کاهش آسیب اکسیداتیو و سیتوکاین‌های پیش‌التهابی در بافت مغز سبب بهبود علائم حرکتی و شناختی می‌گردد [۱۹]. بر اساس نتایج تحقیقی، افزایش بیان  $PPAR\alpha$  میزان نوروتروفین را در بافت مغز بیش‌تر کرده و عملکرد حافظه را در موش آلزایمری بهبود می‌بخشد [۲۰]. نتایج یافته‌های اخیر هم‌چنین نشان می‌دهد آگونیست‌های  $PPAR\alpha$  از طریق کاهش مهاجرت نوروفیل‌ها به بافت مغز و جلوگیری از آسیب سد خونی - مغزی در طی بیماری‌هایی نظیر پارکینسون، آلزایمر و مولتیپل اسکلروز جلوگیری کرده و باعث محافظت نوروئی می‌شود [۲۰-۲۲].

از آنجایی که اثرات بسیار سودمند آگونیست‌های  $PPAR\alpha$  در کاهش میزان آسیب‌های نوروئی در برخی حالات پاتوفیزیولوژیک مغز مشخص شده است مطالعه حاضر قصد

سالیان سرد به ترتیب به نسبت یک به ده ترکیب شد. بعد از مخلوط شدن محلول توسط دستگاه ورتکس، نمونه‌ها در ۱۴۰۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. سپس محلول رویی با دقت مجزا شده و برای اندازه‌گیری میزان سرمی BDNF با استفاده از کیت الیزا (Zellbio, Germany) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت میزان BDNF سرمی بر حسب ng/mL ارائه گردید.

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو. برای تعیین میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت مغزی، ابتدا بافت منجمد شده به دقت توزین و به نسبت ۱:۱۰ در بافر فسفات سالیین هموژنیزه شده و پس از آن نمونه‌ها در ۱۴۰۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. در ادامه، به ۵۰۰ میکرولیتر بافت هموژنه، ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰ درصد اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد، سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و ۲ میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک ۰/۶۷ درصد به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار گرفت؛ سپس ۲ میلی‌لیتر ۱- بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی صورتی‌رنگ به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید. غلظت مالون‌دی‌آلدهید، با استفاده از ۱، ۱، ۳ و ۳ ترا اتوکسی پروپان به‌عنوان استاندارد، بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد. محلول استاندارد مالون‌دی‌آلدهید در غلظت‌های ۲۰-۰/۲ میکرومولار در اسیدسولفوریک ۱۰ درصد تهیه گردید. در نهایت مقدار مالون‌دی‌آلدهید برحسب nmol/mg protein محاسبه گردید [۲۷].

بدین منظور برای تعیین غلظت پروتئین حجم معینی از عصاره بافتی با رقت مناسب را برداشته و به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول برادفورد با رقت ۳:۱ به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه آنکوبه گردید. سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر، میزان جذب قرائت شد. جهت رسم منحنی استاندارد، ابتدا محلول ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آلبومین سرم گاوی (BSA) تهیه گردید. سپس غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از آن ساخته و به‌عنوان غلظت‌های استاندارد به‌کار برده شد.

بررسی‌های هیستوپاتولوژیک هیپوکامپ. بدین منظور، حیوانات در پایان آزمایش توسط تیوپنتال سدیم به طور عمیق بی‌هوش شدند و بافت مغز از جمجمه خارج گردید. سپس جهت تثبیت به مدت دو هفته در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. به

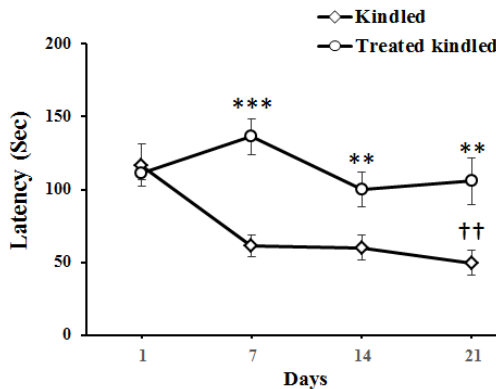
کربوسی متیل سلولز (حلال فنوفیبرات) از طریق لوله گاوژ به صورت دهانی و به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. گروه دوم یا گروه کیندلینگ شامل حیواناتی بودند که تشنج کیندلینگ از طریق تزریق تکرار شده داخل صفاقی ماده پنتیلین تترازول به صورت یک روز در میان از روز نخست آزمایش آغاز شده و تا روز ۲۱ آزمایش (روز پایان) ادامه پیدا می‌کرد. حیوانات این گروه در طول آزمایش هیچ دارویی مصرف نکرده و روزانه نیم میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد کربوسی متیل-سلولز (حلال فنوفیبرات) از طریق لوله گاوژ به صورت دهانی و به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. گروه سوم یا گروه کیندلینگ تیمار با فنوفیبرات شامل حیواناتی بودند که تشنج کیندلینگ از طریق تزریق تکرار شده داخل صفاقی ماده پنتیلین تترازول به صورت یک روز در میان از روز نخست آزمایش آغاز شده و تا روز ۲۱ آزمایش (روز پایان) ادامه پیدا می‌کرد. حیوانات این گروه در طول آزمایش با داروی فنوفیبرات به میزان ۳۰ mg/kg از طریق لوله گاوژ به صورت دهانی و به مدت ۲۱ روز دریافت می‌کردند. شایان ذکر می‌باشد داروی فنوفیبرات در محلول ۰/۵ درصد کربوسی متیل سلولز (حلال فنوفیبرات) حل می‌گردید.

در پایان آزمایش، حیوانات تحت بی‌هوشی عمیق قرار گرفته و پس از خون‌گیری، بافت مغز از جمجمه حیوان با احتیاط خارج شده و به سرعت بعد از قرار دادن در داخل نیتروژن مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. هم‌چنین سرم خون به‌وسیله دستگاه سانتریفوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) جدا گردیده و بلافاصله در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره می‌شد.

