ORIGINAL ARTICLE

Zinc and Selenium Protects against Sodium Valproate Induced Nephrotoxicity through Modulation of Oxidative Stress

Maloos Naderi[1],
Nematoollah Ahangar[2],
Fatemeh Shaki[3]

[1] MSc Student in Toxicology, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Associate Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received July 23, 2016 ; Accepted September 14, 2016)

Abstract

Background and purpose: Valproic acid (VPA) is used worldwide as a major drug in the intervention of epilepsy and in control of several kinds of seizures. The aim of our investigation was to evaluate the nephrotoxic potential of VPA and protective effects of zinc and selenium against VPA-induced nephrotoxicity in Wistar rats.

Materials and methods: In this study, the animals were divided into five groups: control, VPA (200 mg/kg IP), VPA + Zn (10 mg/kg IP), PA + Se (1 mg/kg IP), and VPA + Zn + Se. After the administration of VPA for 4 consecutive weeks, the animals were killed and kidney tissues were separated. Finally, oxidative stress markers including glutathione (GSH) content, lipid peroxidation (LPO), protein carbonyl (PCO) were measured and blood was taken for measuring biochemical markers (BUN and Cr).

Results: The administration of VPA for 4 consecutive weeks resulted in an increase in kidney marker (BUN and Cr). Also, oxidative stress was evident in VPA group by increased lipid peroxidation (LPO), protein carbonyl (PCO) and glutathione (GSH) oxidation. Zn and Se administration was able to protect against deterioration in kidney markers and suppressed the increase in oxidative stress markers.

Conclusion: Our study showed the critical role of oxidative damage in Valproate-induced nephrotoxicity that markedly inhibited by administration of Zn and Se. Therefore, Zn and Se supplementation could be suggested for prevention of valproate-induced nephrotoxicity.

Keywords: valproic acid, kidney, toxicity, oxidative stress, selenium, zinc

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26 (141): 111-122 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۱ مهر سال ۱۳۹۵ (۱۲۲-۱۱۱)

اثر حفاظتی روی و سلنیوم در جلوگیری از سمیت کلیوی ناشی از سدیم والپروات با مکانیسم مهار استرس اکسیداتیو

ملوس نادری[۱]
نعمت الله آهنگر[۲]
فاطمه شکی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: سدیم والپروات یک داروی پر مصرف و مهم در درمان صرع و کنترل انواع خاصی از تشنج ها است. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر حفاظتی روی و سلنیوم در سمیت کلیوی ناشی از سدیم والپروات در رت های ویستار می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه رت‌ها به پنج گروه کنترل، سدیم والپروات (۲۰۰mg/kg IP)، سدیم والپروات+ روی ۱۰mg/kgIP، سدیم والپروات+ سلنیوم ۱mg/kg IP، سدیم والپروات+روی+سلنیوم تقسیم شدند. در پایان بعد از دریافت والپروات ۴ هفته متوالی، حیوانات کشته شده و بافت کلیه جدا شدو پارامترهای استرس اکسیداتیو شامل اندازه‌گیری محتوای گلوتاتیون، پراکسیداسیون لیپیدیوپروتئین کربونیل و خون جهت پارامترهای بیوشیمیایی (اوره و کراتینین) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: دریافت سدیم والپروات برای ۴ هفته متوالی منجر به افزایش مارکرهای کلیوی اوره و کراتینین شد. هم‌چنین استرس اکسیداتیو درگروه والپروات با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، پروتئین کربونیل و اکسیداسیون گلوتاتیون مشهود است. دریافت روی و سلنیوم قادر به حفاظت علیه بدتر شدن در مارکرهای کلیوی و مهار افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو شد.

استنتاج: مطالعه ما نشان داد که تخریب اکسیداتیو نقش حیاتی در سمیت کلیوی ناشی از والپروات دارد. که به‌طور چشمگیری با دریافت روی و سلنیوم مهار می‌شود. بنابراین مکمل‌های روی و سلنیوم می‌تواند برای حفاظت از سمیت کلیوی ناشی از والپروات پیشنهاد شود.

واژه های کلیدی: سدیم والپروات، کلیه، سمیت، استرس اکسیداتیو، سلنیوم، روی

مقدمه

صرع یک اختلال عصبی سیستم عصبی مرکزی است که در آن فعالیت سلول‌های عصبی در مغز مختل می‌شود.صرع یک مشکل عمده سلامت عمومی است که نزدیک به ۵۰ میلیون نفر (۱-۲ درصد جمعیت جهان) را در سراسر جهان در تمام سنین تحت تاثیر قرار داده است و آن را به عنوان چهارمین اختلال عصبی شایع در نظر گرفته است(۲،۱). والپروئیک اسید (VPA) یک داروی ضد صرع پرمصرف است که در درمان انواع خاصی از تشنج‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد(۳). مکانیسم عمل آن شامل افزایش سطح نوروترانسمیترهای

مولف مسئول: فاطمه شکی– ساری: کیلومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail:fshaki.tox@gmail.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندارن، ساری، ایران
۲. دانشیار، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندارن، ساری، ایران
۳. استادیار، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندارن، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۵/۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۵/۱۷ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۶/۲۴

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

گابائرژیک و گلوتامینرژیک است(۴). والپروئیک اسید در مراقبت‌های روان پزشکی و درمان بیماران مانیک و دو قطبی به تنهایی یا به شکل ترکیبی با دیگر عوامل آنتی سایکوز، در بیش فعالی کودکان و هم‌چنین در درمان سردردهای میگرنی استفاده می‌شود(۱۰-۳). اخیرا این دارو به تنهایی یا به صورت ترکیبی با دیگر داروهای آنتی‌تومور در شروع درمان سرطان استفاده می‌شود(۱۱). هم‌چنین پتانسیل حفاظت نورونی آن در بیماران آلزایمری مشاهده شده است(۱۲). سدیم والپروات دارای عوارض جانبی مختلفی است که در طی آزمایش‌های کلینیکی گزارش شده است.

