بررسی اثر ضدالتهابی داروی سدیم والپروات با استفاده از مدل کاراژینان در موش صحرایی نر

دکترمحمد جواد خشنود منصورخانی*
دکتر مختار مختاری**
رویا صحت***

*دکترای فارماکولوژی ـ توکسیکولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی ـ توکسیکولوژی
** دکترای فیزیولوژی، دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، دانشکده پزشکی، گروه زیست‌شناسی
*** کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، دانشکده پزشکی، گروه زیست‌شناسی

تاریخ وصول:۱۳۸۷/۸/۲۱
تاریخ پذیرش:۱۳۸۷/۱۲/۱۹

مؤلف مسئول: دکترمحمد جواد خشنود منصورخانی
پست الکترونیک:khoshnoudm@sums.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: التهاب پاسخ دفاعی بدن به محرک‌های خارجی و داخلی از قبیل؛ مواد شیمیایی، اشعه، آسیب و میکروارگانیسم‌های مهاجم می‌باشد که منجر به درد و تخریب بافتی و نهایتاً اختلال در کیفیت زندگی بیمار می‌گردد. امروزه کنترل و درمان التهاب از اهمیت زیادی برخورداراست و از داروهای صناعی و طبیعی زیادی برای درمان آن استفاده می‌شود و ترکیبات بسیاری هم در حال مطالعه و بررسی می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضدالتهابی داروی سدیم والپروات با استفاده از مدل التهابی کاراژینان در موش صحرایی نر بود.

مواد و روش‌ها: این یک مطالعه تجربی است که طی سال‌های ۱۳۸۷ــ ۱۳۸۶ در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز بر روی ۶۰ سر موش صحرایی نر انجام گرفت. نیم ساعت پس از تجویز داخل صفاقی مقادیر ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان از داروی سدیم والپروات، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر کاراژینان ۲ درصد، به صورت زیر جلدی به کف پای حیوان تزریق شد. دگزامتازون و سرم نمکی به صورت داخل صفاقی و به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی تجویز شد. میزان التهاب به روش اندازه‌گیری حجم پای حیوان و میزان نشت پلاسمایی به روش تزریق وریدی تریپان‌بلو ارزیابی گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار گراف‌پد و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه با پس آزمون دانت تحلیل گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد داروی سدیم والپروات در مقادیر ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان، در مقایسه با گروه کنترل باعث جلوگیری از التهاب و نشت پلاسمایی می‌شود، همچنین مقادیر مورد مطالعه ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم سدیم والپروات به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان، دارای اثرات ضدالتهابی است و مقدار ۶۰۰ میلی‌گرم سدیم والپروات به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان، بهترین اثر ضد التهابی و ضد نشت پلاسمایی را ایجاد کرده است.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج دیگر مطالعات، احتمالاً سدیم والپروات غلظت گاما آمینوبوتیریک اسید را در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی افزایش می‌دهد و سبب کاهش درد و التهاب می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: سدیم والپروات، التهاب، کاراژینان

مقدمه

به دنبال آسیب‌های بافتی به وسیله باکتری‌ها، مواد شیمیایی، گرما یا پدیده‌های دیگر، ترکیبات متعددی به وسیله بافت‌های آسیب دیده آزاد می‌شود که باعث ایجاد تغییرات ثانویه قابل توجهی در بافت مزبور می‌گردند. مجموعه کامل این تغییرات التهاب نامیده می‌شود که منجر به درد و تخریب بافتی و نهایتاً اختلال در زندگی بیمار می‌گردد و به همین دلیل کنترل و درمان آن از اهمیت زیادی برخوردار است(۱). از مهمترین داروهایی که امروزه به عنوان داروهای ضد التهابی استفاده می‌شود گلوکوکورتیکوئیدها و داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی می‌باشند(۲). سدیم والپروات نمک اسید والپرویک می‌باشد که اغلب سفید، قابل حل در آب، جاذب رطوبت و کمی قابل حل در الکل می‌باشد(۳). این دارو بر ضد تشنجات به خصوص زمانی که توأم با حملات تونیک باشد بسیار مؤثر است و از نظر توانایی آن در کنترل بعضی از انواع تشنجات میوکلونیک منحصر به فرد است(۴). همچنین از این دارو در درمان صرع‌های عمومی و اولیه نیز استفاده می‌شود. والپروات برای درمان فازهای حاد اختلالات دو قطبی و همچنین میگرن نیز کاربرد دارد(۶ و۵).