اندازه‌گیری مدت زمان تاخیری (latency) و مراحل تشنج‌ها. در مطالعه حاضر مدت زمان طول کشیده از تزریق محلول پنتیلین تترازول تا بروز رفتارهای تشنجی (مشاهده مراحل ۱ تا ۵ تشنج) به عنوان مدت زمان تاخیری در نظر گرفته شد. بلافاصله بعد از تزریق محلول حاوی پنتیلین تترازول در گروه دوم و سوم، حیوانات به یک سطح باز منتقل شده و میزان مدت زمان تاخیری تشنج‌ها اندازه‌گیری شد. هم‌چنین جهت بررسی مراحل و شدت تشنج‌ها از شیوه تغییر یافته Racine و همکاران به شرح زیر استفاده گردید [۲۶]؛ مرحله صفر: بدون پاسخ، مرحله یک: خوردن و توییح‌های صورت، مرحله دو: حرکت‌های میوکلونیک بدن، مرحله سه: کلونوس‌های اندام جلویی و عمل ایستادن بر روی دو پا، مرحله چهار: تشنج‌های کلونیک و چرخش حیوان به سمت طرفین و مرحله پنج: تشنج‌های کلونیک عمومی و چرخش حیوان به سمت پشت.

اندازه‌گیری میزان BDNF سرمی. جهت اندازه‌گیری سطح سرمی BDNF، مقدار مشخصی از سرم فریز شده با بافر فسفات

این گروه از کاهش پیش‌رونده میزان latency در طول آزمایش جلوگیری نموده و میزان آن در پایان آزمایش برابر با  $105 \pm 8$  ثانیه بود. ضمناً، میزان latency در حیوانات کیندلینگ تیمار شده نسبت به حیوانات کیندلینگ تیمار نشده در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ به لحاظ مقایسه آماری معنی‌دار بود.



شکل ۱. تغییرات مدت زمان تاخیری (latency) تشنج‌ها در گروه‌های کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در طول مطالعه. داده‌ها به صورت  $Mean \pm SEM$  نشان داده شده است.  $p < 0.01$  و  $***$  نشانگر تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه کیندلینگ در روز مشابه.  $††$  ( $p < 0.01$ ) نشانگر تفاوت معنی‌دار در طول دوره آزمایش در مقایسه با روز اول در گروه کیندلینگ درمان نشده

نتایج به‌دست آمده از تغییرات مراحل تشنج در طول مطالعه برای دو گروه کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در شکل ۲ نشان داده شده است. بر اساس نمودار میانگین عددی شدت و مراحل تشنج در طول دوره آزمایش به دنبال تزریق‌های بعدی محلول پنتیلین تترازول به طور پیش‌رونده در هر گروه افزایش یافت، با این تفاوت که حیوانات گروه کیندلینگ بدون درمان در تزریق شماره ششم و حیوانات گروه کیندلینگ تیمار شده با فنوفیبرات در تزریق هشتم حالت کامل کیندلینگ (مرحله ۴ و ۵ تشنج به دنبال دو تزریق متوالی) را نشان دادند. ضمناً، بر اساس مقایسه آماری نتایج به دست آمده فقط در روز ششم بین دو گروه کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) مشاهده گردید.

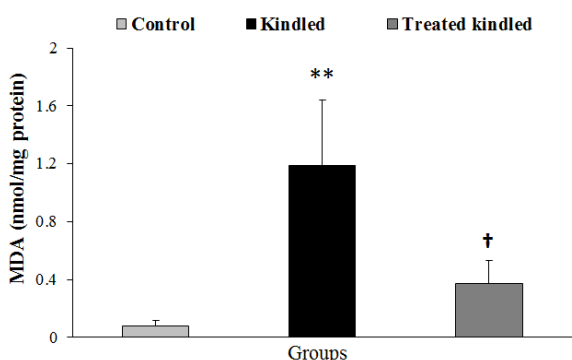
دنبال آن مراحل آماده‌سازی بافت، قالب‌گیری با پارافین مطابق روش‌های روتین انجام گرفته و برش‌گیری توسط دستگاه میکروتوم با ضخامت ۵ میکرومتر انجام شد. مقاطع تهیه شده در محل مورد نظر، پس از انتقال بر روی لام با روش کریزل و بوله رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی و فرآیند مانت کردن صورت پذیرفت. لام‌های حاصل توسط میکروسکوپ نوری (Nikon) مورد ارزیابی قرار گرفته و به کمک دوربین مخصوص میکروسکوپ متصل به کامپیوتر (CMEX)، از نقاط مورد نظر (نواحی CA1، CA2 و CA3) تصاویر تهیه و شاخص‌های نکروز و آسیب نورونی (نورون‌ها با هسته‌های متراکم و چروکیده) مورد ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز آماری. نتایج آماری به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین ( $Mean \pm SEM$ ) ارائه شده است. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ آنالیز شده و از آزمون Kolmogorov-Smirnov برای نشان دادن توزیع نرمال داده‌ها استفاده گردید. از آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) با آزمون تعقیبی توکی (Tukey) برای تجزیه و تحلیل داده‌های مقادیر سرمی BDNF و مقدار مالون‌دی‌آلدهید مغزی استفاده گردید. نتایج مربوط به Latency توسط آزمون T مستقل (Independent-Samples T Test) برای مقایسه داده‌های بین گروهی در روزهای مختلف (به دلیل مقایسه آماری دو گروه کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده) استفاده شد و روش آماری Repeated Measures و آزمون Bonferroni برای مقایسه latency در روزهای مختلف برای هر گروه مورد استفاده قرار گرفت. برای مقایسه نتایج به‌دست آمده از تغییرات مراحل تشنج در طول مطالعه پس از هر بار تزریق برای دو گروه کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده و همچنین نتایج تغییرات بافت‌شناسی از روش آماری غیرپارامتریک و آزمون Mann-Whitney U استفاده گردید. سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد و در تمامی موارد حدود اطمینان ۹۵ درصد می‌باشد.

## نتایج

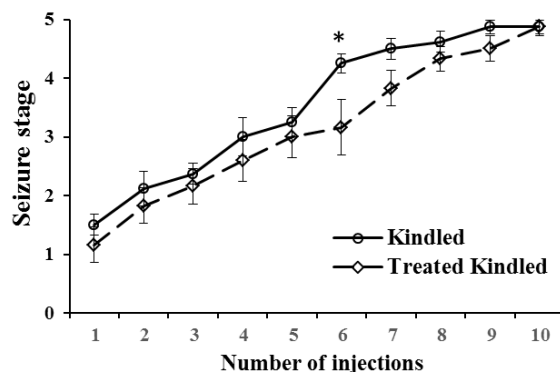
نتایج تغییرات مدت زمان تاخیری (latency) و مراحل تشنج. نتایج به‌دست آمده از تغییرات latency در طول مطالعه برای دو گروه کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در شکل ۱ ارائه شده است. میزان این پارامتر در گروه کیندلینگ در شروع آزمایش برابر با  $116 \pm 14$  ثانیه بود که میزان آن در طول آزمایش کاهش یافته و در پایان آزمایش  $49 \pm 8$  ثانیه بود. میزان latency در گروه کیندلینگ تیمار شده در شروع آزمایش  $111 \pm 4$  ثانیه بود. این در حالی است که تیمار با فنوفیبرات در

