

The Combined Effect of Wheat Germ Oil and Carbamazepine on the Improvement of Learning and Spatial Memory of Epileptic Mice

Vahid Nejati^{1*}, Vida Rahimpour¹

¹Department of Histology & Embryology, faculty of Sciences, University of Urmia, Urmia, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Epilepsy is associated with daily memory loss, learning, and behavioral disorders. Carbamazepine is an anticonvulsant drug, commonly used in the treatment of generalized tonic-clonic seizures. Wheat germ oil has the highest amount of tocopherol (vitamin E) among all vegetable oils. In this study, the combined effect of wheat germ oil and carbamazepine on improvement of learning and spatial memory, was investigated in mouse epilepsy model.

Methods: To induce chemical kindling, PTZ (40mg/kg bw) was dissolved in normal saline and injected into mice. Also, daily consumption of carbamazepine (at doses of 30 and 180mg/kg) and wheat germ oil, was performed by gavage. Learning and spatial memory of mice, were assessed using a radial maze. To analyze the behavioral data during the test days (4-7), repetitive analysis of variance, was used and to investigate total testing days, one-way ANOVA was used. The hippocampal damage was investigated using hematoxylin and eosin staining. The level of significance was considered as $p < 0.05$.

Results: The results of this study showed that administration of wheat germ oil and 30mg/kg carbamazepine in the epileptic group caused significant improvement in spatial memory and learning compared to the untreated epileptic group.

Conclusion: Wheat germ oil acts as an antioxidant agent and causes improvement in learning and spatial memory through reduction of the free radicals caused by epilepsy and use of carbamazepine.

Keywords: Epilepsy; Wheat germ oil; Carbamazepine; Learning; Spatial memory.

***Corresponding Author:**
Vahid Nejati, Department of Histology & Embryology, Faculty of Sciences, University of Urmia, Urmia, Iran.

Email:
v.nejati@urmia.ac.ir

Received: 17 Feb, 2016

Accepted: 24 June, 2016

اثر توأم روغن جوانه گندم و کاربامازپین در بهبود یادگیری و حافظه فضایی، در مدل موش صرعی

وحید نجاتی^{۱*}، ویدا رحیم پور^۱

چکیده

زمینه و هدف: بین بیماری صرع و کاهش حافظه روزانه، یادگیری و اختلال رفتاری ارتباط وجود دارد. کاربامازپین یک داروی ضد تشنج است که معمولاً در درمان صرع ژنرالیزه تونیک - کلونیک استفاده می شود. روغن جوانه گندم، بالاترین میزان توکوفرول (ویتامین E) را در میان سایر روغن های گیاهی دارا می باشد. در این مطالعه اثر توأم روغن جوانه گندم و کاربامازپین در بهبود یادگیری و حافظه فضایی، در مدل موش صرعی بررسی گردید.

روش بررسی: جهت ایجاد کیندلینگ شیمیایی، PTZ (به مقدار ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در نرمال سالین، حل و به موش ها تزریق گردید. مصرف روزانه کاربامازپین (با دوز ۳۰ و ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و روغن جوانه گندم با گاوآژ انجام شد. یادگیری و حافظه فضایی موش ها به وسیله دستگاه ماز شعاعی مورد آزمایش قرار گرفت. برای تحلیل داده های یادگیری طی روزهای آزمایش (۷-۴)، از آنالیز واریانس تکراری و برای بررسی کل روزهای آزمایش، از واریانس یک طرفه استفاده شد. میزان آسیب هیپوکامپ با کمک رنگ آمیزی هماتوکسیلین و انوزین بررسی گردید. سطح معنی داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: نتیجه این مطالعه نشان داد تجویز روغن جوانه گندم و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاربامازپین در گروه صرعی باعث بهبود معنی دار حافظه فضایی و یادگیری در مقایسه با گروه صرعی درمان نشده می شود.

نتیجه گیری: روغن جوانه گندم به عنوان یک عامل آنتی اکسیدانت عمل کرده و از طریق کاهش رادیکال های آزاد ناشی از بیماری صرع و مصرف کاربامازپین موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی می شود.

کلید واژه ها: صرع؛ روغن جوانه گندم؛ کاربامازپین؛ یادگیری؛ حافظه فضایی.

گروه بافت شناسی و جنین شناسی،
دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه،
ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

وحید نجاتی، گروه بافت شناسی و
جنین شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه
ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

v.nejati@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۳

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Nejati V, Rahimpour V. The combined effect of wheat germ oil and carbamazepine on the improvement of learning and spatial memory of epileptic mice. Qom Univ Med Sci J 2017;11(5):16-28.[Full Text in Persian]

مقدمه

محققان با بررسی بیماری صرع در کودکان، نشان داده‌اند بین بیماری صرع و کاهش حافظه روزانه، همچنین یادگیری و اختلال رفتاری ارتباط وجود دارد (۳-۱). ناحیه هیپوکامپ، بخشی از سیستم لیمبیک است که نقش فیزیولوژیک آن در بروز رفتارهای هیجانی و دخالت آن در پردازش اطلاعات فضایی، برخی از انواع حافظه و یادگیری مشخص شده است (۴).

صرع لوب تمپورال (TLE)، وضعیتی است که در آن هیپوکامپ به‌طور ژنتیکی در تشنج درگیر می‌شود (۵). گزارش شده حافظه فضایی و کوتاه، در صرع دچار اختلال می‌گردد (۶، ۷). همچنین آسیب هیپوکامپ منجر به اختلالاتی در یادگیری فضایی می‌شود (۸). پنتیلین ترازول (PTZ)، مسدودکننده انتخابی کمپلکس یونفور کلرید به گیرنده گابا A بوده که با دپلاریزاسیون غشای نورون‌ها، موجب انتشار و حفظ تشنج می‌شود (۹، ۱۰). به‌نظر می‌رسد مدل پنتیلین ترازول فقط روی مناطق لیمبیک (هیپوکامپ، آمیگدال) تأثیر نمی‌گذارد؛ بلکه بر روی بخش‌های دیگر مغز مانند قشر نیز تأثیر دارد. بنابراین، اختلالات حافظه فضایی از عوارض پنتیلین ترازول می‌باشد (۱۱، ۱۲).

کاربامازپین، یک داروی ضد تشنج است که از آن در درمان صرع‌های عمومی تونیک - کلونیک، صرع‌های جزئی ساده و چندگانه، دردهای عصبی (عصب سه قلو) و اختلالات روانی مثل بیماری دوقطبی استفاده می‌شود (۱۳). از نظر شیمیایی کاربامازپین، یک ترکیب محلول در چربی خنثی بوده که می‌تواند به‌راحتی از سد خونی مغزی، همچنین از سایر غشاهای سراسر بدن عبور کند (۱۴). مطالعات نشان داده است کاربامازپین باعث بهبودی بازیابی، عملکرد کوتاه‌مدت و حافظه فضایی، همچنین بهبود یادگیری احترازی غیرفعال در موش‌های مبتلا به صرع فعال می‌گردد (۱۷-۱۵).