از اثرات جانبی سدیم والپروات می‌توان به بروز سمیت کلیوی اشاره نمود که به شکل کاهش مقاومت و استحکام عضلات پروگزیمال و اختلال توبول‌های کلیوی نمایان می‌گردد(۱۳). مونوتراپی طولانی مدت یا پلی‌تراپی با داروهای ضدتشنج باعث تشکیل متابولیت‌های سمی و رادیکال های آزاد اکسیژن شده (ROS) که به دنبال آن اثرات سمیت کلیوی را از خود نشان می‌دهند(۱۴). در مطالعات انجام شده توسط سایر محققین نقش استرس اکسیداتیو در سمیت کلیوی ناشی از سدیم والپروات به اثبات رسیده است و مکانیسم سمیت سدیم والپروات بر سلول‌ها و بافت‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است(۱۵). نتایج نشان داد که سمیت سلولی سدیم والپروات با سوراخ شدن غشای لیزوزومی، افزایش تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) وکاهش پتانسیل غشایی میتوکندری ارتباط دارد(۱۶). بنابراین افزایش تشکیل رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو در مکانیسم سمیت سدیم والپروات نقش به سزایی دارند که در نتیجه آن افزایش تولید این مواد باعث کاهش چشمگیر دفاع انتی اکسیدانی بدن به ویژه گلوتاتیون (GSH) و ایجاد پدیده استرس اکسیداتیو در سلول های مختلف می‌شود(۱۷).

روی(Zn) و سلنیوم (Sn) از عناصر ضروری بدن می‌باشند و در ساختار و عملکرد بیش از ۳۰۰ آنزیم در بدن شرکت دارند(۱۸). این عناصر در طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی چون تکثیر سلولی و حفظ عملکردهای فیزیولوژی بدن دخالت دارد. هم‌چنین می‌توان به نقش آن به عنوان کوفاکتور رشد، تنظیم‌کننده مهم ایمنی، محافظت‌کننده سلولی (آنتی‌اکسیدانت)، آنتی‌آپوپتوز و خواص ضد التهابی آن اشاره کرد(۱۹). رژیم حاوی روی اثر قدرتمندی در کاهش صدمه ناشی از عواملی که باعث تحریک تخریب اکسیداتیو از طریق تشکیل رادیکال فعال می شوند دارد(۲۰). روی در آزمایش‌های مختلف به عنوان یک عنصر محافظ استفاده شده و بیوسنتز متالوتیونین (MT که یک پروتئین غنی از گروه‌های تیول با وزن مولکولی پایین است و با مهار روند پراکسیداسیون لیپیدی، روند تثبیت غشای سلولی را تحریک می‌کند و با اتصال به سوپراکسید دیسموتاز(SOD) و ایفای نقش کوفاکتوری، استحکام ساختاری سلول را تامین می‌کند(۲۳-۲۱). سلنیوم جزء جدایی ناپذیر سایت کاتالیزوری آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز است و عملکرد آن از طریق شرکت در تشکیل سلنوپروتئین‌ها تشخیص داده شده است(۲۵،۲۴). سلنوپروتئین پی، یک پروتئین مهم حاوی سلنیوم در پلاسما است که هم اعمال انتقالی و هم انتی‌اکسیدانی دارد(۲۲). سلنوآنزیم‌هایی چون گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) نیز در قدم دوم مسیر آنتی‌اکسیدانی خود تبدیل H_2O_2 به H_2O را کاتالیز می‌کند(۲۳). از آن‌جاکه تاکنون مطالعه‌ای اثر سدیم والپروات بر میزان روی سرم و نقش محافظتی مکمل‌های روی و سلنیوم را در جلوگیری ازسمیت کلیوی سدیم والپروات از طریق کاهش فاکتورهای استرس اکسیداتیو نشان دهد انجام نشده است. لذا در این مطالعه برای اولین بار به بررسی نقش محافظتی روی و سلنیوم و اثر ترکیبی آن‌ها در جلوگیری از سمیت کلیوی سدیم والپروات پرداخته شد.

مواد و روش ها

سدیم والپروات، سدیم سلنیت، سولفات روی از

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

شرکت مرک آلمان، ۲،۴-دی نیتروفنیل تریس، تری کلرواستیک اسید، تیوبابیتوریک اسید، بوتانل و سایر مواد شیمیایی از شرکت‌های استاندارد خریداری شدند. در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، از رت‌های نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰± ۲۲۰گرم که در ۵ گروه در شرایط استاندارد از نظر دسترسی به آب و غذا در دمای ۲ ± ۲۲درجه سانتی‌گراد و سیکل۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی نگهداری شدند،استفاده شد.