است. میزان مالون دی آلدیید مغز در حیوانات گروه کنترل برابر با  $0.08 \pm 0.04$  nmol/mg protein بود. میزان مالون دی آلدیید مغز در حیوانات گروه کیندلینگ در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت ( $P < 0.01$ )، که میزان آن برابر با  $1.19 \pm 0.45$  nmol/mg protein بود. تیمار با فنوفیرات در طول مطالعه میزان مالون دی آلدیید مغز در گروه کیندلینگ درمان شده در مقایسه با گروه کیندلینگ بدون درمان را به طور معنی داری کاهش داد ( $P < 0.05$ )، به طوری که میزان مالون دی آلدیید مغز در این گروه  $1.19 \pm 0.45$  nmol/mg protein بود.



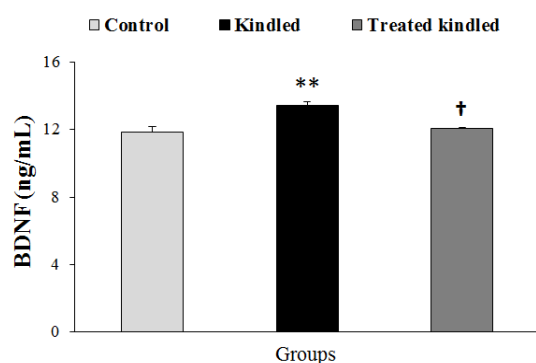
شکل ۴. تغییرات مقدار مالون دی آلدیید (MDA) مغز (nmol/mg protein) در گروه‌های کنترل، کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در پایان مطالعه. داده‌ها به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نشان داده شده است. \*\* نشانگر تفاوت معنی دار با  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه کنترل. † نشانگر تفاوت معنی دار با  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه کیندلینگ

نتایج ارتباط (کورولیشن) تغییرات BDNF پلاسمایی و سطح MDA مغزی با متغیرهای تشنج. نتایج به دست آمده از مقایسه کورولیشن تغییرات BDNF پلاسمایی و سطح MDA مغزی با متغیرهای تشنج (مدت زمان تاخیری و شدت تشنج) در شکل ۵ نشان داده شده است. میزان عددی  $R^2$  به دست آمده بین تغییرات BDNF پلاسمایی و مدت زمان تاخیری (latency)  $0.624$  بود که نشان‌دهنده یک کورولیشن نسبتاً قوی بین افزایش BDNF و کاهش مدت زمان تاخیری است (شکل ۵-۵). همچنین میزان عددی  $R^2$  به دست آمده بین تغییرات BDNF پلاسمایی و میانگین شدت تشنج  $0.565$  بود که یک کورولیشن نسبتاً خوب بین افزایش BDNF و افزایش شدت تشنج را نشان می‌داد (شکل ۵-۵). میزان  $R^2$  برای تغییرات سطح MDA مغز و مدت زمان تاخیری  $0.438$  به دست آمد که نشان‌دهنده یک کورولیشن خوب بین افزایش MDA و کاهش مدت زمان تاخیری است (شکل ۵-۵). نهایتاً، میزان عددی  $R^2$  به دست آمده بین تغییرات MDA مغز و میانگین شدت تشنج  $0.512$  بود که نشان‌دهنده یک کورولیشن نسبتاً



شکل ۲. میانگین مرحله تشنج در گروه‌های کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در طول مطالعه. داده‌ها به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نشان داده شده است. \*  $p < 0.05$  نشانگر تفاوت معنی دار بین گروه کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در تزریق شماره ۶

نتایج تغییرات سرمی BDNF. تغییرات سطح سرمی BDNF در پایان مطالعه در شکل ۳ نمایش داده شده است. میزان BDNF سرم در حیوانات گروه کنترل برابر با  $11.82 \pm 0.35$  ng/mL بود. سطح BDNF سرم در حیوانات گروه کیندلینگ بدون درمان در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش پیدا کرد ( $P < 0.01$ )، که میزان سرمی آن در حیوانات این گروه برابر با  $13.43 \pm 0.20$  ng/mL بود. تیمار با فنوفیرات در طول مطالعه میزان BDNF سرم در حیوانات گروه کیندلینگ درمان شده در مقایسه با گروه کیندلینگ بدون درمان را به طور معنی داری کاهش داد ( $P < 0.05$ )، که میزان سرمی آن در حیوانات این گروه  $12.06 \pm 0.08$  ng/mL بود.