روغن جوانه گندم، منبع غنی از اسیدهای چرب اشباع‌نشده است (۱۸). همچنین بالاترین میزان توکوفرول (ویتامین E) را در میان سایر روغن‌های گیاهی دارا می‌باشد (۱۹). ویتامین E، یک ماده آنتی‌اکسیدان قوی است که به‌طور مستقیم از طریق مهار رادیکال‌های سمی باعث محافظت مغز در برابر استرس اکسیداتیو، همچنین بهبود اختلالات در زمینه پیری می‌شود (۲۰).

مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد روغن جوانه گندم می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در موش‌ها، افزایش و فعالیت پراکسیداسیونی لیپیدی را کاهش دهد (۲۱). همچنین مشخص شده است ویتامین E می‌تواند به‌طور مؤثر نکرورز ایسمیک سلول‌های عصبی را کاهش دهد (۲۲). برخی از مطالعات نیز ویتامین E را به‌عنوان یک فاکتور ضدآلزایمر معرفی می‌کنند (۲۳).

در این پژوهش، اثر کاربامازپین به‌عنوان یک داروی ضد تشنج همراه با جوانه گندم بر یادگیری، حافظه فضایی موش‌های مبتلا به صرع تحت درمان با پنتیلین ترازول بررسی گردید که در این مطالعه، صرع بیماری القا شده بود. همچنین تفاوت‌های تغییرات بافتی قابل‌مقایسه‌ای بین موش‌های تحت درمان با کاربامازپین همراه با جوانه گندم و دیگر موش‌های مبتلا به صرع وجود داشت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۴۸ رأس موش سوری ماده بالغ نژاد NMRI (با وزن ۲۵-۳۲ گرم) از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی، دانشکده علوم دانشگاه ارومیه تهیه گردید. رژیم استاندارد آزمایشگاهی و آب بدون محدودیت در نظر گرفته شد. موش‌ها در شرایط استاندارد (دمای اتاق ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۳۰-۲۵٪) نگهداری شدند. قوانین رفتار با حیوانات آزمایشگاهی در تمامی مراحل آزمایش مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت رعایت گردید.

حیوانات به‌طور تصادفی در ۶ گروه ۸ تایی قرار گرفتند (جدول شماره ۱). جهت ایجاد کیندلینگ شیمیایی؛ پنتیلین ترازول (سیگمای انگلستان) به میزان ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در نرمال‌سالین حل شده و به روش تزریق داخل صفاقی (IP)، هر ۴۸ ساعت یک‌بار، در ۱۳ نوبت به موش‌ها تزریق شد. پاسخ تشنج حیوانات برای ۲۰ دقیقه مشاهده گردید (۲۴).

رفتار تشنجی ناشی از تزریق، مطابق با مطالعه Becker و همکاران (سال ۱۹۹۲) طبقه‌بندی شد (جدول شماره ۲) (۲۵). در این مطالعه فقط از حیوانات کیندلینگ کامل (Full kindle) که در سه تزریق متوالی، مراحل ۴ و ۵ را نشان دادند استفاده گردید (۲۶).

جهت کنترل و درمان صرع نیز از کاربامازپین (CBZ) استفاده شد. در مطالعات پیشین، از ۳ دوز کاربامازپین به میزان ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۹، ۳ و ۱۸ برابر دوز انسانی) در موش‌ها استفاده شده است (۲۷). بر این اساس، حداقل (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و حداکثر دوز (۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) برای کاربامازپین در موش‌ها انتخاب شد، سپس مقدار دوز برآورد شده در نرمال سالین، حل و به صورت گاوآژ معدی (PO) به موش‌ها داده شد. برای جبران عوارض کاربامازپین نیز از روغن جوانه گندم (گیاه اسانس ایران) استفاده گردید که به همراه کاربامازپین به صورت گاوآژ معدی به موش‌ها داده شد.

جدول شماره ۱: گروه‌ها و تیمارهای استفاده شده در این مطالعه

گروه	تیمار	مدت تیمار
۱	کنترل دریافت کننده سالین، (PO)	۴۲
۲	صرعی دریافت کننده پنتیلین تترازول (PTZ) با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (IP)	۴۲
۳	صرعی شده با PTZ + کاربامازپین با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (PO)	۴۲
۴	صرعی شده با PTZ + کاربامازپین با دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (PO)	۴۲
۵	صرعی شده با PTZ + کاربامازپین (PO) با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به همراه روغن جوانه گندم (PO) با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن	۴۲
۶	صرعی شده با PTZ + کاربامازپین (PO) با دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به همراه روغن جوانه گندم (PO) با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن	۴۲

جدول شماره ۲: رفتارهای تشنجی حیوان براساس معیار

جزئیات	مرحله‌ها
بدون پاسخ	مرحله ۰
انقباض عضلات صورت و گوش‌ها	مرحله ۱
انتشار موج انقباضی به سرتاسر بدن	مرحله ۲
پرش‌های میوکلونیک و ایستادن روی دو پا	مرحله ۳
حملات تونیک - کلونیک و افتادن به پهلو	مرحله ۴
افتادن به پشت و حملات تونیک - کلونیک عمومی	مرحله ۵

بنابراین، این شرایط برای همه حیوانات مشابه است. به منظور فراهم آوردن انگیزه لازم برای جستجو کردن حیوان، میزان غذای حیوان تا حدی کاهش می‌یابد که میزان وزن موش‌ها به ۸۵٪ وزن آنها در حالت تغذیه نرمال برسد. یک ورود به بازو، زمانی ثبت می‌گردد که ۴ اندام حرکتی حیوان وارد بازو شود. وقتی حیوان بازوی محتوی غذا را پیدا کرد به حیوان اجازه داده می‌شود تا کمی غذا بخورد و سپس از ماز برداشته می‌شود.

برای تست‌های یادگیری و حافظه فضایی، از ماز شعاعی ۸ بازویی استفاده شد. این وسیله یک ماز شعاعی چوبی است که ظرف غذا در انتهای هر بازو آن قرار داده می‌شود. این امر برای کاهش قابل دید بودن مرکز است. این وسیله به طور کامل دارای ۸ بازو مشابه بوده که به طور شعاعی از دیسک‌های دایره‌ای در مرکز جدا می‌شوند. تعدادی علائم قابل مشاهده به عنوان پوستر و کاغذ رنگی با اشکال متفاوت بر روی دیوارها قرار داده می‌شود. این علائم می‌توانند به حیوان در یافتن غذا کمک کنند. حیوانات در تمام روزهای تست، در جهت ثابتی قرار می‌گیرند.