سدیم والپروات در کنترل بیماری کوشینگ و همچنین به عنوان متعادل کننده خلق وخو نیز استفاده می‌شود(۳). سطوح درمانی سدیم والپروات از ۱۰۰ـ ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر است. برخی بیماران ممکن است به سطوح حداقل بیش از ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیاز داشته باشند و آن را تحمل کنند(۷). گزارش‌های پراکنده‌ای در خصوص تأثیر داروی سدیم والپروات برفرآیندهای التهابی از طریق آزادسازی سیتوکین‌های التهابی(IL-1,TNF و هیستامین)، عملکرد لکوسیت‌ها، متابولیسم اسید آراشیدونیک و در نتیجه تولید پروستا گلاندین‌ها و لکوترین‌ها موجود می‌باشد. این دارو باعث ایجاد کاهش لوکوسیت‌ها، نوترفیل‌ها و ترمبوسیت‌ها می‌شود (۹ و ۸)، ولی این اختلالات موقتی است و با قطع والپروات از بین می‌رود(۳). با توجه به اهمیت شناخت عوامل متعددی که باعث ایجاد التهاب، کنترل و درمان التهاب می‌شوند، هدف از این تحقیق بررسی اثر ضدالتهابی داروی سدیم والپروات با استفاده از مدل التهابی کاراژینان در موش صحرایی نر بود.

مواد و روش‌ها

این یک مطالعه تجربی است که طی سال‌های ۱۳۸۷ـ ۱۳۸۶ در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز بر روی ۶۰ سر موش صحرایی نر انجام گرفت. در این پژوهش کاراژینان و تریپان‌بلو از شرکت سیگما، پنتوباربیتال از شرکت ساندوز و دگزامتازون از داروپخش خریداری گردید و سدیم والپروات از طرف شرکت روز دارو هدیه گردید. موش‌های صحرایی نر با وزن ۲۰۰ـ۱۸۰ گرم بودند که از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و به محل انجام آزمایش انتقال داده شد. جهت سازش حیوانات

با محیط جدید، تمام حیوانات به مدت یک هفته در آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده داروسازی و در شرایط عادی تاریکی و روشنایی (۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی) و درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و با رعایت اصول بهداشتی نگهداری شدند. درتمام طول دوره نگهداری، حیوانات از غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب کافی استفاده نمودند و در کلیه مراحل تحقیق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی کاملاً رعایت گردید. حیوانات به صورت تصادفی در ۵ گروه ۱۲ تایی به شرح زیرقرار گرفتند؛ گروه کنترل منفی که حیوانات این گروه سرم نمکی (نرمال سالین) به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند و بعد از نیم ساعت ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول کاراژینان ۲ درصد به صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق شد، گروه کنترل مثبت که حیوانات این گروه دگزامتازون به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و بعد از نیم ساعت ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول کاراژینان ۲ درصد به صورت زیر جلدی به کف پای حیوان تزریق شد، گروههای آزمایش که حیوانات این گروه درسه دسته ۱۲تایی قرار گرفتند و محلول سدیم والپروات با مقادیر ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند و بعد از نیم ساعت ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول کاراژینان ۲ درصد به صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق شد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد یکی از روش‌های معمول برای تعیین التهاب ایجاد شده اندازه‌گیری حجم اندامی است که با مواد التهاب‌زا ملتهب گردیده است(۱۰). به همین منظور اثر ضد التهابی دارو با استفاده از آزمون ادم حاصل از کاراژینان مورد مطالعه قرار گرفت. ترکیب ۲ در صد کاراژینان در سرم نمکی یک ساعت پیش از هر آزمایش تهیه گردید. نیم ساعت پس از تجویز داخل صفاقی سدیم والپروات، ۰/۱ میلی‌لیتر از کاراژینان ۲ در صد به کف پاهای حیوانات مورد مطالعه تزریق گردید. دارو با مقادیر ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. حجم پای حیوان بلافاصله و در فاصله زمانی ۳ ساعت پس از تزریق کاراژینان با استفاده از قانون ارشمیدس اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که بعد از توزین حیوان، حیوان در نگه دارنده[1] قرار داده شد. یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری را پر از آب کرده، روی ترازو گذاشته و ترازو صفر شد. با پنس پاهای حیوان را از شکاف نگه دارنده بیرون کشیده، با ماژیک مخصوص در محل زانوی حیوان علامت‌گذاری صورت گرفت. سپس هر کدام از پاهای حیوان را تا محل نشانه درون بشر آب فرو برده، وزن نشان داده شده روی ترازو یاداشت گردید، بر اساس قانون ارشمیدس میزان وزن پا نشان‌دهنده میزان حجم پا می‌باشد(۱۱). پس از اندازه گیری حجم پا، از طریق ورید دمی، ماده رنگی تریپان بلو به میزان ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به حیوان تزریق شد. نیم ساعت