حیوانات به پنج گروه تقسیم شدند. گروه اول کنترل، آب مقطر (حلال دارو)،گروه دوم تک دوز سدیم والپروات 200mg/kg، گروه سوم تک دوز 200mg/kg سدیم والپروات +10mg/kg روی، گروه چهارم تک دوز 200mg/kg سدیم والپروات +1mg/kg سلنیوم وگروه پنجم 200mg/kg سدیم والپروات + 10mg/kg روی +1mg/kg سلنیوم به صورت داخل صفاقی به مدت چهار هفته دریافت نمودند. تمامی دوزها بر اساس مطالعات قبلی تعیین شدند(۱۴،۲۶-۲۹). ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، حیوانات کشته شده و کلیه آن‌ها جهت بررسی پارامترهای استرس اکسیداتیوپروتئین کربونیل (PCO)، مالون دی آلدئید (MDA) وگلوتاتیون(GSH) خارج شد. هم‌چنین ۲ سی‌سی خون از قلب حیوانات جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی (اوره-کراتینین) گرفته شد.

اندازه گیری پارامترهای استرس اکسیداتیو

نرمالیز کردن داده‌ها

تعیین غلظت پروتئین با روش برادفورد انجام می‌شود. برای هر کدام از شاخص‌های موردنظر می‌توان میزان فعالیت را برحسب پروتئین بافتی نرمالایز کرد.

اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی

براساس روش تیوبابیتوریک اسید اندازه‌گیری می‌شود. بدین ترتیب که به ۰/۲ml از سوسپانسیون بافتی ۰/۱ ml از معرف TBA شامل ۰/۵HCl نرمال ۱۵٪TCA و ۰/۳TBA درصد اضافه شد و به خوبی مخلوط و در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه می‌گردد و بعد از سرد شدن به آن n۰/۲ ml- بوتانل اضافه کرده و خوب تکان داده و سپس در۳۵۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژکرده لایهn- بوتانل برای سنجش در طول موج ۵۳۲ nm جدا شده و مقدار TBARs از روی منحنی استاندارد محاسبه می گردد(۳۰).

تعیین میزان پروتئین کربونیل

میزان پروتئین کربونیل با استفاده از معرف ۲/۴(DNPH) dinitrophenyl-hydrazine- اندازه‌گیری می‌شود. بعد از تعیین پروتئین بافت، 500µl از تری‌کلرواستیک اسید (20% w/v) به250µg از نمونه اضافه شده و در 4°C به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری می‌کنیم. سپس پروتئین‌های رسوب داده شده با دور 6500×g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رویی دور ریخته می شود.

رسوب زیرین کاملا در 500µlاز 0.1M NaOH پراکنده شده و 500 µl از 10mM DNPH حل شده در 2 M HCl به نمونه‌ها اضافه می‌شود. هم‌چنین یک بلانک که با اضافه کردن 500µl از 2 M HCl بدون DNPH به نمونه پروتئین تهیه می‌شود. سپس نمونه‌ها به مدت نیم ساعت در دمای اتاق و به دور از نور انکوبه شده، و سپس 500µl از تری کلرواستیک اسید (20%w/v) اضافه می‌شود. رسوب پروتئینی با سانتریفوژ در 6500×g به مدت ۱۰ دقیقه جمع‌آوری شده و سوپرناتنت دور ریخته می‌شود. رسوب زیرین با ۱ میلی‌لیتر از مخلوط 1:1(v/v) اتانول و اتیل استات ترکیب شده و مجدداً در 6500×g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده تا محلول رویی برداشته شود. رسوب پروتئین نهایی در 200 µl از محلول گوانین هیدروکلراید 6M پراکنده می‌شود. میزان پروتئین کربونیل با خواندن جذب در 365nm با ضریب جذب 22,000 M−1 cm−1 ارزیابی می‌شود که به صورت nmol of DNPH per milligram of protein

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

بیان می‌شود(۳۱). نویسنده این عبارت را ترجمه کند: مانند میلی گرم از پروتئین به ازای هر نانومول از DNPH

اندازه گیری گلوتاتیون

یک میلی‌لیتر از هموژن بافتی را برداشته و به آن ۰,۲۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ اضافه کرده و بعد از ورتکس کردن به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰x g سانتریفیوژ می کنیم. یک میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی را برداشته و به آن ۲ میلی‌لیتر دی سدیم هیدروژن فسفات ۰/۳ مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر DTNB 0.4% اضافه کرده و ورتکس می کنیم و ۱۵ دقیقه انکوبه می کنیم تا واکنش کامل شود سپس میزان جذب را در طول موج ۴۱۲ نانومتر می‌خوانیم. غلظت گلوتاتیون را از روی منحنی استاندارد گلوتاتیون برحسب nmol/ml به دست می آوریم(۳۲).

اندازه گیری سطح روی سرم

جهت تعیین غلظت روی در نمونه‌های سرمی ابتدا محلول‌های استاندارد روی ساخته شد.۴ محلول استاندارد روی با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ppm ساخته شد. بعد ازخارج کردن نمونه‌ها از فریزر و بازشدن یخ آن‌ها از هرنمونه سرمی ۱ میلی‌لیتر برای سنجش فلز روی جدا شد. سرم‌ها در بالن ژوژه‌های ۵ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس برای اندازه‌گیری فلز روی از محلول گلیسرول ۵ درصد برای به حجم رساندن بالن ژوژه‌ها استفاده شد غلظت محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها با دستگاه جذب اتمی شعله‌ای (Flame Atomic Absorption Spectrophotometry) مدل Perkin Elmer Analyst100 در طول موج 213.9 نانومتر برای روی خوانده شد(۳۳).

اندازه گیری سطح اوره و کراتینین سرم

روش سنجش کراتینین بر اساس رنگ سنجی بدون حذف پروتئین‌ها به روشJaffe(۳۴) و سنجش اوره بر اساس اوره از می باشد(۳۵).