یافته‌ها

در گروه کنترل، هیچ نکروز و از بین رفتن نورون در نواحی CA1, CA2, CA3 و در ناحیه دنتاجیروس (DG) هیپوکامپ مشاهده نشد (شکل شماره ۱A).

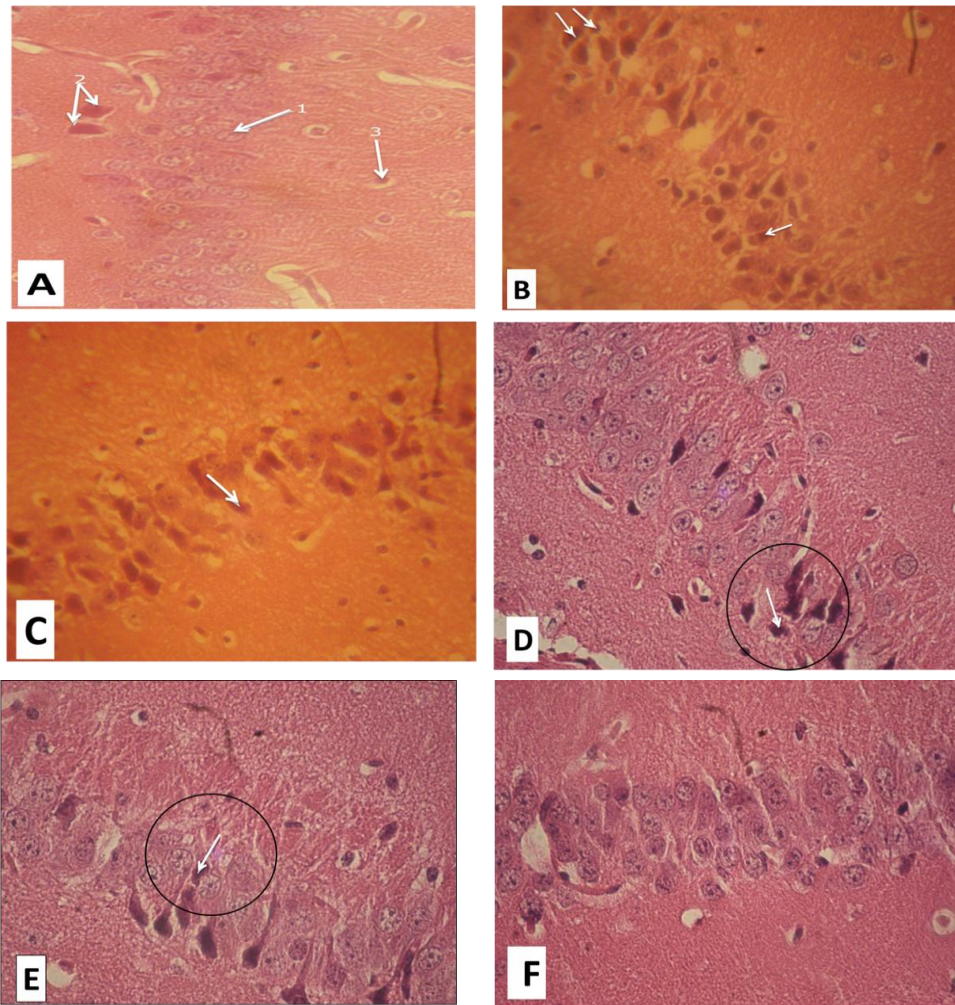
در گروه صرعی که PTZ دریافت کرده بود، در نواحی CA1, CA2, CA3 و ناحیه DG، نکروز در پریکاریون نورون‌ها قابل مشاهده بود، به طوری که بیشترین آسیب‌ها در گروه صرعی دیده شد (شکل شماره ۱B).

در گروهی که با ۳۰ میلی گرم برکیلوگرم کاربامازپین تیمار شده بود، آسیب‌هایی در نواحی CA1, CA2, CA3 و ناحیه DG دیده شد. اگرچه در مقایسه با گروه صرعی، اثرات بهبود قابل توجهی را نشان دادند، اما نسبت به گروه کنترل، آسیب‌های بیشتری مشاهده گردید (شکل شماره ۱: E). گروهی که با ۱۸۰ میلی گرم برکیلوگرم کاربامازپین تیمار شده بود، در تمام نواحی CA1, CA2, CA3 و ناحیه DG در مقایسه با دیگر گروه‌ها (بجز گروهی که PTZ دریافت کرده‌اند)، آسیب‌های شدیدی را نشان دادند (شکل شماره ۱: C). در گروهی که با ۱۸۰ میلی گرم برکیلوگرم کاربامازپین و روغن جوانه گندم تیمار شدند، آسیب‌هایی در نواحی CA1, CA3 و ناحیه DG قابل مشاهده بود، اما در مقایسه با گروهی که فقط با ۱۸۰ میلی گرم برکیلوگرم کاربامازپین تیمار شدند، اثرات مثبت دیده شد (شکل شماره ۱: C,D). در گروهی که با ۳۰ میلی گرم برکیلوگرم کاربامازپین به همراه روغن جوانه گندم تیمار شدند، هیچ آسیبی در ناحیه CA2 دیده نشد. در نواحی CA1, CA3 و ناحیه DG، آسیب‌ها خیلی کمتر از دیگر گروه‌ها (نزدیک به گروه کنترل) بود (شکل شماره ۱: F).

در این مطالعه، در روز اول به حیوان اجازه داده شد تا ۵ دقیقه جهت آشنایی با محیط، دستگاه ماز را آزادانه بگردد که به این مرحله، مرحله خوگیری گویند. در این مرحله، هیچ گونه غذایی در دسترس حیوان قرار نگرفت. روزهای دوم و سوم به عنوان جلسات آموزش شامل دو جلسه در هر روز بود که در دو نوبت صبح و عصر انجام شد (۲۸).

در این مرحله، غذا در یک بازوی ثابت قرار گرفت. در پایان این ۲ روز مرحله آموزش، موش‌ها به ۹۰٪ معیار یادگیری رسیدند؛ به این ترتیب که همه موش‌ها قبل از اتمام ۵ دقیقه تست، به بازوی مورد نظر می‌رسیدند. بعد از اتمام جلسه‌های آموزش، جلسه‌های تست با قرار دادن غذا در بازوی ثابت شامل یک جلسه در هر روز (طی روزهای چهارم تا هفتم) اطلاعات به وسیله یک دوربین دیجیتال نصب شده در بالای رادیال ماز ثبت گردید. بعد از کامل شدن تست رفتاری، فیلم بر روی کامپیوتر قرار داده شد و اطلاعات ثبت شده (زمانی که غذا در بازو پیدا شده بود) به عنوان معیار آموزش در نظر گرفته شد.