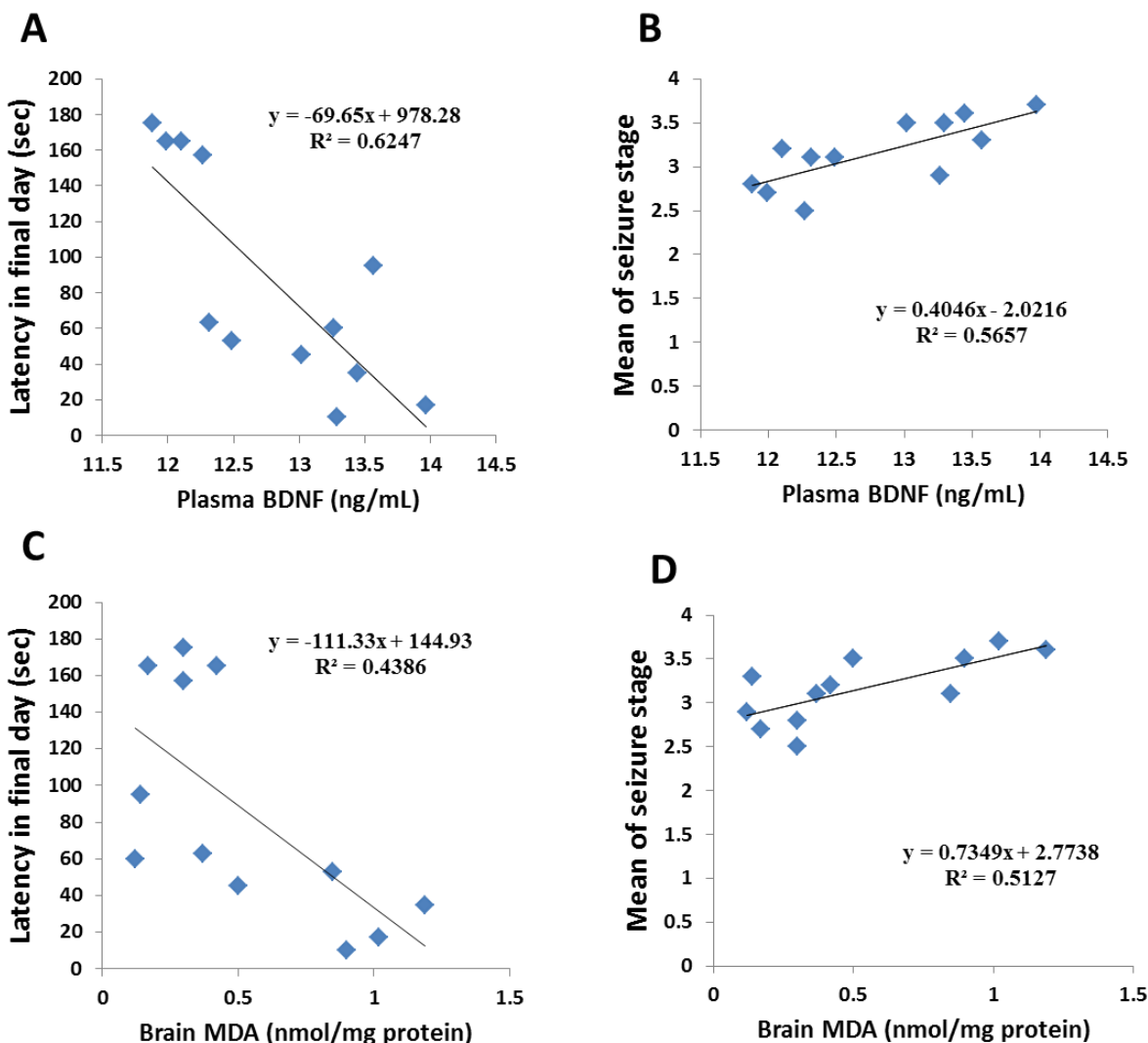


شکل ۳. تغییرات سطح سرمی BDNF (ng/mL) در گروه‌های کنترل، کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در پایان مطالعه. داده‌ها به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نشان داده شده است. \*\* نشانگر تفاوت معنی دار با  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه کنترل. † نشانگر تفاوت معنی دار با  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه کیندلینگ

نتایج تغییرات مالون دی آلدیید مغز. تغییرات میزان مالون دی آلدیید بافت مغز در پایان مطالعه در شکل ۴ ارائه شده

به دلیل القای کیندلینگ کامل شماره ۵ بود از میانگین مرحله تشنج در طول آزمایش استفاده گردید.

خوب بین افزایش MDA و افزایش شدت تشنج را نشان می‌داد (شکل ۵-D). لازم به یادآوری است با توجه به این مطلب که در روز پایانی میزان عددی مرحله تشنج برای اغلب حیوانات



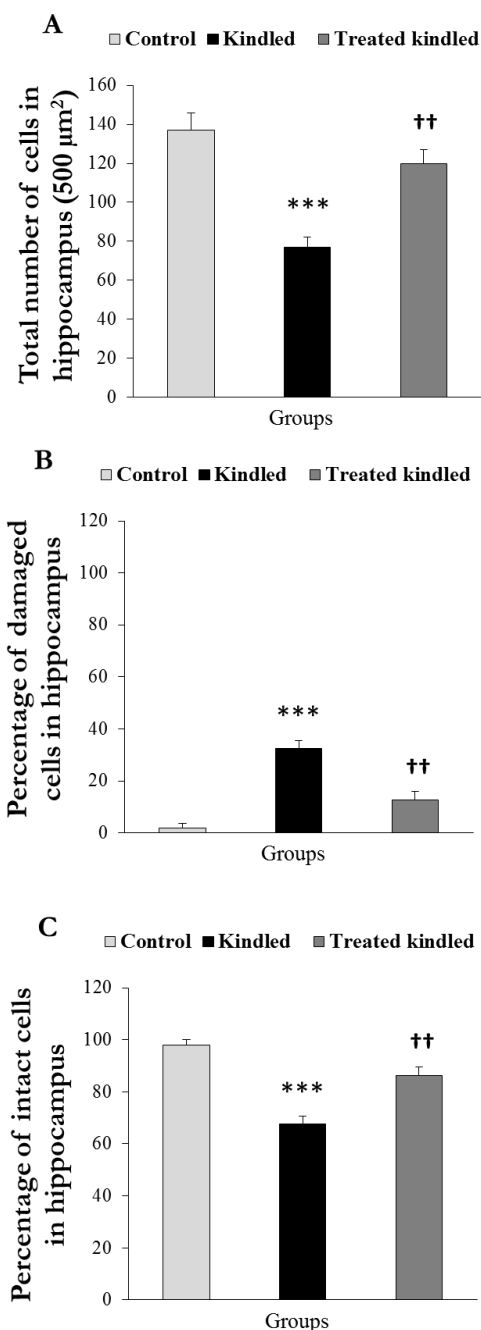
شکل ۵. نتایج به دست آمده از مقایسه ارتباط (کورولیشن) تغییرات BDNF پلاسمایی و سطح MDA مغزی با متغیرهای تشنج (مدت زمان تاخیری و شدت تشنج). با توجه به این نکته که  $R^2$  به دست آمده برای تمامی مقایسه‌ها بین ۰/۳ تا ۰/۶ بوده یک کورولیشن نسبتاً خوبی بین تغییرات BDNF پلاسمایی و سطح MDA مغز با متغیرهای تشنج وجود داشت.

چروکیدگی و متراکم بودن هسته‌ها نشان‌دهنده نورون‌های پیکنوت و نکروز شده می‌باشند. در صورتی که دریافت فنوفیبرات در حیوانات کیندلینگ تیمار شده آسیب‌های نام برده را به مقدار زیادی کاهش داده است.