آنالیز آماری

نتایج برحسب میانگین± انحراف معیار حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده و همه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مدل ۱۷ انجام شد. تست‌های آماری مورد استفاده شامل one-way ANOVA testبا پست تست Tukeyاستفاده شد و حد معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ تعریف شده است.

یافته ها

همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، به منظور ارزیابی اثر سدیم والپروات بر عملکرد کلیه، میزان اوره (BUN) وکراتینین (Cr) در سرم رت‌های تحت درمان اندازه‌گیری شد که افزایش قابل توجه در این مارکرها تایید کننده بروز آسیب کلیوی ناشی از سدیم والپروات بود. از طرفی تجویز روی و سلنیوم به‌طور معنی‌داری از افزایش بیومارکرهای عملکرد کلیه جلوگیری کرد و علاوه بر آن تجویز هم زمان روی و سلنیوم اثر بهتری را نسبت به تجویز هرکدام به تنهایی نشان داد.

جدول شماره ۱: اثر روی و سلنیوم بر مارکرهای کلیوی

	اوره (mg/dl)	کراتینین (mg/dl)
کنترل	۲۱/۵ ±۱/۵	۰/۵۷ ±۰/۰۵
سدیم والپروات	[a] ۳۲/۸ ±۲/۲	[a] ۰/۷۵ ±۰/۰۶
سدیم والپروات+روی	[b] ۲۱/۸ ±۱	[b] ۰/۵ ±۰/۰۳
سدیم والپروات+سلنیوم	[b] ۲۶ ±۳/۶	[b] ۰/۵ ±۰/۰۶
سدیم والپروات+روی+سلنیوم	[b] ۲۱/۳ ±۱	۰/۶ ±۰/۰۲

نتایج به‌صورت mean±SD حاصل ازسه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.
a:نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ($p < ۰/۰۵$)،
b:نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه سدیم والپروات ($p < ۰/۰۵$).

سطح روی در سرم رت‌های تحت مواجه با سدیم والپروات کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است (جدول شماره ۲). میزان پروتئین کربونیل، در بافت کلیه رت در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. بیش‌ترین میزان پروتئین کربونیل، در گروه دریافت‌کننده سدیم والپروات تنها مشاهده شد که در گروه دریافت

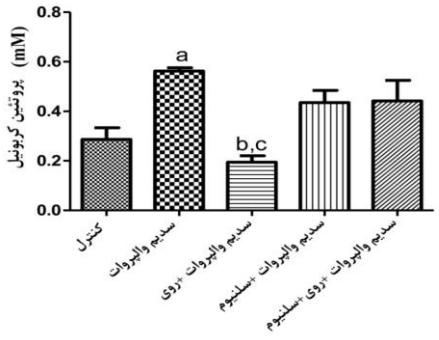
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

کننده روی و سلنیوم، کاهش معنادار در میزان پروتئین کربونیل نسبت به گروه سدیم والپروات تنها مشاهده شد. هم‌چنین تجویز روی به تنهایی اثر بهتری را در کاهش پروتئین کربونیل ناشی از سدیم والپروات نسبت به تجویز همزمان روی و سلنیوم از خود نشان داد.

جدول شماره ۲: اثر سدیم والپروات بر روی سطح سرمی روی

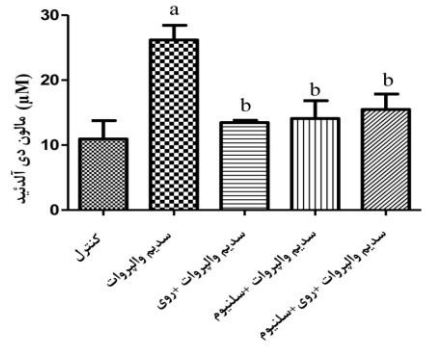
	روی(µg/dl)
کنترل	۱۶/۶ ±۰/۴
سدیم والپروات	۱۰/۶ ±۰/۴ [a]
سدیم والپروات+روی	۳۳/۸ ±۸/۷ [b]

نتایج به‌صورت mean±SD حاصل ازسه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.
a:نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (p <۰/۰۵)،
b:نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه سدیم والپروات (p <۰/۰۵).

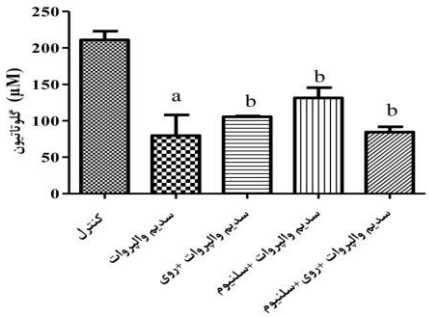


نمودار شماره ۱: اثر روی و سلنیوم پروتئین کربونیل ناشی از والپروات در بافت کلیه
نتایج به‌صورت mean±SD حاصل ازسه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.
a: نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه کنترل است (p <۰/۰۵).
b: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه والپروات است (p <۰/۰۵).
c: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه روی و سلنیوم است (p <۰/۰۵).

بیش‌ترین میزان پراکسیداسیون لیپیدی و کم‌ترین سطح گلوتاتیون در گروه دریافت کننده سدیم والپروات تنها مشاهده شد .در گروه دریافت‌کننده روی و سلنیوم، کاهش معنی‌دار در میزان پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش میزان گلوتاتیون احیا نسبت به گروه سدیم والپروات تنها مشاهده شد. هم‌چنین تجویز هم زمان روی و سلنیوم اثر بهتری را در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سدیم والپروات نسبت به تجویز هرکدام به تنهایی نشان داد (نمودارهای شماره ۲ و ۳).