بعد از ۴۲ روز تیمار، همه موش‌ها بیهوش شدند. بافت مغز در محلول فرمالین بافر ۱۰٪ برای ۲ هفته تثبیت شد. پس از تثبیت، بافت‌ها با الکل، آبگیری و در گزیرلول شفاف سازی شدند. در ادامه، بعد از تهیه بلوک‌های پارافینی، مقاطعی به اندازه ۷ میکرومتر از ناحیه هیپوکامپ مغز، تهیه و بعد از رنگ آمیزی به روش همتاکسیلین و اتوزین با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شدند. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰، آنالیز واریانس تکراری (جهت داده‌های رفتاری در طی روزهای تست ۴-۷) و واریانس یک طرفه (برای بررسی کل روزهای تست) تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.



شکل شماره ۱: نمای ریزی از هیپوکامپ موش های سوری مورد آزمایش (هماتوکسیلین & انوزین، بزرگنمایی ۴۰x).

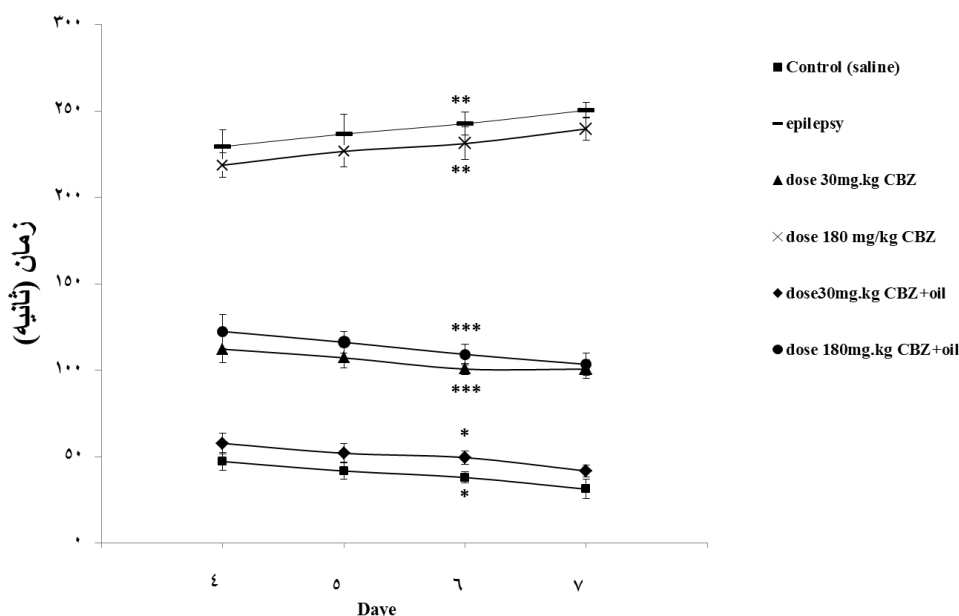
- (A) مقطع بافتی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه کنترل: هیچ انحطاط و یا نکروز سلول های عصبی وجود ندارد. تعداد زیادی سلول های گرانولوزا با هسته روشن و هستک واضح (پیکان ۱)، سلول های عصبی (پیکان ۲) و سلول های گلیال (پیکان ۳) قابل مشاهده است.
- (B) مقطع بافتی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه صرعی: در این گروه سلول های عصبی با هسته پیکنوز شده و نکروز سلول های عصبی قابل مشاهده است (نوک پیکان).
- (C) مقطع بافتی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه دریافت کننده کاربامازپین (دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم): در این گروه سلول های عصبی با هسته پیکنوز شده و نکروز سلول های عصبی قابل مشاهده است (نوک پیکان).
- (D) مقطع بافتی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه دریافت کننده کاربامازپین (دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با روغن جوانه گندم: در این گروه نکروز سلول های عصبی قابل مشاهده است، اما به نسبت گروه صرعی و کاربامازپین (دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، کمتر شده است (نوک پیکان).
- (E) مقطع بافتی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه دریافت کننده کاربامازپین (دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم): در این گروه همچنان نکروز سلول های عصبی قابل مشاهده است، اما نسبت به گروه صرعی و کاربامازپین (با دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) کمتر شده است (نوک پیکان).
- (F) مقطع بافتی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه دریافت کننده کاربامازپین (دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و روغن جوانه گندم: در این گروه نکروز سلول های عصبی بسیار کمتر شده و نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

جوانه گندم و گروه های تیمار با کاربامازپین (دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) همراه با روغن جوانه گندم، میانگین زمان یافتن غذا به تدریج و روز به روز کاهش یافت. در گروه های صرعی و گروه های تیمار با کاربامازپین (دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) میانگین زمان پیدا کردن غذا به تدریج، روز به روز افزایش یافت (نمودار شماره ۱) (جدول شماره ۳).

نتایج آماری از میانگین زمان یافتن غذا، در مطالعات مختلف گروه های حیوانات طی زمان تست به دست آمد. مقایسه زمان پیدا کردن غذا در گروه های مختلف در طی روزهای تست رفتاری (۴-۷ روز)، متفاوت بود. در گروه کنترل، گروه های تیمار با کاربامازپین (دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه های تیمار با کاربامازپین (دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) همراه با روغن

جدول شماره ۳: میانگین $\pm$ انحراف معیار مربوط به نمودار خطی

گروه‌ها/ روزها	۱	۲	۳	۴	۵	۶
	*	**	***	**	*	***
روز ۴	۴۷/۲۵ $\pm$ ۴/۹۹	۲۲۹ $\pm$ ۸۷۰/۹	۱۱۲ $\pm$ ۸/۰۴۵	۲۱۸ $\pm$ ۶/۹۰۹	۵۷/۷۵ $\pm$ ۶/۰۰۵	۱۱۲ $\pm$ ۹/۹۷۱
روز ۵	۴۱/۷۵ $\pm$ ۴/۹۵۶	۲۳۶ $\pm$ ۵۹۳/۱۱	۱۰۷ $\pm$ ۵/۹۷۷	۲۲۶ $\pm$ ۸/۸۶۴	۵۲ $\pm$ ۵/۶۱۲	۱۱۶ $\pm$ ۶/۳۲۹
روز ۶	۳۸ $\pm$ ۳/۳۶۷	۲۴۲ $\pm$ ۶/۵۷۵	۱۰۰ $\pm$ ۳/۱۹۷	۲۳۱ $\pm$ ۹/۴۵۵	۴۹/۵۰ $\pm$ ۳/۸۶۲	۱۰۹ $\pm$ ۵/۹۵۱
روز ۷	۳۱ $\pm$ ۵/۵۴۳	۲۵۰ $\pm$ ۴/۴۴۴	۹۵ $\pm$ ۵/۲۰۴	۲۳۹ $\pm$ ۶/۵۷۵	۴۱/۷۵ $\pm$ ۳/۳۵۱	۱۰۳ $\pm$ ۶/۴۰۸



نمودار شماره ۱: نمودار خطی مقایسه میانگین تغییرات زمان یافتن غذا در گروه‌های مختلف طی روزهای تست. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده است ($p < 0.05$).