نتایج مربوط به داده‌های کمی شده از بررسی‌های بافت‌شناسی شامل تعداد کل سلول‌ها در نواحی CA1، CA2 و CA3 هیپوکامپ (A)، درصد سلول‌های آسیب‌دیده و در حال آپتوز (B) و درصد سلول‌های سالم (C) در گروه‌های کنترل، کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در پایان مطالعه در شکل ۷ نشان داده شده است. بر اساس نمودار تعداد کل سلول‌ها و

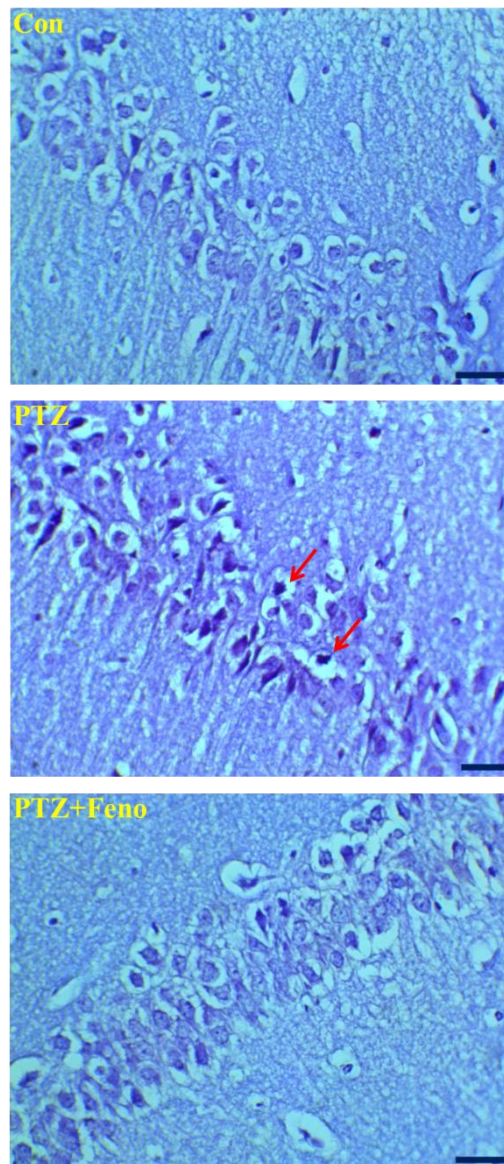
نتایج بررسی‌های هیستوپاتولوژیک مغز. شکل ۶ میکروگراف‌های به دست آمده از ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های آزمایشی را نشان می‌دهد که با استفاده از کریزل ویوله رنگ‌آمیزی شده‌اند. پراکنندگی و ساختار نورون‌ها و سایر سلول‌های این ناحیه به همراه بافت عصبی آن در گروه کنترل سالم و طبیعی دیده می‌شوند. هسته‌های این سلول‌ها با نظم خاصی در بافت پارانشیم مغز (نوروبیل) قرار گرفته‌اند. بررسی مقاطع تهیه شده حیوانات گروه کیندلینگ بدون درمان نشان می‌دهد که در مقایسه با گروه کنترل مرگ و تخریب نورونی در ناحیه CA1 هیپوکامپ به مقدار زیادی صورت گرفته و





شکل ۷. نتایج مربوط به داده های کمی شده از بررسی های هیستوپاتولوژیک شامل تعداد کل سلول ها در نواحی CA1، CA2 و CA3 هیپوکامپ (A)، درصد سلول های آسیب دیده و در حال آپتوز (B) و درصد سلول های سالم (C) در گروه های کنترل، کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در پایان مطالعه. داده ها به صورت Mean $\pm$ SEM نشان داده شده است. \*\*\* نشانگر تفاوت معنی دار با  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل. †† نشانگر تفاوت معنی دار با  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه کیندلینگ

درصد سلول های سالم در نواحی مد نظر هیپوکامپ در گروه کیندلینگ کاهش و درصد سلول های آسیب دیده و در حال آپتوز افزایش یافت. در حالی که تیمار با فنوفیرات در گروه کیندلینگ تیمار شده سبب افزایش کل سلول ها و درصد سلول های سالم در نواحی مد نظر هیپوکامپ شده و درصد سلول های آسیب دیده و در حال آپتوز را کاهش داد.



شکل ۶. مقاطع عرضی تهیه شده مغز در موش های کوچک آزمایشگاهی گروه های کنترل، کیندلینگ و کیندلینگ تیمار شده در پایان مطالعه. تصاویر پراکندگی نورون ها را در ناحیه CA2 هیپوکامپ نشان می دهد که نوک پیکان های قرمز نشان دهنده نورون های آسیب دیده و در حال مرگ می باشد. (Scale bars= 20  $\mu\text{m}$ ; magnification= 400X)

## بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعات فعال شدن  $\text{PPAR}\alpha$  و استفاده از آگونیست این گیرنده در بافت عصبی می تواند اثرات محافظت عصبی در شرایط پاتولوژیک اعمال نماید [۲۸، ۲۹]. از این رو،

پلاسمایی BDNF و متغیرهای تشنج اشاره نمود که یک کورلیشن نسبتاً قوی بین افزایش BDNF و کاهش مدت زمان تاخیری و همچنین یک کورولیشن نسبتاً خوب بین افزایش BDNF و افزایش شدت تشنج مشاهده گردید.

بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر القای تشنج کیندلینگ میزان مالون دی آلدیید بافت مغز، که شاخصی از تجمع رادیکال‌های آزاد و بروز استرس اکسیداتیو در بافت مغز بوده، را به طور قابل توجهی افزایش داد. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد استرس اکسیداتیو یکی از وقایع رایج به دنبال بروز تشنج و حالت‌های صرعی در بافت مغزی است. بر اساس نتایج مطالعات، ایجاد مدل‌های مختلف تشنج در حیوانات آزمایشگاهی باعث از بین رفتن تعادل آنتی‌اکسیدانی شده و منجر به تجمع این رادیکال‌ها در بافت مغز و نهایت استرس اکسیداتیو می‌گردد [۳-۵]. در این راستا، نتایج تحقیقات نشان می‌دهد ایجاد تشنج‌های کیندلینگ باعث تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت مغز می‌گردد، به طوری که ایجاد تشنج‌های مغزی باعث کاهش سطح گلو تاتیون مغز شده و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را کاهش می‌دهد [۳۳، ۳۴]. بنابراین نقص در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی حین تشنج‌های صرعی سبب تجمع رادیکال‌های آزاد در بافت مغز شده و سبب بروز تغییرات آسیب شناختی در بافت مغز خواهد گردید که نتایج بررسی‌های آسیب شناختی در مطالعه حاضر تاییدی بر این ادعا هست. در مطالعه حاضر تیمار با فنوفیبرات در طول آزمایش باعث کاهش میزان مالون دی آلدیید بافت مغز در حیوانات درمان شده گردید. کاهش میزان مالون دی آلدیید بافت مغزی عملاً شاخصی از کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو در بافت مغزی بوده که در حیوانات تیمار شده با فنوفیبرات مشاهده شده است. بر اساس نتایج مطالعات، فنوفیبرات دارای ماهیت آنتی‌اکسیدانی است [۱۸]. از طرفی بر پایه نتایج تحقیقات، فعال کردن PPAR $\alpha$  توسط آگونیست‌های آن میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغزی را بهبود می‌بخشد [۳۵]. بر این اساس، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش میزان مالون دی آلدیید در بافت مغز حیوانات تیمار شده با فنوفیبرات ممکن است به دلیل بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فنوفیبرات بوده باشد که در مطالعه حاضر مشاهده گردید. از طرفی بر اساس بررسی‌های نتایج هیستوپاتولوژیک میزان آسیب به نوروها در حیوانات کیندلینگ تیمار شده با فنوفیبرات کاهش قابل ملاحظه داشت که ممکن است با کاهش میزان استرس اکسیداتیو در این حیوانات در ارتباط باشد. همچنین پیشنهاد می‌گردد که فنوفیبرات ممکن است از طریق کاهش استرس اکسیداتیو در بافت مغز اثرات ضد تشنجی داشته باشد زیرا بر