نمودار شماره ۲: اثر روی و سلنیوم بر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از والپروات در بافت کلیه
نتایج به‌صورت mean±SD حاصل ازسه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.
a: نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه کنترل است (p <۰/۰۵).
b: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه والپروات است (p <۰/۰۵).



نمودار شماره ۳: اثر روی و سلنیوم بر اکسیداسیون گلوتاتیون ناشی از والپروات در بافت کلیه
نتایج به‌صورت mean±SD حاصل ازسه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.
a: نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه کنترل است (p <۰/۰۵).
b: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه والپروات است (p <۰/۰۵).

بحث

سدیم والپروات یک داروی ضد صرع شایع می‌باشد که از سال ۱۹۷۸ در امریکا برای درمان صرع به کار گرفته شده است(۳۶). اختلال توبول‌های کلیوی در بیماران صرعی در طی درمان با سدیم والپروات گزارش شده است. در یک مطالعه روی یک کودک ۱۲ ساله مبتلا به صرع کوچک که تحت درمان با سدیم والپروات بود هایپرآمینواسید اوری، گلوکوزوری، پروتئینوری و فسفات اسیدوزیس گزارش شدکه اشاره به اثرات سمیت کلیوی مستقیم سدیم والپروات دارد(۳۷). در این مطالعه نیز اندازه‌گیری میزان اوره و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

کراتینین سرم نشان دهنده افزایش میزان آسیب کلیوی ناشی از سدیم والپروات نسبت به گروه کنترل بود که تاییدکننده بروز سمیت کلیوی در مصرف والپروات است. اندازه‌گیری اوره رایج‌ترین آزمایش در بررسی عملکرد کلیه‌ها می‌باشد. اوره آخرین محصول ایجاد شده از متابولیسم اسیدهای آمینه وکاهش پروتئین‌ها است و افزایش مقدار کراتینین در پلاسماگویای کاهش تصفیه‌ی گلومرولی و اختلال در عملکرد کلیه است(۳۵-۳۷). هم‌چنین مطالعات مختلف نقش استرس اکسیداتیو را در سمیت کلیوی ناشی از سدیم والپروات به اثبات رسانده‌اند(۱۵). پراکسیداسیون لیپیدی یکی از پیامدهای افزایش تشکیل ROS می‌باشد(۴۰-۳۸). در واقع استرس اکسیداتیو می‌تواند منجر به آسیب به مولکول‌های بزرگ سلولی مثل پروتئین، لیپیدها باعث اختلال در غشای سلول و پاره شدن سلول و یا از طریق آسیب به DNA یاعث شروع مرگ سلولی و در نهایت آسیب بافتی شود(۴۱). بنابراین با مهار استرس اکسیداتیو می‌توان جلوی مرگ سلول و نهایتا آسیب بافتی را گرفت. روی و سلنیوم از عناصر ضروری در بسیاری از سیستم‌های بیولوژیکی می‌باشند ونقش آن‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت‌های مهم سلولی تثبیت شده است(۴۲). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که کمبود روی منجر به پراکسیداسیون لیپیدی و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در رت می‌شود(۲۰). در مطالعه‌ای اثر روی بر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از کلرید جیوه در کلیه رت مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که روی باعث افزایش فعالیت انزیم‌های حفاظتی و گلوتاتیون که خود باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدی است می‌شود(۵۷). محققان زیادی اثر حفاظتی روی را در سمیت کبدی استامینوفن- برومو‌بنزن و تتراکلرید کربن مشاهده کردند(۲۱). مطالعات قبلی نشان داد که سدیم والپروات به شکل محکمی به البومین در پلاسما باند می‌شود و ممکن است جایگزین روی از پروتئین حامل آن در پلاسما شود و در نتیجه به کاهش سطح پلاسمایی روی منجر شود(۳۶، ۴۳).

سدیم والپروات همچنین باعث کاهش سطح سلنیوم بدن می شود و با توجه به این که سدیم والپروات منجر به کاهش گلوتاتیون می‌شود و سلنیوم نیز از اجزای گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشد، بنابراین می‌توان گفت که کاهش سطح سلنیوم با کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز که یک انزیم آنتی‌اکسیدانی است همراه است و این امر در سمیت سدیم والپروات دخیل است(۴۴).

چندین شواهد از این مفهوم حمایت می‌کند که روی باعث مهار تخریب اکسیداتیو مولکول‌ها- ارگان‌ها و سلول‌ها درخارج بدن می‌شود و تزریق دوز بالای روی در موش‌ها باعث مهار صدمه ناشی از تتراکلرید کربن، اندوتوکسین و اشعه می‌شود(۴۵). هم‌چنین میکروزوم‌های رت نسبت به فقر روی تجمع رادیکال‌ها و افزایش سطح پراکسیداسیون را نشان دادند(۴۶،۴۷) و کمبود روی در رت‌ها سطوح پایین متالوتیونین که یک پروتئین با اعمال آنتی‌اکسیدانی است را نشان می‌دهد(۵۰-۴۸). اثر روی نیز در بالا رفتن سطح گلوتاتیون نیز گزارش شده است.پیش از این نشان داده شده است که روی و سلنیوم به شکل موثری از اختلال کبد و تیرویید ناشی از کادمیوم محافظت می‌کنند(۲۰). نتایج مطالعه حاضر نشان داده که اثر ترکیبی روی و سلنیوم در خنثی‌کردن استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم در کلیه بسیار قدرتمندتر از مصرف هر یک به تنهایی است(۵۱). در رت‌هایی که در معرض همزمان روی و سلنیوم در مواجهه با کادمیوم قرار گرفته بودند فعالیت سوپراکساید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) به طور چشمگیری بیش‌تر از رت‌های در معرض کادمیوم بود(۲۰). یکی از اثرات تولید رادیکال‌های آزاد در یک محیط بیولوژیک مثل سلول، حمله به اسیدهای چرب غیراشباع موجود در ساختمان غشا سلولی است که به عنوان پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده که به صورت زنجیروار باعث افزایش میزان رادیکال‌های آزاد شده ومی‌تواند باعث پارگی غشای سلول، بروز نکروز و در نهایت فیبروز بافتی شود(۵۲).