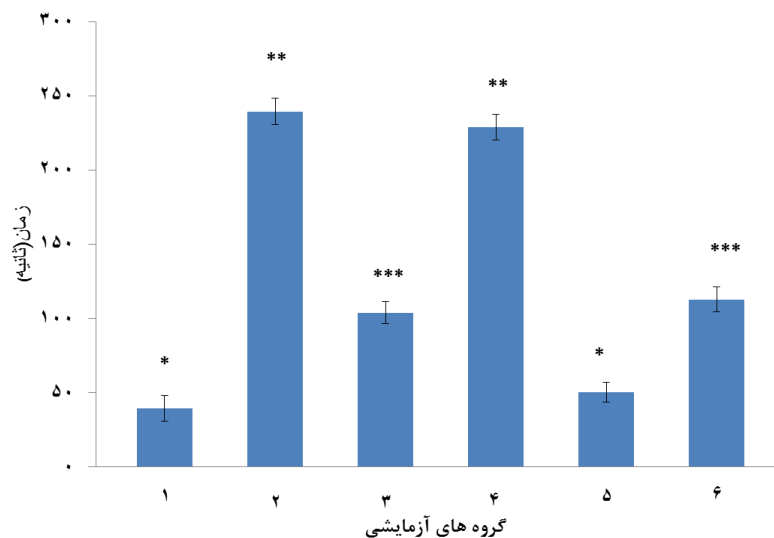
در گروه‌های صرعی تیمار با کاربامازپین (دوز ۳۰ میلی گرم برکیلوگرم) و گروه‌های صرعی تیمار با کاربامازپین (دوز ۱۸۰ میلی گرم برکیلوگرم) و روغن جوانه گندم، اگرچه در مقایسه با گروه صرعی، زمان پیدا کردن غذا کاهش معنی داری یافته بود، اما این کاهش زمان در مقایسه با گروه کنترل، اختلاف معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار شماره ۲) (جدول شماره ۴).

در گروه کنترل و گروه‌های صرعی تیمار با کاربامازپین (دوز ۳۰ میلی گرم برکیلوگرم) و روغن جوانه گندم، میانگین زمان یافتن غذا کاهش یافت، به طوری که با هم اختلاف معنی داری را نشان ندادند ($p < 0.05$). در گروه‌های صرعی و گروه‌های صرعی تیمار با کاربامازپین (دوز ۱۸۰ میلی گرم برکیلوگرم)، میانگین زمان یافتن غذا به تدریج، روزبه روز افزایش یافت که در مقایسه با گروه کنترل، اختلاف معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$).

جدول شماره ۴: میانگین $\pm$ انحراف معیار مربوط به نمودار ستونی

گروه	تیمار	زمان/انحراف معیار
۱	کنترل دریافت کننده سالین، (PO)	۳۹/۵۰۰ $\pm$ ۶/۸۸۲
	*	
۲	صرعی دریافت کننده پنتیلن تترازول (PTZ) با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (IP)	۲۳۹/۳۷۵ $\pm$ ۸/۷۵۷
	**	
۳	صرعی شده با PTZ + کاربامازپین با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (PO)	۱۰۳/۹۳۸ $\pm$ ۷/۳۳۵

۴	صرعی شده با PTZ + کاربامازپین با دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (PO)	۲۲۸/۸۷۵ $\pm$ ۸/۷۰۲
	**	
۵	صرعی شده با PTZ + کاربامازپین (PO) با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به همراه روغن جوانه گندم (PO) با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن	۵۰/۲۵۰ $\pm$ ۶/۶۳۶
	*	
۶	صرعی شده با PTZ + کاربامازپین (PO) با دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به همراه روغن جوانه گندم (PO) با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن	۱۱۲/۸۷۵ $\pm$ ۸/۳۲۷



نمودار شماره ۲: نمودار ستونی مقایسه میانگین تغییرات زمان یافتن غذا در گروه های مختلف، در کل روزهای تست. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده است ($p < 0.05$).

بحث

بیماری صرع، یک اختلال متناوب سیستم عصبی است که از تخلیه ناگهانی، شدید و غیرمنظم نورون های مغزی ناشی می شود. تخلیه مذکور موجب اختلال حسی، فقدان هوشیاری، اختلال کارکرد روانی و اختلال حافظه در بیماران صرعی با تشنج های پارشیال یا عمومی خواهد شد. در مطالعه حاضر نشان داده شد صرع (PTZ) باعث کاهش معنی دار یادگیری، حافظه فضایی و آسیب شدید نورونی در ناحیه های CA1، CA2، CA3 و ناحیه DG هیپوکامپ مغز می شود. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد مدل کیندلینگ پنتیلن تترازول می تواند مشکلات شناختی را به وجود آورد؛ این مشکلات با آنهایی که در بسیاری از

بیماران صرعی دیده می شود، آنالوگ هستند، به خصوص آنهایی که سبب نقص در یادگیری فضایی شده و باعث افزایش معنی داری در مراجعه به خطاهای حافظه می شوند. یافته های مطالعه حاضر در پی کیندلینگ پنتیلن تترازول، با نتایج مطالعه Hamm و همکاران که نشان دادند پنتیلن تترازول نقص یادگیری فضایی را در ماز آبی موریس القا می کند، همخوانی داشت (۲۹). Grötlicke و همکاران (سال ۲۰۰۷) نشان دادند موش های صرعی شده با پیلوکارپین، دچار کاهش یادگیری و حافظه می شوند (۳۰). همچنین در مطالعه Miltiadous و همکاران (سال ۲۰۱۱)، مشاهده گردید تزریق یک جاذبه کاینیک اسید به هیپوکامپ پستی باعث اختلال در کسب و حفظ حافظه می شود (۳۱).