در مطالعه حاضر تاثیر بهبودی بخش استفاده از فنوفیبرات به عنوان آگونیست این گیرنده بر تشنج کیندلینگ و برخی آسیب‌های ناشی از این اختلال در بافت مغز مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد تیمار با فنوفیبرات از کاهش پیش‌رونده latency در طی تشنج‌های کیندلینگ جلوگیری می‌نماید. همچنین فنوفیبرات سطح سرمی BDNF که شاخصی از BDNF مغزی است را طی این اختلال القا شده در موش کوچک آزمایشگاهی کاهش داده و سبب کاهش شاخص استرس اکسیداتیو مغز و آسیب‌های هیستوپاتولوژیک در طی القای تشنج کیندلینگ می‌گردد.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد القای تشنج‌های کیندلینگ سطح سرمی BDNF را در این حیوانات افزایش داده است. بر اساس نتایج مطالعات، تغییرات سطح سرمی BDNF همسو با تغییرات مغزی این فاکتور در تشنج‌های صرعی القا شده در حیوانات آزمایشگاهی گزارش شده است [۱۱، ۱۰]. طبق یافته‌های مطالعات، BDNF یک فاکتور نوروتروفیک در سیستم عصبی بوده و نقش مهمی در رشد و بقای نورونی داشته و باعث تنظیم عملکرد و پلاستیسیته سیناپسی در سیستم عصبی می‌گردد [۳۰]. در افراد دچار بیماری تشنج و حالت‌های صرعی میزان بیان BDNF و رسپتورهای آن در قسمت‌های مختلف مغز افزایش یافته و بر اساس نتایج مطالعات به نظر می‌رسد در بروز تشنج‌های مغزی نقش داشته باشد [۹، ۳۱]. در این راستا، افزایش سطح بیان mRNA مربوط به BDNF و سایر نوروتروفین‌ها در بافت مغز در مدل‌های تشنج کیندلینگ و سایر حالات صرعی در مدل‌های آزمایشگاهی گزارش شده است [۳۲]. بر اساس یافته‌های مطالعات، افزایش میزان نوروتروفین‌های مغز به ویژه BDNF به دنبال ایجاد تشنج‌های کیندلینگ میزان تحریک‌پذیری نوروها را افزایش داده و منجر به ایجاد حالت‌های صرعی می‌گردد [۱۱، ۱۰]. در این راستا، طبق نتایج مطالعه حاضر این افزایش تحریک‌پذیری را می‌توان با کاهش تدریجی latency در طول آزمایش تایید کرد. در حالی که حیوانات تیمار شده با فنوفیبرات این کاهش تدریجی در میزان latency را نشان نداده و میزان آن در طول آزمایش تغییر چندانی پیدا نکرد. اگر کاهش تدریجی latency به دلیل افزایش سطح BDNF مغز ایجاد شده باشد بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش میزان BDNF در حیوانات تیمار شده با فنوفیبرات از افزایش تحریک‌پذیری نوروها و سیستم عصبی جلوگیری کرده و بدین ترتیب مانع کاهش تدریجی میزان latency در طول آزمایش گردیده و باعث تاخیر در ظاهر شدن حالت کیندلینگ کامل در حیوانات این گروه شده است. برای تایید این ادعا می‌توان به نتایج مربوط به کورلیشن سطح



apoptosis in the brains of male mice. *Metab Brain Dis* 2020; 35: 385-399.

<https://doi.org/10.1007/s11011-019-00502-4>

[5] Ravizza T, Vezzani A. Pharmacological targeting of brain inflammation in epilepsy: Therapeutic perspectives from experimental and clinical studies. *Epilepsia Open* 2018; 3: 133-142.

<https://doi.org/10.1002/epi4.12242>

[6] Xu YL, Li XX, Zhuang SJ, Guo SF, Xiang JP, Wang L, et al. Significant association of BDNF rs6265 G> A polymorphism with susceptibility to epilepsy: a meta-analysis. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2018; 14: 1035.

<https://doi.org/10.2147/NDT.S154927>

[7] Conner JM, Lauterborn JC, Yan Q, Gall CM, Varon S. Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. *J Neurosci* 1997; 17: 2295-2313.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-07-02295.1997>

[8] Anderson KD, Alderson RF, Altar CA, DiStefano PS, Corcoran TL, Lindsay RM, et al. Differential distribution of exogenous BDNF, NGF, and NT-3 in the brain corresponds to the relative abundance and distribution of high-affinity and low-affinity neurotrophin receptors. *J Comp Neurol* 1995; 357: 296-317.

<https://doi.org/10.1002/cne.903570209>

[9] Martínez-Levy G, Rocha L, Lubin F, Alonso-Vanegas M, Nani A, Buentello-García R, et al. Increased expression of BDNF transcript with exon VI in hippocampi of patients with pharmaco-resistant temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 2016; 314: 12-21.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.046>

[10] Alvim M, Yasuda C, Morita M, Coan A, Barbosa R, Vieira E, et al. The relationship between blood serum BDNF and seizure frequency in temporal lobe epilepsy patients. *J Neurol Sci* 2017; 381: 334.

<https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.08.948>

[11] Patel V, Katyal J, Rashid H, Gupta YK. Effect of pentylentetrazole-induced seizures on serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels and cognition in rats. *Int J Epilepsy* 2018; 5: A0047.