1-Restrainer

پس از تزریق تریپان بلو، با قراردادن حیوان در دسیکاتور اشباع شده با دی اتیل اتر به حیوان بیهوشی القاء گردید و سپس با تزریق ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیوپنتال داخل صفاقی، در حیوان بیهوشی عمیق ایجاد شد، آنگاه پاهای حیوان از محل نشانه قطع شده، پاها با قیچی به صورت قطعات ریز در آورده شد و در بشر حاوی ۱۰ میلی‌لیتر فرمامید قرار گرفت و ۲۴ ساعت بعد، محلول فرمامید را صاف و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و جذب محلول زلال به دست آمده با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد(۱۳و۱۲). جذب هر محلول سه بار ثبت و سپس با توجه به منحنی کالیبراسیون غلظت تریپان‌بلو محاسبه و در نهایت بعد از محاسبه درصد التهاب و میزان تریپان بلوی استخراج شده از پای حیوان، با کمک برنامه آماری گراف پد[1] و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با پس آزمون دانت[2] میزان التهاب و میزان تریپان بلوی استخراجی گروه‌های مختلف سدیم والپروات با گروه کنترل و گروه دریافت کننده دگزامتازون مقایسه گردید. در ضمن منحنی کالیبراسیون به این شرح به دست آمد؛ چند حیوان که هیچ‌گونه دارویی دریافت نکرده بودند در دسیکاتور اشباع شده قرارداده شدند و با دی‌اتیل‌اتر به آنها بیهوشی القاء گردید و سپس با تزریق ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیوپنتال داخل صفاقی، بیهوشی عمیق ایجاد شد، آن‌گاه پاهای حیوانات از محل نشانه قطع شده، با قیچی به صورت قطعات ریز در آورده شد و در بشر حاوی ۱۰ میلی‌لیتر فرمامید قرار گرفت و ۲۴ ساعت بعد، محلول فرمامید را صاف و سپس سانتریفیوژ کرده و از محلول زلال رویی به عنوان حامل جهت تهیه غلظت‌های مختلف استاندارد تریپان‌بلو استفاده گردید. جذب هر محلول استاندارد حداقل سه بار با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۹۵ نانومتر(۱۳و۱۲) خوانده شد و جذب خوانده شده ثبت و سپس به وسیله برنامه کامپیوتری اکسل منحنی کالیبراسیون تریپان بلو رسم گردید.

یافته‌ها

نتایج نشان داد التهاب ایجاد شده به وسیله کاراژینان در گروههای دریافت کننده دگزامتازون (کنترل مثبت) و مقادیر ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سدیم والپروات به طور معنی‌داری کمتر از التهاب ایجاد شده به وسیله کاراژینان در گروه حامل (کنترل منفی) می‌باشد($p<0/01$). میانگین درصد التهاب و خطای استاندارد میانگین در گروههای مختلف دریافت کننده سدیم والپروات و گروه کنترل مثبت(دگزامتازون) با گروه نرمال‌سالین(کنترل منفی) مقایسه و این نتایج حاصل شده است(نمودار۱) ؛ درصد التهاب در گروه دریافت کننده سدیم والپروات با مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم نسبت به گروه کنترل منفی تفاوت معنی‌داری نشان نداد، ولی درصد التهاب در گروه کنترل مثبت و گروههای دریافت کننده

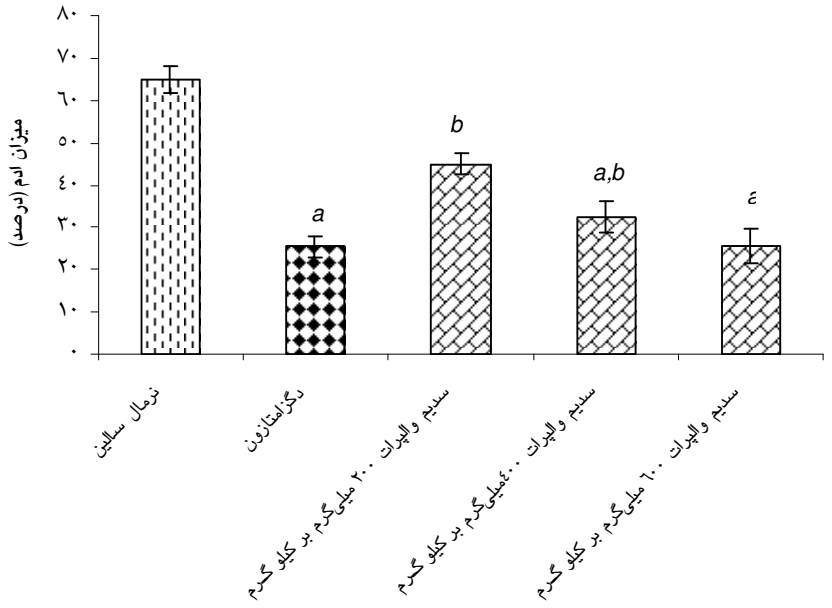
1-Instat Graph Pad
2-One way ANOVA with Dunnett's post test

سدیم والپروات با مقدار ۶۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل منفی کاهش معنی‌داری نشان داد(p< ۰/۰۱). به علاوه با مقایسه گروههای دریافت کننده سدیم والپروات با گروه دگزامتازون(کنترل مثبت) مشخص گردید که میزان التهاب در گروههای دریافت کننده مقادیر ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سدیم والپروات به طور معنی‌داری بیشتر از التهاب ایجاد شده به وسیله کاراژینان در گروه دگزامتازون(کنترل مثبت) بوده است (p < ۰/۰ ۱)، ولی گروه دریافت کننده ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سدیم والپروات تقریباً به میزان گروه دگزامتازون (کنترل مثبت) باعث مهار التهاب گردیده است.