Cavazos و همکاران در مطالعه‌ای دیگر نشان دادند صرع به‌طور گسترده‌ای باعث آسیب نورونی در ناحیه لیمبیک، به‌خصوص هیپوکامپ شده که منجر به اختلالات یادگیری می‌شود (۳۲). Rattka و همکاران (سال ۲۰۱۳) نیز نشان دادند در بیماری صرع به احتمال زیاد از دست دادن سلول‌های عصبی گسترده در ناحیه CA3 و هیلوس دنداندار هیپوکامپ باعث افزایش تحریک‌پذیری رفتاری، اختلال یادگیری و حافظه در ماز آبی می‌شود (۳۳). در پژوهش حاضر، کیندلینگ موش‌ها با پنتیلین ترازول باعث کاهش حافظه و یادگیری شد که مطالعات Majkowski و همکاران (سال ۱۹۹۴) مبنی بر اختلال حافظه مرتبط با کیندلینگ بر روی هیپوکامپ گربه صرعی، مؤید یافته‌های پژوهش حاضر است (۳۴). در مطالعات دیگر، به‌عنوان پیامد کیندلینگ پنتیلین ترازول (PTZ) در ساختارهای مختلف تشکیل هیپوکامپ، رابطه معنی‌داری بین تراکم نورون‌ها در ساختارهای مختلف هیپوکامپ و درجه بهبود حافظه در بررسی‌های بافت‌شناسی آشکار گردید (۳۶، ۳۵). Matzenet و همکاران (سال ۲۰۰۸) دژنراسیون نورونی قابل توجهی را در شکنج دنداندار در ۱، ۴ و ۸ هفته بعد از صرع گزارش کردند که به‌طور معنی‌داری در ۸ هفته‌گی در مقایسه با گروه کنترل، نقص در یادگیری فضایی را نشان داد (۳۷). Cavazos و همکاران (سال ۱۹۹۴)، گزارش کردند بعد از ۳ تشنج عمومی کلونیک - تونیک در ناحیه ناف DG و CA1، از بین رفتن نورون‌ها قابل مشاهده است، این یافته با نتایج این مطالعه که نشان‌دهنده از بین رفتن نورونی در نواحی مختلف هیپوکامپ بود، همخوانی داشت. مدت زمان از بین رفتن نورونی و حساسیت انتخابی در جمعیت نورونی هیپوکامپ در آسیب ناشی از تشنج القایی، نشان می‌دهد حتی یک تشنج کوتاه ممکن است آسیب آگزوسیتوتوکسیک در جمعیت نورون‌های حساس ایجاد کند. تشنج‌های کوتاه و پی‌درپی، از بین رفتن نورون‌ها را در حوزه‌ای که اسکروز هیپوکامپی را شیه‌سازی می‌کند، القا می‌کند؛ یعنی بیشترین آسیبی که در صرع انسانی مشاهده می‌شود. نتایج مشخص می‌کنند کیندلینگ، تغییراتی را در چرخه نورونی در مناطق مختلف سیستم لیمبیک نشان می‌دهد که اسکروزیس هیپوکامپ می‌تواند به‌عنوان نتیجه تشنج تکراری از صرع انسانی به‌دست بیاید (۳۸).

مرتضوی و همکاران نشان دادند تراکم نورونی در CA1 در گروه sal/PTZ، کاهش معنی‌داری دارد و آنالیزهای بافت‌شناسی نشان داده است فقدان معنی‌داری در سلول‌های القایی پنتیلین ترازول در بخش دورسال هیپوکامپ ناحیه CA1 وجود دارد ($p < 0.05$) (۳۹). تشنج تکراری، فیبرهای نرم در شکنج دنداندار را القا کرده و در ناحیه دورسال CA1 هیپوکامپ در حیوانات تیمار شده با پنتیلین ترازول، فقدان سلول مشاهده می‌شود. Giovagnoli و Avanzin گزارش کردند نتایج در مورد نقص یادگیری فضایی القایی با پنتیلین ترازول مطابق با گزارشهای کلینیکی اختلالات شناختی در بین بیماران صرعی بوده که شامل مشاهدات اخیر نقص در خاطره فضایی است (۴۰).

در رابطه با اثر کاربامازپین، نتایج مطالعات نشان داد کاربامازپین در دوز پایین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث افزایش معنی‌داری یادگیری، حافظه فضایی و کاهش معنی‌داری آسیب بافتی در مقایسه با گروه صرعی می‌شود، اما کاربامازپین در دوز بالا (۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، اختلاف معنی‌داری با گروه صرعی را نشان نداد و هر دو گروه (در دوز پایین و بالا) با گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. Harlan و همکاران گزارش کردند کاربامازپین، اثر ملایمی ایجاد می‌کند، اما در درصد پاسخ دقیق (دوز حدود ۳۰-۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کاهش معنی‌داری دیده می‌شود، همچنین میزان کاهش یابنده پاسخ صحیح در بالاترین دوز قابل مشاهده است (۴۱). Rostock و همکاران نیز نشان دادند تجویز دوز کم کاربامازپین، توانایی تیمار فراموشی معکوس القاشده به‌وسیله شوک الکتریک کانولسیو را دارد، همچنین یادگیری در طی اجتناب فعال در رت‌های تیمار شده با دوزهای تکراری اتانول را نیز بهبود می‌دهد (۱۷). بیشتر بیماران تیمار شده با کاربامازپین (به‌مدت طولانی)، اختلال حافظه یا شناختی ندارند (۴۲). Kim نشان داد کاربامازپین به تنهایی، نورودژنراسیون را هنگامی که با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز می‌شود افزایش نمی‌دهد، اما مرگ سلولی معنی‌داری را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم القا می‌کند. این مطالعات با یافته‌های مطالعه حاضر که نشان‌دهنده اثرات مثبت دوز پایین کاربامازپین نسبت به دوز بالای آن بود، همخوانی داشت (۴۳). همچنین یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از آن است که گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین

(دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) همراه با روغن جوانه گندم سبب بهبود آسیب بافتی نواحی هیپوکامپ، افزایش یادگیری و حافظه فضایی می شود که ارتباط معنی داری را در مقایسه با گروه های صرعی نشان داد؛ در صورتی که هیچ اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان نداد. همچنین در مطالعه حاضر گروه های صرعی دریافت کننده کاربامازپین (دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) همراه با جوانه گندم در مقایسه با گروه صرعی سبب بهبود نسبی نواحی هیپوکامپ، افزایش یادگیری و حافظه فضایی شد، اما این گروه با گروه کنترل، اختلاف معنی داری را نشان داد. نتایج یافته های کاربامازپین مطابق با مطالعات قبلی است. روغن جوانه گندم، اثرات افزایش یابنده شناختی در برابر اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین در رت ها را اعمال کرد. رت های تیمار شده با روغن جوانه گندم مشابه رت های تیمار شده با دونپزیل بودند و اختلال شناختی ناشی از اسکوپولامین به وسیله کاهش زمان صرف شده در کشف شی آشنا را کاملاً برعکس کرد، بنابراین، موش های تیمار شده با روغن جوانه گندم، توانایی تمایز بین شی آشنا و شی جدید را پیدا کردند که نشان می دهد روغن جوانه گندم نقص کارایی حافظه غیر فضایی را در رت های دچار فراموشی بهبود می بخشد. روغن جوانه گندم، عدم کارایی شناختی ناشی از اسکوپولامین در ماز T تغییر وظیفه را معکوس کرد و عملکرد افزایش یافته رت ها با دونپزیل مشابه بود که این امر مشخص می کند روغن جوانه گندم، کارکرد حافظه فضایی را در رت های دیوانه شده برمی گرداند و نشان می دهد تجویز ویتامین E، شدت حملات تشنجی را در رت ها کاهش می دهد (۴۴). مطالعات انجام شده نشان می دهد با تزریق کاینیک اسید؛ استرس اکسیداتیو افزایش می یابد (۴۵). افزایش تولید گونه های اکسیژن فعال و کمبود سیستم ردوکس آنتی اکسیدان نیز باعث افزایش تشنج و کاهش عملکرد شناختی می شود (۴۶، ۴۷). Kiasalari و همکاران (سال ۲۰۱۶) نیز نشان دادند ویتامین E با کاهش استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ موش های صرعی شده با کاینیک اسید، یادگیری و حافظه را بهبود می بخشد (۴۸).