نتایج حاصل از این مطالعه افزایش پراکسیداسیون

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

لیپیدی را در کلیه رت‌های تحت مواجهه با والپروات نشان داد. مالون‌دی‌آلدئید مارکر آسیب اکسیداتیو به لیپیدها بوده که در گروه والپروات افزایش معنی‌داری در مطالعه حاضر داشت و در گروه‌های تحت درمان با روی و سلنیوم کاهش این مارکر مشاهده گردید ($p <$ ۰/۰۵).

پروتئین کربونیل بیومارکر ایده آلی در بررسی اکسیداسیون شدید پروتئین‌هاست(۵۳). مطالعه حاضر نیز همسو با مطالعات قبلی و نشان دهنده افزایش معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۵). محتوای پروتئین کربونیل در گروه سدیم والپروات بود که پس از تحت درمان قرار گرفتن با روی و سلنیوم به میزان چشم‌گیری مقدار این فاکتور کاهش یافت. در مطالعه پیشین هم کوئرستین (Quercetin) که یک فلاونوئید یا رنگدانه گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی است که باعث‌کاهش سطوح مارکرهای استرس اکسیداتیو چون پروتئین کربونیل و مالون آلدئید ناشی از سدیم والپروات در بافت کلیه داشت(۱۵).

گلوتاتیون یکی از مهم‌ترین دفاع انتی اکسیدانی در بدن می‌باشد که نقش مهمی را در خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن در سلول را به عهده دارد و سدیم والپروات به‌طور معنی‌داری میزان گلوتاتیون را کاهش داد ($p <$ ۰/۰۵) و تجویز روی و سلنیوم به‌طور معنی‌دای سطح آن را به‌طور اولیه احیا نمود. در مطالعه‌ای نشان داده شد که مکمل‌های سلنیوم باعث مهار استرس اکسیداتیو از طریق کاهش رادیکال‌های ازاد اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش صدمات کلیوی در رت‌های تحت مواجهه با جنتامایسین شده است(۵۴). در مطالعه‌ای دیگر استفاده کلینیکی از یون‌های روی در حفاظت از زخم‌های گوارشی ناشی از اتانول مورد مطالعه قرار گرفته است که نقش کمک‌کننده و موثری داشته است(۵۵). در مطالعات دیگری نتایج نشان داد که درمان ترکیبی مکمل‌های روی و سلنیوم نقش موثر و مهمی را درحفاظت کلیوی، عصبی و کبدی ناشی از متیل جیوه ایفا می‌کند(۵۶).

هم‌چنین مقایسه اثرات محافظتی گروه‌های درمانی نشان داد که تجویز هم زمان روی و سلنیوم در اکثر پارامترهای ارزیابی شده اثر بهتری در کاهش سمیت ناشی از سدیم والپروات داشته است. از طرفی کاهش فاکتورهای سرمی آسیب کلیوی ناشی از تماس با سدیم والپروات پس از تجویز داروهای محافظ هم راستا با کاهش سطح استرس اکسیداتیو در بافت کلیه بوده است که نشان دهنده نقش بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانتی بدن توسط این ترکیبات و کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از والپروات است.

در پایان می توان نتیجه‌گیری کرد که نتایج مطالعه ما آسیب اکسیداتیو به بافت کلیه را در رت‌های دریافت‌کننده سدیم والپروات تأیید کرد. هم‌چنین داده‌های ما به خوبی اثربخشی روی و سلنیوم به خصوص در تجویز هم زمان را در کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از سدیم والپروات در بافت کلیه رت نشان داد. بنابراین در مطالعه صورت گرفته مشخص شد که درمان ترکیبی با مکمل‌های روی و سلنیوم در استرس اکسیداتیو ناشی از سدیم والپروات در کلیه می‌تواند به عنوان یک راه‌کار در کاهش عوارض ناشی از مصرف سدیم والپروات پیشنهاد شود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه خانم ملوس نادری دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران است. بودجه این طرح توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شد.

References

1. Shaalan S, El-wakkad AS, Saleh H. Protective Effect Of L-Carnitine And Baker Yeast Saccharomyces Cerevisiae Against Hepatic Toxicity Induced By Valproate As

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

Antiepileptic Drug In Rats. Int J Pharm Pharm Sci 2015; 7(5): 89-95.