به منظور تعیین غلظت تریپان‌بلو در نمونه استخراج شده از پای حیوان، داده‌های مربوط به غلظت‌های تهیه شده تریپان‌بلو و نیز جذب آن‌ها را وارد برنامه اکسل کرده و منحنی کالیبراسیون و معادله خط به وسیله این نرم‌افزار رسم گردید(نمودار۲). معادله خط به صورت y=۱۵۴/۰۳x +۰/۰۵۵۹ به دست آمد.

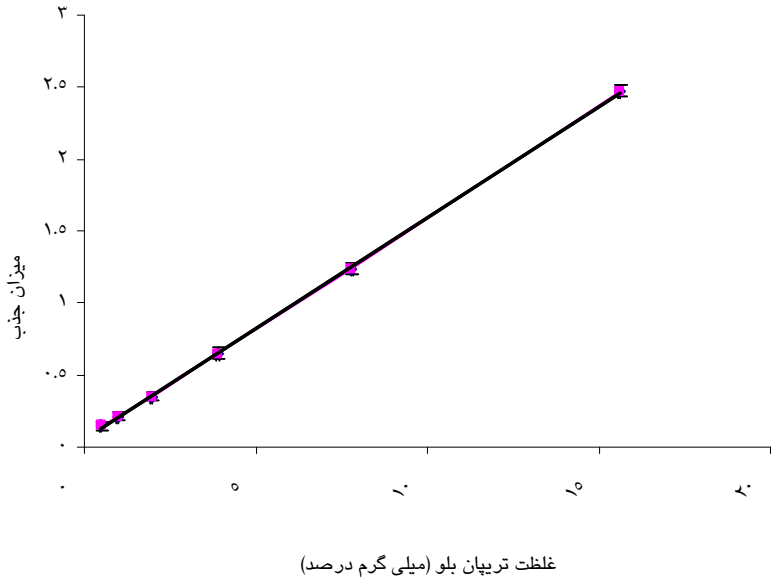
سپس با قراردادن داده‌های مربوط به جذب نمونه‌های به دست آمده از پای حیوانات گروههای مختلف در این معادله، غلظت تریپان‌بلو در نمونه‌ها محاسبه شد.

آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون دانت نشان می‌دهد که میانگین غلظت تریپان بلوی استخراج شده در گروه دگزامتازون (کنترل مثبت) و گروههای دریافت کننده مقادیر ۴۰۰ و۶۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم سدیم والپروات در مقایسه با گروه دریافت کننده نرمال سالین (کنترل منفی) کاهش معنی‌داری دارد (p < ۰/۰ ۱). غلظت تریپان‌بلوی استخراج شده در گروه دریافت کننده دگزامتازون به میزان ۵۸/۶۲ درصد و در گروههای دریافت کننده مقادیر۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سدیم والپروات به ترتیب به میزان ۳۷/۹۳ و ۵۵/۱۷ درصد کمتر از غلظت تریپان‌بلوی استخراج شده در گروه دریافت کننده نرمال سالین (کنترل منفی) می‌باشد. به علاوه با مقایسه گروههای دریافت کننده سدیم والپروات با گروه دگزامتازون(کنترل مثبت) مشخص گردید که میزان تریپان‌بلوی استخراج شده در گروههای دریافت کننده مقادیر۲۰۰ و۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سدیم والپروات به طور معنی‌داری بیشتر از میزان تریپان‌بلوی استخراج شده از گروه دگزامتازون (کنترل مثبت) است (p < ۰/۰ ۱)، ولی مقدار تریپان‌بلوی استخراج شده در گروه ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سدیم والپروات اختلاف معنی‌داری با گروه دگزامتازون(کنترل مثبت) نشان نمی‌دهد. غلظت تریپان‌بلوی استخراج شده در گروههای دریافت کننده مقادیر ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سدیم والپروات به ترتیب به میزان؛ ۸/۳ ، ۳۶/۱۸ و ۵۰ درصد بیشتر از غلظت تریپان‌بلوی استخراج شده در گروه دگزامتازون (کنترل مثبت) بوده است(نمودار ۳).