<https://doi.org/10.1055/s-0039-1694903>

[12] Luo Y, He Q, Kuang G, Jiang Q, Yang J. PPAR-alpha and PPAR-beta expression changes in the hippocampus of rats undergoing global cerebral ischemia/reperfusion due to PPAR-gamma status. *Behav Brain Funct* 2014; 10: 21.

<https://doi.org/10.1186/1744-9081-10-21>

[13] Gautier S, Ouk T, Pétrault M, Pétrault O, Bérézowski V, Bordet R. PPAR-Alpha agonist used at the acute phase of experimental ischemic stroke reduces occurrence of thrombolysis-induced hemorrhage in rats. *PPAR Res* 2015; 2015: 1-6.

<https://doi.org/10.1155/2015/246329>

[14] Guo Q, Wang G, Namura S. Fenofibrate improves cerebral blood flow after middle cerebral artery occlusion in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010; 30: 70-78.

<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.185>

<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.201>

[15] Villapol S. Roles of peroxisome proliferator-activated receptor gamma on brain and peripheral inflammation. *Cell Mol Neurobiol* 2018; 38: 121-132.

<https://doi.org/10.1007/s10571-017-0554-5>

[16] Gelé P, Vingtdex V, Potey C, Drobecq H, Ghestem A, Melnyk P, et al. Recovery of brain biomarkers following peroxisome proliferator-activated receptor agonist neuroprotective treatment before ischemic stroke. *Proteome Sci* 2014; 12: 24.

<https://doi.org/10.1186/1477-5956-12-24>

[17] Chistyakov DV, Aleshin SE, Astakhova AA, Sergeeva MG, Reiser G. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) alpha and -gamma of rat brain astrocytes in the course of activation by toll-like receptor agonists. *J Neurochem* 2015; 134: 113-124.

<https://doi.org/10.1111/jnc.13101>

[18] Wang G, Liu X, Guo Q, Namura S. Chronic treatment with fibrates elevates superoxide dismutase in adult mouse brain microvessels. *Brain Res* 2010; 1359: 247-255.

<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.08.075>

اساس یافته‌های مطالعات، رادیکال‌های آزاد ممکن است از طریق افزایش تحریک‌پذیری نورون‌ها باعث ایجاد تشنج‌های مغزی گردند [۳۶،۳۷]. بنابراین، جلوگیری از کاهش پیش‌رونده latency در حیوانات تیمار شده با فنوفیرات ممکن است بخشی به دلیل کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد توسط فنوفیرات باشد که البته این ادعا نیاز به تحقیقات کامل‌تری دارد. برای تایید این ادعا می‌توان به نتایج مربوط به کورلیشن سطح مغزی MDA و متغیرهای تشنج اشاره نمود که یک کورلیشن قوی بین افزایش MDA و کاهش مدت زمان تاخیری و همچنین یک کورلیشن نسبتاً خوب بین افزایش MDA و افزایش شدت تشنج مشاهده گردید.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد استفاده از فنوفیرات در طی ایجاد تشنج کیندلینگ در موش کوچک آزمایشگاهی از افزایش سطح سرمی BDNF جلوگیری کرده و سطح مغزی MDA را به همراه آسیب‌های هیستوپاتولوژیک بهبود می‌بخشد. همچنین بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق استنباط می‌گردد که فنوفیرات ممکن است از طریق کاهش سطح BDNF و استرس اکسیداتیو مغز در بهبود رفتارهای تشنجی در تشنج کیندلینگ القا شده در موش کوچک آزمایشگاهی موثر باشد. با این وجود برای اثبات این ادعا نیاز به انجام تحقیقات پیش‌تری است.

## تشکر و قدردانی

این تحقیق در گروه فیزیولوژی و فیزیکی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) انجام شده است. بدین وسیله نویسندگان از همکاری گروه مربوطه، کمیته تحقیقات دانشجویی و همچنین معاونت پژوهش دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) که مقدمات و هزینه مورد نیاز این تحقیق را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می‌کنند.

## منابع

- [1] Sazhina T, Sitovskaya D, Zabrodskaya YM, Bazhanova E. Functional imbalance of glutamate-and GABAergic neuronal systems in the pathogenesis of focal drug-resistant epilepsy in humans. *Bull Exp Biol Med* 2020; 168: 529-532. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04747-3>
- [2] Schousboe A, Wellendorph P, Frølund B, Clausen RP, Krogsgaard-Larsen P. Astrocytic GABA transporters: pharmacological properties and targets for antiepileptic drugs. *Glial Amino Acid Transporters* 2017; 16: 283-296. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-55769-4\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-319-55769-4_14)
- [3] Puttachary S, Sharma S. Seizure-induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 745613. <https://doi.org/10.1155/2015/745613>
- [4] El-Missiry MA, Othman AI, Amer MA, Sedki M, Ali SM, El-Sherbiny IM. Nanoformulated ellagic acid ameliorates pentylentetrazol-induced experimental epileptic seizures by modulating oxidative stress, inflammatory cytokines and

promising target in therapy of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Neurochem Res* 2020; 45: 972-988.

<https://doi.org/10.1007/s11064-020-02993-5>

[29] Ogawa K, Yagi T, Guo T, Takeda K, Ohguchi H, Koyama H, et al. Pemafibrate, a selective PPAR $\alpha$  modulator, and fenofibrate suppress microglial activation through distinct PPAR $\alpha$  and SIRT1-dependent pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 524: 385-391.

<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.01.118>

[30] Mohd Lazaldin MA, Iezhitsa I, Agarwal R, Bakar NS, Agarwal P, Mohd Ismail N. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor against amyloid beta 1-40-induced retinal and optic nerve damage. *Eur J Neurosci* 2020; 51: 2394-2411.

<https://doi.org/10.1111/ejn.14662>

[31] Kazmi Z, Zeeshan S, Khan A, Malik S, Shehzad A, Seo EK, et al. Anti-epileptic activity of daidzin in PTZ-induced mice model by targeting oxidative stress and BDNF/VEGF signaling. *Neurotoxicology* 2020; 79: 150-163.

<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.05.005>

[32] Lin TW, Harward SC, Huang YZ, McNamara JO. Targeting BDNF/TrkB pathways for preventing or suppressing epilepsy. *Neuropharmacology* 2020; 167: 107734.

<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107734>

[33] Panigrahy SR, Pradhan S, Maharana CS. Amelioration of oxidative Stress and neuroinflammation by saroglitazar, a dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonist in MES induced epileptic rats. *Biomed Pharmacol J* 2019; 12: 1985-1991.