2. Kumar V, Sharma SK, Nagarajan K, Dixit PK. Effects of Lycopene and Sodium Valproate on Pentylenetetrazol-Induced Kindling in Mice. Iran J Med Sci 2016; 41(5): 430-436 (Persian).
3. Emekli-Alturfan E, Alev B, Tunali S, Oktay S, Tunali-Akbay T, Ozturk LK, et al. Effects of edaravone on cardiac damage in valproic acid induced toxicity. Ann Clin Lab Sci 2015; 45(2): 166-172.
4. Bialer M. Why are antiepileptic drugs used for nonepileptic conditions? Epilepsia 2012; 53(supp7): 26-33.
5. Vasudev K, Mead A, Macritchie K, Young AH. Valproate in acute mania: is our practice evidence based? Int J Health Care Qual Assur 2012; 25(1): 41-52.
6. Soares-Weiser K, Vergel YB, Beynon S, Dunn G, Barbieri M, Duffy S, et al. A systematic review and economic model of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of interventions for preventing relapse in people with bipolar disorder. Health Technol Assess 2007; 11(39): iii-iv.
7. Haddad PM, Das A, Ashfaq M, Wieck A. A review of valproate in psychiatric practice. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2009; 5(5): 539-551.
8. Nanau RM, Neuman MG. Adverse drug reactions induced by valproic acid. Clinical Biochem 2013; 46(15): 1323-1338.
9. Johannessen S, Johannessen Landmark C. Antiepileptic drug interactions-principles and clinical implications. Curr Neuropharmacol 2010; 8(3): 254-267.
10. Silberstein D. Valproic acid: clinical efficacy and use in other neurological disorders. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, Antiepileptic Drugs. 5th ed. Philadelphia: LWW; 2002. p. 818-827.
11. Tan J, Cang S, Ma Y, Petrillo RL, Liu D. Novel histone deacetylase inhibitors in clinical trials as anti-cancer agents. J Hematol Oncol 2010; 3(1): 1-13.
12. Zhang XZ, Li XJ, Zhang HY. Valproic acid as a promising agent to combat Alzheimer's disease. Brain Res Bull 2010; 81(1): 3-6.
13. Altunbas S, Yıldız D, Anarat A, Burgut HR. Renal tubular dysfunction in epileptic children on valproic acid therapy. Pediatr Nephrol 2001; 16(3): 256-259.
14. Galaly SR, Abdella EM, Mohammed HM. Effects of royal jelly ongenotoxicity and nephrotoxicity induced by valproic acid in albino mice. Beni-Seuf Univ J Applsci 2014; 3(1): 1-15.
15. Chaudhary S, Ganjoo P, Raiusddin S, Parvez S. Nephroprotective activities of quercetin with potentialrelevance to oxidative stress induced by valproic acid. Protoplasma 2015; 252(1): 209-217.
16. Pourahmad J, Eskandari MR, Kaghazi A, Shaki F, Shahraki J, Fard JK. A new approach on valproic acid induced hepatotoxicity: involvement of lysosomal membrane leakiness and cellular proteolysis. Toxicol In Vitro 2012; 26(4): 545-551.
17. Kiang TK, Teng XW, Surendradoss J, Karagiozov S, Abbott FS, Chang TK. Glutathione depletion by valproic acid in sandwich-cultured rat hepatocytes: role of biotransformation and temporal relationship with onset of toxicity. Toxicol Appl Pharmacol 2011; 252(3): 318-324.
18. Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. Physiol Rev 1993; 73(1): 79-118.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

19. Malhotra A, Dhawan D. Current view of zinc as a hepatoprotective agent in conditions of chlorpyrifos induced toxicity. Pestic Biochem Physiol 2014; 112: 1-6.
20. DiSilvestro RA, Carlson GP. Effects of mild zinc deficiency, plus or minus acute phase response, on CCl 4 hepatotoxicity. Free Radic Biol Med 1994; 16(1): 57-61.
21. Szymańska JA, Świetlicka EA, Piotrowski JK. Protective effect of zinc in the hepatotoxicity of bromobenzene and acetaminophen. Toxicology 1991; 66(1): 81-91.
22. Asare GA, Osae S, Nortey ENN, Yambire FK, Amedonu E, Doku D, et al. Evaluation of serum metallothionein-1, selenium, zinc, and copper in Ghanaian type 2 diabetes mellitus patients. Int J Diabetes Dev Ctries 2013; 33(2): 86-95.
23. Jihen el H, Imed M, Fatima H, Abdelhamid K. Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver of the rat: effects on the oxidative stress. Ecotoxicol Environ Saf 2009; 72(5): 1559-1564.
24. Galażyn-Sidorczuk M, Brzóska MM, Rogalska J, Roszczenko A, Jurczuk M. Effect of zinc supplementation on glutathione peroxidase activity and selenium concentration in the serum, liver and kidney of rats chronically exposed to cadmium. J Trace Elem Med Biol 2012; 26(1): 46-52.
25. El-Boshy ME, Risha EF, Abdelhamid FM, Mubarak MS, Hadda TB. Protective effects of selenium against cadmium induced hematological disturbances, immunosuppressive, oxidative stress and hepatorenal damage in rats. J Trace Elem Med Biol 2015; 29: 104-110.
26. Abdel-Dayem MA, Elmarakby AA, Abdel-Aziz AA, Pye C, Said SA, El-Mowafy AM. Valproate-induced liver injury: modulation by the omega-3 fatty acid DHA proposes a novel anticonvulsant regimen. Drugs RD 2014; 14(2): 85-94.
27. Ogle CW, Cho CH. Protection by zinc sulphate against reserpine-induced ulceration and other gastric effects in the rat. Pharmacology 1978; 17(5): 254-261.
28. Baldew GS, van den Hamer CJ, Los G, Vermeulen NP, de Goeij JJ, McVie JG. Selenium-induced protection against cis-diamminedichloroplatinum (II) nephrotoxicity in mice and rats. Cancer Res 1989; 49(11): 3020-3023.
29. Karavelioglu E, Boyaci MG, Simsek N, Sonmez MA, Koc R, Karademir M, et al. Selenium protects cerebral cells by cisplatin induced neurotoxicity. Acta Cir Bras 2015; 30(6): 394-400.
30. Shaki F, Hosseini M-J, Shahraki J, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of depleted uranium on isolated liver mitochondria: a revised mechanistic vision for justification of clinical complication ofdepleted uranium (DU) on liver. Toxicol Environ Chem 2013; 95(7): 1221-1234.
31. Harris ED. Regulation of antioxidant enzymes. FASEB J 1992; 6(9): 2675-2683.
32. Yiin SJ, Chern CL, Sheu JY, Lin TH. Cadmium induced lipid peroxidation in rat testes and protection by selenium. Biometals 1999; 12(4): 353-359.
33. Salehifar E, Shokrzadeh M, Ghaemian A, Akbari AS. Comparison of copper and zinc levels in the serum of ischemic cardiomyopathy patients with healthy volunteers. JBUMS 2008; 10(2): 23-30 (Persian).
34. Foster-Swanson A, Swartzentruber M, Roberts P, Feld R, Johnson M, Wong S. Reference interval studies of the rate-blanked creatinine/

