

بررسی اثر اورسوداکسی کولیک اسید بر روی کیندلینگ شیمیایی و اختلال یادگیری ناشی از آن در موش صحرایی

مریم نادری (MD)^۱، ابوالفضل ژند (MD)^۲، یحیی ژند (MD)^۳، تینا رهجو (MSc)^۴، محمدرضا پالیزوان (PhD)^{۵*}

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک
۲- مرکز تحقیقات اختلالات ایسکمیک، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

دریافت: ۹۶/۴/۱۰، اصلاح: ۹۶/۷/۳۰، پذیرش: ۹۶/۸/۲۱

خلاصه

سابقه و هدف: صرع یکی از بیماریهای رایج مغزی است که به دلیل مقاومت دارویی در بیماران صرعی حدود ۳۰-۴۰ درصد مجدداً تشنج می‌کنند. اخیراً اثرات مفید اورسوداکسی کولیک اسید (UDCA=Ursodeoxycholic Acid) بر روی بیماریهای مغزی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر UDCA بر روند کیندلینگ شیمیایی القا شده به وسیله پنتیلین تترازول (PTZ) و اختلال حافظه و یادگیری در ماز آبی موریس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۳۲ سرموش نر نژاد ویستار در چهار گروه انجام شد. گروه اول (n=۷) و دوم (n=۹) به ترتیب سه بار ۰/۵ میلی لیتر محلول NaCl و یا ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم UDCA و گروه سوم (n=۷) و چهارم (n=۹) به ترتیب ۱۵ بار ۰/۵ میلی لیتر محلول NaCl و یا ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم UDCA را به شکل داخل صفاقی (هر ۴۸ ساعت یکبار) دریافت کردند. کیندلینگ شیمیایی در تمامی گروه‌ها پس از سه بار تزریق شروع گردید. ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق حافظه فضایی موشها در ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: پانزده بار تزریق UDCA به شکل معنی داری سبب کاهش مرحله حمله از ۳/۵±۰/۱۷ به ۳/۰۸±۰/۱۱ و زمان باقی ماندن در مرحله پنج تشنج از ۱۲/۳۸±۱/۲ به ۸/۶۱±۰/۵۸ و افزایش زمان رسیدن به مرحله پنج تشنج از ۱۰۲۱/۶۵±۷۲/۰۷ به ۱۲۵۲/۴۱±۴۹/۶۳ در مقایسه با سالین شد. از طرف دیگر سه بار تزریق UDCA به شکل معنی داری سبب افزایش حافظه رفرانس از ۱۸/۷۲±۱/۲ به ۲۶/۱۱±۱/۸ گردید.

نتیجه‌گیری: اورسوداکسی کولیک اسید سبب مهار کیندلینگ شیمیایی و بهبود اختلال حافظه ناشی از آن می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: اورسوداکسی کولیک اسید، پنتیلین تترازول، صرع، یادگیری فضایی.

مقدمه

تشنج یک اختلال شایع مغزی می‌باشد و حدود ۶۵ میلیون نفر در سراسر جهان به این بیماری مبتلا می‌باشند. حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد از بیماران علی‌رغم مصرف داروهای ضد تشنج، مجدداً تشنج می‌کنند (۵-۱). تشنج لوب تمپورال یکی از شایعترین انواع تشنج در بالغین می‌باشد. مطالعات گذشته نشان داده‌اند ۷۰ درصد کسانی که به داروهای ضد تشنج مقاوم هستند دارای پاتولوژی در لوب تمپورال می‌باشند (۶) و از میان پاتولوژیهای متعددی که متعاقب تشنج ایجاد می‌شوند شایعترین آنها از بین رفتن نورونها است که موجب اختلال در حافظه و یادگیری نیز می‌گردند (۷). کیندلینگ فرآیندی است که در آن با تحریکهای زیر آستانه ای مکرر در حیوان تشنج ایجاد می‌کنند (۸). مطالعات نشان داده‌اند که متعاقب کیندلینگ در نورونهای هیپوکمپ مرگ سلولی به واسطه آپوپتوز رخ می‌دهد (۹). همچنین نشان داده شده است که مسیرهای متعدد القا کننده آپوپتوز از جمله افزایش فعالیت ROS و رها سازی سیتوکروم سی در پاتوژنز کیندلینگ دخیل هستند (۱۴-۱۰ و ۷). Cheng و همکاران نشان دادند که مصرف داروی Edaravone با کاهش میزان آپوپتوز، منجر به کاهش آسیب نورونی ناشی از تشنج و کاهش تشنج می‌گردد (۱۵). اورسوداکسی کولیک اسید یکی از اسیدهای صفراوی است که شاخص‌های بالینی و بیوشیمیایی بیماریهای کبدی را بهبود می‌بخشد (۱۶ و ۱۷) مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند این ماده دارای نقش مهمی در تغییر میزان آپوپتوز در سلولها است (۱۷ و ۱۸). مکانیسم‌های متعددی برای کاهش آپوپتوز به وسیله اسیدهای صفراوی بیان شده است که شامل کاهش میزان رها سازی سیتوکروم سی از میتوکندری و کاهش آپوپتوز ناشی از FAS لیگاند می‌باشند (۱۹ و ۲۰). از طرف دیگر اثرات محافظتی اسیدهای صفراوی در مدل‌های مختلف بیماریهای مغزی مانند پارکینسون، آلزایمر و هانتینگتون نشان داده شده