همچنین ویتامین E اثرات نیروبخش خود را به وسیله حفاظت در برابر آسیب سلولی که با اسید کاینیک در نورون های هیپوکامپ القا می شود، با کاهش تولید فیبر و در پی آن کاهش شدت تشنج در روزهای بعدی اعمال می کند (۴۹، ۵۰). به علاوه، آنتی اکسیدانتهایی از قبیل ویتامین E می توانند از عدم کارکرد سیتوکروم اکسیداز جلوگیری کرده و ترکیبات با انرژی بالای فسفات و نیتریک اکسید در نواحی مختلف مغز را به خصوص در هیپوکامپ که منجر به کاهش شدت آسیب نورونی ناشی از تزریق اسید کاینیک به مغز است، کاهش دهند. این نتایج در کاهش تغییر در شکل پذیری نورون در هیپوکامپ منجر به کاهش توالی و شدت تشنج می شود (۵۱). نتایج به دست آمده از این مطالعه با تحقیقات انجام شده مطابقت دارد؛ به طوری که در گروه های تیمار شده، روغن جوانه گندم به دلیل سرشار بودن از ویتامین E باعث بهبود یادگیری، حافظه فضایی و کاهش آسیب نورونی می شود. از آنجایی که استرس اکسیداتیو، یکی از اصلی ترین مکانیسم های قابل پاسخ برای مرگ سلولی القا شده به وسیله تشنج در صرع از قبیل صرع لوب تمپورال است، ترکیبات آنتی اکسیدانتهی مثل ویتامین E به نوبه خود می توانند اثرات ضد صرع داشته و از طریق ممانعت از تولید رادیکال آزاد، اثرات حفاظتی برای نورون داشته باشند (۴۹، ۵۲).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد روغن جوانه گندم می تواند از طریق کاهش رادیکال های آزاد، اختلالات حافظه فضایی و تغییرات بافتی ناحیه هیپوکامپ ایجاد شده توسط بیماری صرع و مصرف داروی ضد صرع، کاربامازپین را بهبود بخشد. بنابراین، روغن جوانه گندم به عنوان یک آنتی اکسیدان می تواند از اختلالات حافظه فضایی و تغییرات بافتی ناحیه هیپوکامپ جلوگیری کند.

References:

1. Kadis DS, Stollstorff M, Elliot I, Lach L, Smith ML. Cognitive and psychological predictors of everyday memory in children with intractable epilepsy. *Epilepsy Behav* 2004;5(1):37-43.
2. Stores G. School children with epilepsy learning and behavior problems. *Dev Med Child Neurol* 1978;20(4):502-8.
3. Parisy P, Bruni O, Luchetti A. The relation between sleeping and epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 2010;52(9):805-10.
4. Bliss TV, Callingridge GL. A Synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993;361(6407):31-9.
5. Cohen AS, Lin DD, Quirk GL, Coulter DA. Dentate granule cell GABAA receptors in epileptic hippocampus: enhanced synaptic efficacy and altered pharmacology. *Eur J Neurosci* 2003;17(8):1607-16.
6. Abrahams S, Pickering A, Polkey C, Morris R. Spatial memory deficits in patients with unilateral damage to right hippocampal formation. *Neuropsychologia* 1997;35(1):11-24.
7. Grippo A, Pelosi L, Metha V, Blumhardt L. Working memory in temporal lobe epilepsy: An event related potential study. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996;99(3):200-13.
8. Taylor & Francis Group. Neuroscience. NewYork: Guild Ford Press; 2000. p. 375-99.
9. Psarropoulou C, Matsokis N, Angelatou F, Kostopoulos G. Pentylentetrazol-induced seizures decrease g-Aminobutyric acidmediated recurrent inhibition and enhance adenosine-mediated depression. *Epilepsia* 1994;35(1):12-9.
10. Ekonomou A, Angelatou F. Upregulation of NMDA receptors in hippocampus and cortex in the pentylentetrazole-induced 'kindling' model of epilepsy. *Neurochem Res* 1999;24(12):1515-22.
11. Gauvin D, Dormer K, Holloway F. Pentylentetrazole can induce a conditioned place preference. *Pharmacol Biochem Behav* 1991;40(4):987-90.
12. Barkai E, Grossman Y, Gutnick MJ. Gutnick. Long-term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentylentetrazol. An in vitro study. *J Neurophysiol* 1994;72(1):72-83.
13. Al Snafi AE, Al Salih RM, Abbas AM. Endocrine reproductive effects of antiepileptic drugs in male rats. *Global J Pharmacol* 2013;7(1):95-98.
14. Matalon S, Schechtman S, Goldzweig G, Ornoy A. The teratogenic effect of carbamazepine: A meta-analysis of 1255 exposures. *Reprod Toxicol* 2002;16(1):9-17.
15. Majkowiski J, Dlawichowska E, Sobieszek A. Carbamazepine effects on afterdischarge, memory retrieval and conditioned avoidance response latency in hippocampally kindled cats. *Epilepsia* 1994;35(1):209-15.
16. Hawkins CA, Mellanby J, Brown J. Antiepileptic effect of carbamazepine in experimental limbic epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1985;48(5):459-68.
17. Rostock A, Hoffmann W, Siegemund C, Bartsch R. Effects of carbamazepine, valproate calcium, clonazepam and piracetam on behavioral test methods for evaluation of memory-enhancing drugs. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1989;11(9):547-53.
18. Kahlon TS. Nutritional implications and uses of wheat and oat kernel oil. *Cereal Foods World* 1989;34(10): 872-5.
19. Wang T, Johnson LA. Refining high-free fatty acid wheat germ oil. *J Am Oil Chem Soc* 2001;78(1):71-6.