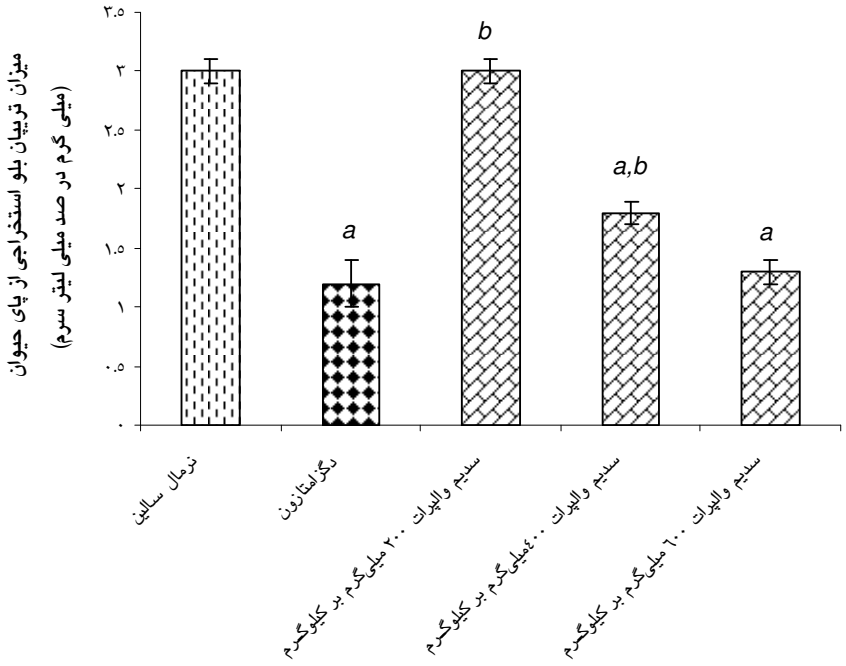


نمودار ۱: تأثیر مقادیر مختلف سدیم والپروات، دگزامتازون (کنترل مثبت) و نرمال سالین (کنترل منفی) بر میزان درصد ادم ایجاد شده به وسیله کاراژینان در کف پای موش صحرایی نر

a: اختلاف معنی دار در سطح p<۰/۰۱ درمقایسه با گروه نرمال سالین ، *b*: اختلاف معنی دار در سطح p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه دریافت کننده دگزامتازون



نمودار ۲: منحنی کالیبراسیون جهت تعیین مقدار تریپان بلو در نمونه‌های سرمی استخراج شده از پای حیوان



نمودار ۳: تأثیر مقادیر مختلف سدیم والپروات، دگزامتازون (کنترل مثبت) و نرمال‌سالین (کنترل منفی) بر میزان تریپان بلوی استخراج شده از پای موش صحرایی نر

a: اختلاف معنی دار در سطح p<۰/۰۱ درمقایسه با گروه نرمال سالین ، *b*: اختلاف معنی دار در سطح p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه دریافت کننده دگزامتازون

بحث و نتیجه‌گیری

التهاب برای برطرف کردن علت به وجود آورنده آسیب و پیامدهای آن صورت می‌گیرد(۱) و یک واکنش دفاعی بدن در برابر آسیب‌های وارده به وسیله محرک‌های مختلف است. این محرک‌ها شامل؛ مواد شیمیایی، اشعه، ضربه و یا ارگانیسم های مهاجم (ویروس، باکتری وغیره) می‌باشد(۱۴). لذا هدف از این تحقیق بررسی اثر ضدالتهابی داروی سدیم والپروات با استفاده از مدل التهابی کاراژینان در موش صحرایی نر بود.

از آن جایی که التهاب منجر به درد و تخریب بافتی در بیماران و در نهایت ایجاد اختلال در کیفیت زندگی بیمار می‌گردد، کنترل و درمان آن از اهمیت زیادی برخوردار است(۱۵). امروزه به خاطر نقش مؤثر آنزیم سیکلواکسیژناز در تولید واسطه‌های التهابی، داروهایی مانند؛ داروهای ضدالتهابی

غیراستروئیدی، دگزامتازون و سایر گلوکوکورتیکوئیدها که باعث مهار این آنزیم می‌شوند، از اهمیت بسیار زیادی بر خوردار هستند. فعالیت ضد التهابی این داروها عمدتاً به خاطر مهار آنزیم سیکلواکسیژناز و در نتیجه مهار بیوسنتز پروستاگلاندین‌ها می‌شود. همچنین این داروها باعث کاهش سنتز کینین‌ها شده، مهاجرت لکوسیت‌ها و فعالیت فاگوسیتوزی آن‌ها را مهار می‌کنند و موجب کاهش آزادسازی سروتونین می‌گردند. مهار کننده‌های کاکس دو[1] از جمله داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی[2]، موجب مهار نشت لکوسیت‌ها و مهار تولید پروستاگلاندین ای دو[3] و ترومبوکسان بی دو[4] در مایع اگزودا در طی پاسخ التهابی می‌شوند(۱۶). همچنین برخی از این داروها سبب مهارکموتاکسی، کاهش تولید سیتوکین اینترلوکین یک[5] ، کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و سوپراکسید و تداخل با واکنش‌های داخل سلولی وابسته به کلسیم نیز می‌گردند. در طی درمان با این داروها، به دنبال کاهش آزادسازی واسطه‌های التهابی از گرانولوسیت‌ها، بازوفیل‌ها و ماست سل‌ها التهاب نیز کاهش می‌یابد. دگزامتازون یک گلوکوکورتیکواستروئید با خاصیت ضد التهابی است. این دارو اثر ضد التهابی خود را با مهار بروز ژن‌های تولید کننده سلول‌های ایمنی اعمال می‌کند. همچنین اثر مهاری بر روی فاکتورهای پیش التهابی و اثرتحریکی بر فاکتورهای ضد التهابی دارد(۱۷). یکی از متداول‌ترین روش‌های آزمایشگاهی ایجاد التهاب در حیوانات آزمایشگاهی، به کارگیری مواد شیمیایی خاصی مثل کاراژینان می‌باشد(۲۰ـ ۱۸). همچنین با استفاده از موادی مثل فسفولیپاز A2، دکستران، گزیلن، فرمالین و مخمرها نیز می‌توان در حیوانات التهاب ایجاد کرد(۲۳ـ ۲۱). ادم ایجاد شده به وسیله کاراژینان ۴ـ۲ ساعت بعد از تزریق به اوج خود رسیده و ۷۲ـ۲۴ ساعت به طول می‌انجامد(۲۴).