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

Jaffe method on BM/Hitachi systems in six US laboratories. Clin Chem 1994; 40: 1057.

35. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests. 3th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1995.
36. Daffron JC, Kasarskis EJ. Effect of valproic acid on zinc metabolism in the rat. Toxicol Lett 1984; 23(3): 321-325.
37. Lenoir GR, Pèrignon J-L, Gubler M-C, Broyer M. Valproic acid: a possible cause of proximal tubular renal syndrome. J Pediat 1981; 98(3): 503-504.
38. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39(1): 44-84.
39. Buchi KN, Gray PD, Rollins DE, Tolman KG. Protection Against Sodium Valproate Injury in Isolated Hepatocytes by α-Tocopherol and N, N'-Diphenyl-p-phenylenediamine. J Clin Pharmacol 1984; 24(4): 148-154.
40. Jurima-Romet M, Abbott FS, Tang W, Huang HS. Cytotoxicity of unsaturated metabolites of valproic acid and protection by vitamins C and E in glutathione-depleted rat hepatocytes. Toxicology 1996; 112(1): 69-85.
41. Shaki F, Pourahmad J. Mitochondrial toxicity of depleted uranium: protection by beta-glucan. Iran J Pharm Res 2012; 12(1): 131-140 (Persian).
42. Klotz LO, Kröncke KD, Buchczyk DP, Sies H. Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidativeand nitrosative stress. J Nutr 2003; 133(5): 1448S-1451S.
43. Gugler R, Mueller G. Plasma protein binding of valproic acid in healthy subjects and in patients with renal disease. Br J Clin Pharmacol 1978; 5(5): 441-446.
44. Nazıroğlu M. Role of selenium on calcium signaling and oxidative stress-induced molecular pathways in epilepsy. Neurochem Res 2009; 34(12): 2181-2191.
45. Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. Free Radic Biolo Med 1990; 8(3): 281-291.
46. Hammermueller JD, Bray TM, Bettger WJ. Effect of zinc and copper deficiency on microsomal NADPH-dependent active oxygen generation in rat lung and liver. J Nutr 1987; 117(5): 894-901.
47. Sullivan J, Jetton M, Hahn H, Burch R. Enhanced lipid peroxidation in liver microsomes of zinc-deficient rats. Am J Clin Nutr 1980; 33(1): 51-56.
48. Blalock TL, Dunn MA, Cousins RJ. Metallothionein gene expression in rats: tissue-specific regulation by dietary copper and zinc. J Nutr 1988; 118: 222-228.
49. Bettger WJ, O'Dell BL. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. Life Sciences 1981; 28(13): 1425-1438.
50. Dreosti IE, Partick EJ. Zinc, ethanol, andlipid peroxidation in adult and fetal rats. Biol Trace Elem Res 1987; 14(3): 179-191.
51. Messaoudi I, El Heni J, Hammouda F, Saïd K, Kerkeni A. Protective effects of selenium, zinc, or their combination on cadmium-induced oxidative stress inrat kidney. Biol Trace Elem Res 2009; 130(2): 152-161.
52. Shokrzadeh M, Shaki F, Mohammadi E, Rezagholizadeh N, Ebrahimi F. Edaravone decreases paraquat toxicity in a549 cells and lung isolated mitochondria. Iran J Pharm Res 2014; 13(2): 675 (Persian).
53. Sytze van Dam P. Oxidative stress and diabetic neuropathy: pathophysiological

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]

mechanisms and treatment perspectives. Diabetes Metab Res Rev 2002; 18(3): 176-184.

54. Randjelovic P, Veljkovic S, Stojiljkovic N, Velickovic L, Sokolovic D, Stoiljkovic M, et al. Protective effect of selenium on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. Drug Chem Toxicol 2012; 35(2): 141-148.
55. Rodrigues L, Galle P, Siry P, Vinhaes A. The protective effect of zinc on gastric ulceration caused by ethanol treatment. Braz J Med Biol Res 1988; 22(1): 41-50.
56. Deepmala J, Deepak M, Srivastav S, Sangeeta S, Kumar SA, Kumar SS. Protective effect of combined therapy with dithiothreitol, zinc and selenium protects acute mercury induced oxidative injury in rats. J Trace Elem Med Biol 2013; 27(3): 249-256.
57. Fukino H, Hirai M, Hsueh YM, Yamane Y. Effect of zinc pretreatment on mercuric chloride-induced lipid peroxidation in the rat kidney. Toxicol Appl Pharmacol 1984; 73(3): 395-401.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-26]