20. El-Marasy SA, El-Shenawy SM, El-Khatib AS, El-Shabrawy OA, Kenawy SA. Effect of *Nigella sativa* and wheat germ oils on scopolamine-induced memory impairment in rats. *Bull Faculty Pharm Cairo Univ* 2012;50(2):81-8.
21. Fattah SA, Fahim TM, El-Fatih NM. Prophylactic role of combined treatment with wheat germ oil and ginseng against radiation injury in male rats. *Egypt J Hosp Med* 2011;45(403):403-15.
22. Hara H, Kato H, Kogure K. Protective effect of Atocopherol on ischemic neuronal damage in the gerbil hippocampus. *Brain Res* 1990;510(2):335-8.
23. Grundman M. Vitamin E and Alzheimer's disease: the basis for additional clinical trials. *Am J Clin Nutr* 2000;71(2):630s-636s.
24. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972;32(3):281-94.
25. Becker A, Grecksch G, Ruthrich HL, Pohle W, Marx B, Matthies H. Kindling and its consequences on learning in rats. *Behav Neural Biol* 1992;57(1):37-43.
26. Mehrabi Nasab E, Khazaei M, Khazaei S. The effect of pentylenetetrazol kindling induced epilepsy on hypogonad hormones and sperm parameters of rats. *Arac Med Univ J* 2010;12(4):105-112. [Full Text in Persian]
27. Sullivan FM, McElhatton PR. A comparison of the teratogenic activity of the antiepileptic drugs carbamazepine, clonazepam, ethosuximide, phenobarbital, phenytoin, and primidone in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977;40(2):365-78.
28. McGurk SR, Levin ED, Butcher LL. Radial- arm maze performance in rats is impaired by a combination of nicotinic- cholinergic and D2 dopaminergic antagonist drugs. *Psychopharmacology* 1989;99(3):371-3.
29. Hamm RJ, Pike BR, Temple MD, O Dell DM, Lyeth BG. The effect of postinjury kindled seizures on cognitive performance of traumatically brain-injured rats. *Exp Neurol* 1995;136(2):143-8.
30. Gröticke I, Hoffmann K, Löscher W. Behavioral alterations in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in mice. *Exp Neurol* 2007;207(2):329-49.
31. Miltiadous P, Stamatakis A, Koutsoudaki PN, Tiniakos DG, Stylianopoulou F. IGF-I ameliorates hippocampal neurodegeneration and protects against cognitive deficits in an animal model of temporal lobe epilepsy. *Exp Neurol* 2011;231(2):223-35.
32. Cavazos JE, Sutula TP. Progressive neuronal loss induced by kindling: A possible mechanism for mossy fiber synaptic reorganization and hippocampal sclerosis. *Brain Res* 1990;527(1):1-6.
33. Rattka M, Brandt C, Löscher W. The intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy revisited: Epileptogenesis, behavioral and cognitive alterations, pharmacological response, and hippocampal damage in epileptic rats. *Epilepsy Res* 2013;103(2-3):135-52.
34. Majkowski J, Dlawichowska E, Sobieszek A. Carbamazepine effects on afterdischarge, memory retrieval, and conditioned avoidance response latency in hippocampally kindle cat. *Epilepsia* 1994;35(1):209-15.
35. O'Rourke DM, Saykin AJ, Gilhool JJ, Harley R, O'Connor MJ, Sperling MR. Unilateral hemispheric memory and hippocampal neuronal density in temporal lobe epilepsy. *Neurosurgery* 1993;32(4):574-81.
36. Sass KJ, Spencer DD, Kim JH, Westerveld M, Novelly RA, Lencz T. Verbal memory impairment correlates with hippocampal pyramidal cell density. *Neurology* 1990;40(11):1694-7.
37. Matzen J, Buchheim K, van Landeghem FK, Meierkord H, Holtkamp M. Functional and morphological changes in the dentate gyrus after experimental status epilepticus. *Seizure* 2008;17(11):76-83.
38. Cavazos JE, Das I, Sutula TP. Neuronal loss induced in limbic pathways by kindling: evidence for induction of hippocampal sclerosis by repeated brief seizures. *J Neurosci* 1994;14(5):3106-21.

39. Mortazavi F, Ericson M, Story D, Hulce VD, Dunbar GL. Spatial learning deficits and emotional impairments in pentylenetetrazole-kindled rats. *Epilepsy Behav* 2005;7(4):629-38.
40. Giovagnoli AR, Avanzin G. Learning and memory impairment in patients with temporal lobe epilepsy: Relation to the presence, type, and location of brain lesion. *Epilepsia* 1999;40(7):904-11.
41. Harlan ES, Patrick LL. Effects of antiepileptic drugs on working memory as assessed by spatial alternation performance in rats. *Epilepsy Behav* 2004;5(6):857-65.
42. Reinvang I, Bjartveit S, Johannessen SI, Hagen OP, Larsen S, Fagerthun H, et al. Cognitive function and time-of-day variation in serum carbamazepine concentration in epileptic patients treated with monotherapy. *Epilepsia* 1991;32(1):116-21.
43. Kim J, Kondratyev A, Gale K. Antiepileptic drug-induced neuronal cell death in the immature brain: Effects of carbamazepine, topiramate, and levetiracetam as monotherapy versus polytherapy. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;323(1):165-73.
44. Banerjee PN, Filippi D, Hauser WA. The descriptive epidemiology of epilepsy-a review. *Epilepsy Res* 2009;85(1):31-45.
45. Li SY, Jia YH, Sun WG, Tang Y, An GS, Ni JH, et al. Stabilization of mitochondrial function by tetramethylpyrazine protects against kainate-induced oxidative lesions in the rat hippocampus. *Free Radic Biol Med* 2010;48(4):597-608.
46. Liu SH, Chang CD, Chen PH, Su JR, Chen CC, Chaung HC. Docosahexaenoic acid and phosphatidylserine supplementations improve antioxidant activities and cognitive functions of the developing brain on pentylenetetrazol-induced seizure model. *Brain Res* 2012;1451:19-26.
47. Verrotti A, Scardapane A, Franzoni E, Manco R, Chiarelli F. Increased oxidative stress in epileptic children treated with valproic acid. *Epilepsy Res* 2008;78(2-3):171-7.
48. Kiasalari Z, Khalili M, Shafiee S, Roghani M. The effect of Vitamin E on learning and memory deficits in intrahippocampal kainate-induced temporal lobe epilepsy in rats. *Indian J Pharmacol* 2016;48(1):11-14.
49. Hoshida S, Hatano M, Furukawa M, Ito M. Neuroprotective effects of vitamin E on adult rat motor neurones following facial nerve avulsion. *Acta Otolaryngol* 2009;129(3):330-6.
50. Khanna S, Roy S, Slivka A, Craft TK, Chaki S, Rink C, et al. Neuroprotective properties of the natural vitamin E alpha-tocotrienol. *Stroke* 2005;36(10):2258-64.
51. Larnaout A, Belal S, Zouari M, Fki M, Ben Hamida C, Goebel HH, et al. Friedreich's ataxia with isolated vitamin E deficiency: A neuropathological study of a Tunisian patient. *Acta Neuropathol* 1997;93(6):633-7.
52. Dichter MA. Emerging concepts in the pathogenesis of epilepsy and epileptogenesis. *Arch Neurol* 2009;66(4):443-7.