مطالعات انجام شده بر روی خوکچه هندی نشان داده است سدیم والپروات سبب کاهش التهاب نوروژنیک در بین پرده‌های مغز می‌شود. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد سدیم والپروات بر روی سلول‌های c-fos اثر گذاشته و تقریباً ۵۰ درصد این سلول‌ها را کاهش می‌دهد. در توجیه این مسئله گفته شده است که کاهش این سلول‌ها به وسیله والپروات به وسیله گیرنده‌های گابا میانجی‌گری می‌شود و این دارو التهاب را از طریق مکانیسم‌های واسطه‌ای این گیرنده‌ها مهار می‌کند. همچنین اثرات ضدآسمی سدیم والپروات بر روی چند بیمار مبتلا به آسم برونشیال مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که آسم برونشیال به طور عمده یک بیماری نورولوژیک و التهابی است به نظر می‌رسد که این دارو اثر ضدالتهابی داشته باشد(۲۵). در تقلیل التهاب، مکانیسم‌هایی مانند حذف یا خنثی کردن واسطه‌های شیمیایی (فاکتور فعال کننده پلاکتی، سیتوکین‌ها و

1-Cyclooxygenase-2 Inhibitors (COX-2 Inhibitors)
2-Non-stroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)
3-Prostaglandin E2 (PGE_2)
4-Thromboxane B2 (TXB_2)
5-Interleukin 1(IL-1)

هسیتامین)، توقف مهاجرت لکوسیت‌ها از عروق و مرگ نوتروفیل‌هایی که از عروق خارج شده‌اند را می‌توان بیان کرد(۲۶).

یافته‌های این مطالعه نشان داد که داروی سدیم والپروات در مقادیر به کار رفته علاوه بر این که از التهاب ناشی از کاراژینان جلوگیری کرد توانست از نشت پلاسمایی ناشی از این ترکیب التهاب زا نیز ممانعت بنماید.

از جمله مکانیسم‌هایی که در ایجاد التهاب مطرح می‌شود فعال شدن کمپلکس آی کاپا بی کیناز[1] به وسیله اکسیژن آزاد می‌باشد. این کمپلکس فعال شده می‌تواند باعث فسفریله شدن NF-κB گردد و اجزای P_{50} و P_{65} آن آزاد و از سیتوپلاسم وارد هسته شوند و سپس به یک کمک فعال کننده [2] متصل می‌گردد که به نوبه خود باعث فعال شدن ژن‌های مربوط به عوامل التهاب‌زا می‌شود(۲۷). با توجه به نتایج حاصله احتمالاً سدیم والپروات می‌تواند NF-κB را کاهش دهد. سدیم والپروات همچنین می‌تواند باعث افزایش برخی آنزیم‌ها مانند؛ پراکسیداز، کاتالاز و گلوتایتون پراکسیداز شده و از طریق کاهش اکسیژن آزاد باعث کاهش التهاب شود. همچنین بررسی‌های سایر محققان نشان می‌دهد گلوکوکورتیکوئیدها از مسیرهای مختلفی می‌توانند باعث کاهش NF-κB و درنتیجه کاهش التهاب گردند. با توجه به سایر پژوهش‌ها و نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر و نیز اثرگلوکوکورتیکوئیدها در کاهش NF-κB، می‌توان حدس زد سدیم والپروات از طریق افزایش سطح سرمی‌گلوکوکورتیکوئیدها و یا افزایش اثرات گلوکوکورتیکوئیدها درکاهش NF-κB نقش داشته باشد و در نتیجه باعث کاهش التهاب گردد(۲۸). همچنین تیمار نورون‌های نخاعی با مقادیر مختلف کاربامازپین به طور واضح اثر ضدالتهابی را نشان داد. این دارو به عنوان یک مهار کننده کانال سدیمی محسوب می‌شود. کاربامازپین ممکن است در نوع یا تعداد کانال‌های سدیمی که در انتقال پیام‌های مضر مربوط به التهاب محیطی نقش دارند، تغییراتی ایجاد کند و متعاقباً این گیرنده‌ها به کاربامازپین حساس شده و پاسخ می‌دهند(۲۹). احتمالاً سدیم والپروات تحریک‌پذیری نورون‌ها را به وسیله کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ محدود می‌کند که مکانیسم آن بر روی کانال‌های سدیمی شبیه به مکانیسم عمل کاربامازپین می‌باشد. سدیم والپروات همچنین از طریق اثر بر روی آنزیم‌های مختلف و مهار تولید پروتئین‌های ناقل مهاری، عملکرد گابا را افزایش داده و آن را طولانی مدت می‌کند و باعث کاهش درد و التهاب می‌شود. سدیم والپروات غلظت گاما آمینوبوتیریک اسید را در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی افزایش می‌دهد. در التهاب حاد گاما آمینوبوتیریک اسید به طور معنی‌داری سبب کاهش درد و التهاب می‌گردد، همچنین نشان داده شده است که این دارو با مهار ترشح هیستامین از بازوفیل‌ها و مهار ترشح فاکتور فعال کننده پلاکت و فعال کردن