<https://doi.org/10.13005/bpi/1830>

[34] de Souza AG, Chaves Filho AJ, Oliveira JV, de Souza DA, Lopes IS, de Carvalho MA, et al. Prevention of pentylenetetrazole-induced kindling and behavioral comorbidities in mice by levetiracetam combined with the GLP-1 agonist liraglutide: involvement of brain antioxidant and BDNF upregulating properties. *Biomed Pharmacother* 2019; 109: 429-439.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.066>

[35] Sarahian N, Mohammadi MT, Darabi S, Salem F. The effects of the peroxisome-proliferator activated receptor-alpha agonist, fenofibrate, on the antioxidant capacity of the brain in pentylenetetrazol kindling seizures in mice. *React Oxyg Species (Apex)* 2019; 7: 47-54,47-54.

<https://doi.org/10.20455/ros.2019.807>

[36] Ersan S, Cigdem B, Bakir D, Dogan HO. Determination of levels of oxidative stress and nitrosative stress in patients with epilepsy. *Epilepsy Res* 2020; 106352.

<https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106352>

[37] Borowicz-Reutt KK, Czuczwar SJ. Role of oxidative stress in epileptogenesis and potential implications for therapy. *Pharmacol Rep* 2020; 72: 1218-1226.

<https://doi.org/10.1007/s43440-020-00143-w>

[19] Bhateja DK, Dhull DK, Gill A, Sidhu A, Sharma S, Reddy BK, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  activation attenuates 3-nitropropionic acid induced behavioral and biochemical alterations in rats: possible neuroprotective mechanisms. *Eur J Pharmacol* 2012; 674: 33-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.10.029>

[20] Chang KL, Pee HN, Tan WP, Dawe GS, Holmes E, Nicholson JK, et al. Metabolic profiling of CHO-AbetaPP695 cells revealed mitochondrial dysfunction prior to amyloid-beta pathology and potential therapeutic effects of both PPARgamma and PPARalpha Agonisms for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2015; 44: 215-231.

<https://doi.org/10.3233/JAD-140429>

[21] Deplanque D, Gelé P, Pétrault O, Six I, Furman C, Bouly M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  activation as a mechanism of preventive neuroprotection induced by chronic fenofibrate treatment. *J Neurosci* 2003; 23: 6264-6271.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-15-06264.2003>

[22] Barbiero JK, Santiago RM, Persike DS, da Silva Fernandes MJ, Tonin FS, da Cunha C, et al. Neuroprotective effects of peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma agonists in model of parkinsonism induced by intranigral 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Behav Brain Res* 2014; 274: 390-399.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.014>

[23] Watanabe Y, Kaida Y, Fukuhara S, Takechi K, Uehara T, Kamei C. Participation of metabotropic glutamate receptors in pentetrazol-induced kindled seizure. *Epilepsia* 2011; 52: 140-150.

<https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02764.x>

[24] Malhi SM, Jawed H, Hanif F, Ashraf N, Zubair F, Siddiqui BS, et al. Modulation of c-Fos and BDNF protein expression in pentylenetetrazole-kindled mice following the treatment with novel antiepileptic compound HHL-6. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 876712.

<https://doi.org/10.1155/2014/876712>

[25] De Silva DS, Wilson RM, Hutchinson C, Ip PC, Garcia AG, Lancel S, et al. Fenofibrate inhibits aldosterone-induced apoptosis in adult rat ventricular myocytes via stress-activated kinase-dependent mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: H1983-1993.

<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00002.2009>

[26] Schilling M, Wetzel W, Grecksch G, Becker A. Pentylenetetrazole kindling affects sleep in rats. *Epilepsia* 2006; 47: 2075-2082.

<https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00854.x>

[27] Arjmand Abbassi Y, Mohammadi MT, Sarami Foroshani M, Raouf Sarshoori J. Captopril and valsartan may improve cognitive function through potentiation of the brain antioxidant defense system and attenuation of oxidative/nitrosative damage in STZ-Induced dementia in rat. *Adv pharm bull* 2016; 6: 531-539.

<https://doi.org/10.15171/apb.2016.067>

[28] Wójtowicz S, Strosznajder AK, Jeżyna M, Strosznajder JB. The novel role of PPAR alpha in the brain:

## Effect of fenofibrate on plasma level of BDNF and brain oxidative stress markers in pentylenetetrazole-induced kindling seizure in mice

Nahid Sarahian (M.Sc)<sup>1</sup>, Mohammad Taghi Mohammadi (Ph.D)<sup>\*2</sup>, Shima Shahyad (Ph.D)<sup>3</sup>, Mohsen Rezaei (M.Sc)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Student Research Committee, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> - Dept. of Physiology and Medical Physics, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup>- Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

\* Corresponding author. +98 9127713583 Mohammadi.mohammadt@yahoo.com

Received: 16 Jan 2021; Accepted: 21 Apr 2021

**Introduction:** The neuroprotective effect and pleiotropic functions of PPAR $\alpha$  agonists (peroxisome proliferator activated receptor-alpha) such as fenofibrate and bezafibrate have been demonstrated by the previous studies. The current study evaluated the antiepileptic effects and neuroprotective functions of fenofibrate in pentylenetetrazole (PTZ)-induced kindling seizure in mice.

**Materials and Methods:** Adult male NMRI mice were randomly assigned into three groups (n=8): Control, untreated kindled mice and fenofibrate-treated kindled animals. Repeated intraperitoneal injections of PTZ (45 mg/kg) once every 48 hours were used to develop the kindling seizure for 21 days. Treated mice were administered orally fenofibrate at doses of 30 mg/kg/day. Plasma level of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), brain level of malondialdehyde (MDA) and histopathological changes were evaluated at termination of the study.

**Results:** Fenofibrate administration considerably improved the seizure latency in treated kindled mice. Fenofibrate significantly ( $P<0.05$ ) decreased plasma BDNF level in treated kindled mice ( $12.06\pm 0.08$  ng/mL) compared to PTZ group ( $13.43\pm 0.20$  ng/mL). Treatment with fenofibrate significantly ( $P<0.05$ ) decreased MDA level of brain by 68% in treated kindled mice compared to PTZ group. In addition, fenofibrate improved the histopathological damages in treated kindled animals.

**Conclusion:** Fenofibrate ameliorated the plasma level of BDNF and brain level of MDA accompanied with the brain histopathological damages in kindling seizure in mice that might be associated to improving the seizure behaviors.

**Keywords:** Fenofibrate, Status epilepticus, Neuroprotection, Brain-Derived Neurotrophic Factor, Malondialdehyde

---