1-I Kappab Kinase Complex (IKK)
2-Co- Activator

فاکتور هسته‌ای کاپا باعث کاهش التهاب می‌گردد (۲۹ و۶). به طور کلی این مطالعه نشان می‌دهد که، سدیم والپروات دارای اثر ضد التهابی در مدل کاراژینان می‌باشد، ولی مکانیسم آن ناشناخته است، هر چند مکانیسم‌هایی که دیگر محققان ذکر نموده‌اند می‌تواند مد نظر قرار گیرد. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش، پیشنهاد می‌گردد ارزیابی اثر ضد التهابی سدیم والپروات در سایر مدل‌های التهابی شامل التهاب حاد و مزمن و همچنین اثر ضد دردی این دارو در انواع مدل‌های ضد دردی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

از مدیریت محترم شرکت داروسازی روزدارو به خاطر اهدای پودر سدیم والپروات تشکر و قدردانی می‌شود.

Anti-inflammatory Effect of Sodium Valproate on Carrageenan-Induced Paw Edema in Male Rat

Khoshnood MJ[*], Mokhtari M[**], Sehhat R[***]

[*]Assistant Professor of Pharmacology and Toxicology, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[**] Associate Professor of Physiology, Department of Biology, Faculty of Medicine, Islamic Azad University of Kazeroon, Kazeroon, Iran
[**]MSc in Physiology, Department of Biology, Faculty of Medicine, Islamic Azad University of Kazeroon, Kazeroon, Iran

KEYWORDS:
Sodium Valproate, Inflammation, Carrageenan

Received: 11/11/2008
Accepted: 09/03/2009

Corresponding Author:Khoshnood MJ
Email: khoshnoudm@sums.ac.ir

ABESTRACT:

Introduction & objective: Inflammation is a body defensive response to the endogenous and exogenous stimulators such as chemical, radiation, trauma and invasive microorganism, which result pain and tissue necrosis. There are many natural and synthetic drugs for treatment of inflammation and lot of them are under investigation. Sodium valporate is an antiepileptic drug used particularly in the treatment of primary generalized seizure notably absence, myocolonic seizure, acute manic phase of bipolar disorder and prophylaxis of migraine. The previous observations showed sodium valporate increases level of gamma amino butyric acid (GABA) in the central and peripheral nervous system. In acute inflammation, GABA showed a significant attenuation of paw edema and nociception. The aim of this study was evaluation of anti-inflammatory effect of sodium valporate.

Materials & Methods: In order to evaluated the anti-inflammatory and antiexudative of sodium valporate doses of 200,400 and 600 mg/kg were investigated on rat paw edema that induced by carrageenan. In addition, the plasma leakage in the inflamed tissue was evaluated by application of trypan blue as intravenous injection. Dexamethason was used as positive control.

Results: Results showed sodium valporate doses of 400 and 600 mg/kg decreased inflammatory and exudative effect as compared to control group.

Conclusion: Although the anti-inflammatory mechanisms of this drug were not evident but we can say sodium valporate in addition to already proved effects has anti-inflammatory effect.

REFERENCES:

1.Kumar V, Cotran R, Robbins, S. Robbin's Basic Pathology. 7th ed. USA: Saunders Company; 2003; 33-60.
2.Rinsho K, Kobashi H, Adachi T, Tsabota T, Asano K, Fukai M, et al . The role of drugs and lymphocytes in granulocyte-macrophage colony formation in patients with drug iduced agranulocy tosis. The Japanese Journal of Clinical Hematology 1989; 30(30): 282-8.
3.Martindale W, Sweetman SC. The complete drug reference. 35th ed. England: Edited by Sean C Sweetman Great Britain; 2007; 458-61.
4.Roger J. Antiepileptic drugs. In: Basis and clinical pharmacology. 10th ed. USA: Katzung, B.G. Mc Graw-Hill Companie; 2006; 200-15.
5.Cutrer FM, Limmroth V, Moskowitz MA. Possible mechanisms of valprote in migraine prophylaxis. Cephalalgia 1997; 17: 93-100.
6.Mirjana S, Mirolslava Z, Stevo L. Prophylactic treatment of migraine by valproate. Medicine and Biology 2003; 106-10.
7.Cutrer FM, Moskowitz MA. The Actions of valproate and neurosteroids in a model of trigeminal pain. Headache 1996; 579-85.
8.Vesta KS, Medina PJ. Valproic acid induced neutropenia. Annual Pharmacotherapy 2003: 37; 819-21.
9.Oconnor CR, Schraeder PL, Kurland AH, Oconnor WH. Evaluation of the mechanisms of the antiepileptic drug-related chronic leucopenia. Epilepsia 1994; 35(1): 149-54.
10.Vogel HG, Vogel WH. Drug discovery and evaluation. Verley Berlin Heidelherg 1997; 4: 406-7.
11.Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR, Nunes DS, Carvalho ACT. Analgesic activity of psychotria colorata (Willd ex R & S) muell arg alkaloids. Journal of Ethnopharmacology 1995; 48: 77-83.
12.Romero A, Planas E, Poveda R, Sanchez S, Pol O, Puig M. Antiexudative effects of opioid receptor agonists in a rat model of carrageenan-induced acute inflammation of the paw. European Journal of Pharmacology 2005; 511(2-3):207-17.
13.Greco K, Lara P, Oliveria FR, Greco, R. Sudo Hayashi L. Lymphatic regeneration across an incisional wound: Inhibition by dexamethasone and aspirin, and acceleration by a microbial purified flavonoid fraction. European Journal of Pharmacology 2006; 551(1-3): 131-42.
14.Bownan WC, Rand MJ. The immune system and inflammatory mechanisms: immunosuppressant and anti-inflammatory drugs. In: Text book of pharmacology. 2nd ed. NewYork: Blachwell scientific publication; 1980; 13-4.
15.Wagner W, Khanna P, Furst DE. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, nonopioid analgesics and drugs used in gout. In: Basis and clinical pharmacology. 9th ed. USA: Katzung, B.G. Mc Graw-Hill Companie; 2004; 311-26.
16.Kirchner T, Argentieri D, Barbone A, Singer M, Steber M, Ansell J, et al. Evaluation of the anti-inflammatory activity of a dual cyclooxygenase- 2 selective/5-Lipoxygenase inhibitor, Rwj 63556, in a canine model of inflammation. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1997; 282(2): 1094-101.
17.Nakamura R, Okunki H, Ishida S, Saito Y, Teshima R, Sawada J. Gene expression prolifing of dexamethasone-treated RBL- 2H3 cells: induction of anti-inflammatory molecules. Immunology Letters 2005; 98(2): 272-9.
18.Pawlik A, Baskiewicz-masiuk M, Machalinski B, Gawronska-szklarz B. Association of cytokine gene polymorphisms and the release of cytokines from peripheral blood monouclear cells treated with methotrexate and dexamethasone. International immunopharmacology 2006; 6: 351-7.
19.Maleki N, Mohajjel Nayebi A, Gargani A. Effects of central and peripheral depletion of serotonergic system on carrageenan-induced paw oedema. International Immunopharmacology 2005; 5: 1723-30.
20.Menezes-de-Lima O, Kassuya C, Nascimento A, Henriqurs MB, Calixto J. Lipoxin A_4 inhibits acute edema in mice: Implications for the anti-edematogenic mechanism induced by aspirin. Prostaglandins and other Lipid Mediators 2006; 80(3-4): 123-35.
21.Zhang C. Gopalakrishnakone P. Histopathological studies of the acute inflammation in synovial tissue of rat knee joint following intra articular injection of PLA_2 from Chinese cobra (Naja naja atra) Venom. Toxicon 1999; 37: 183-99.

22. Carvalho RF, Ribeiro RA, Falcão RA, Lima RC, Leitão RFC, Alcantara C, et al. Angiotensin II potentiates inflammatory edema in rats: Role of mast cell degranulation. European Journal of Pharmucoloyg 2006; 540: 175-82.
23.Lu HM, Liang YZYi, Wu XJ. Anti-inflammatory effect of Houttuynia cordata injection. Journal of Ethnopharmacology 2006; 104: 245-9.
24.Roach JT, Sufka KJ. Characterization of the chick carrageenan response. Brain Research 2003, 994: 216-25.
25.Lomia M, Hcapichadz Z, Platonor EP. Efficacy of monotherapy with carbamazepine and valproic acid in patients with bronchial asthma. The Internet Journal of Neurology 2005; 4(1): 44.
26.Abbas AK, Pober JS, Lichtman AH. Cellular and Molecular Immunology. 5th ed. Boston: Saunders Company; 2005 : 243-74.
27.Ichiyama T, Kuniyuki O, Lipton JM, Matsubara T, Hayashi T, Furukawa S. Sodium valproate inhibits production of TNF-α and IL-6 and activation of NF-$_k$B. Brain Research 2000, 875, 246-51.
28.Yankovskaya V, Horsefield R, Tornroth S, Luna-Chavez C, Myoshi H, Leger C, Byrne B, Cecchini G, et al. Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen Species generation. Science 2003; 299: 700-4.
29.Chapman V, Dickenson AH. Inflammation reveals inhibition of noxious responses of rat spinal neurons by carbamazepine. Neuroreport 1997; 8(6): 1399-404.