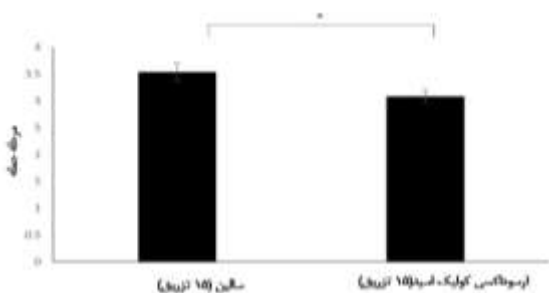
تشنج یک اختلال شایع مغزی می‌باشد و حدود ۶۵ میلیون نفر در سراسر جهان به این بیماری مبتلا می‌باشند. حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد از بیماران علی‌رغم مصرف داروهای ضد تشنج، مجدداً تشنج می‌کنند (۵-۱). تشنج لوب تمپورال یکی از شایعترین انواع تشنج در بالغین می‌باشد. مطالعات گذشته نشان داده‌اند ۷۰ درصد کسانی که به داروهای ضد تشنج مقاوم هستند دارای پاتولوژی در لوب تمپورال می‌باشند (۶) و از میان پاتولوژیهای متعددی که متعاقب تشنج ایجاد می‌شوند شایعترین آنها از بین رفتن نورونها است که موجب اختلال در حافظه و یادگیری نیز می‌گردند (۷). کیندلینگ فرآیندی است که در آن با تحریکهای زیر آستانه ای مکرر در حیوان تشنج ایجاد می‌کنند (۸). مطالعات نشان داده‌اند که متعاقب کیندلینگ در نورونهای هیپوکمپ مرگ سلولی به واسطه آپوپتوز رخ می‌دهد (۹). همچنین نشان داده شده است که مسیرهای متعدد القا کننده آپوپتوز از

این مقاله حاصل پایان نامه مریم نادری دانشجوی رشته پزشکی و طرح به شماره ۱۷۲۰ دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

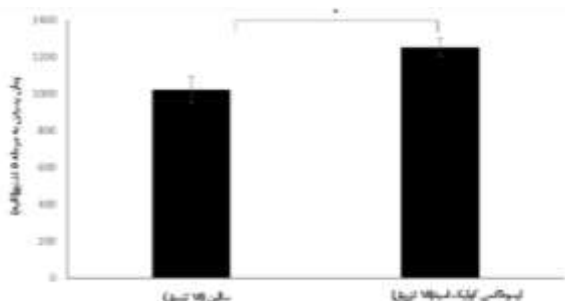
* مسئول مقاله: دکتر محمدرضا پالیزوان

با تکرار روزهای آموزش زمان ($F(1/11)=28/36, p=0/0001$) و مسافت ($F(1/11)=16/92, p=0/0001$) لازم برای پیدا کردن سکو کاهش می یابد. از طرف دیگر مقایسه زمان ($F(1/11)=0/1, p=0/735$) و مسافت ($F(1/11)=0/85, p=0/376$) لازم برای پیدا کردن سکو حاکی از عدم اختلاف معنی دار بین دو گروه بود.

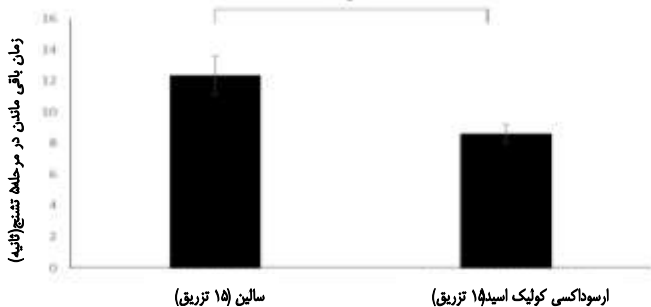
میانگین زمان حضور در یک چهارم هدف در آزمون Probe در گروه UDCA (۳ تزریق) $26/11 \pm 1/8$ ثانیه بود که نسبت به گروه دریافت کننده سالیسین (۳ تزریق) با متوسط زمانی $18/72 \pm 1/2$ ثانیه به شکل معنی داری بیشتر بود ($p=0/006$) (نمودار ۵). مقایسه میانگین زمان حضور در یک چهارم هدف در آزمون Probe در دو گروه UDCA (۱۵ تزریق) و سالیسین (۱۵ تزریق) نشان داد که بین آنها اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p=0/583$) (نمودار ۵).



نمودار ۲. مقایسه میانگین تجمعی مرحله حمله به دنبال ۱۳ تزریق PTZ در دو گروه تزریق UDCA (n=9, 15 تزریق) و سالیسین (n=7, 15 تزریق) (* $p=0/038$)



نمودار ۳. مقایسه میانگین تجمعی زمان رسیدن به مرحله پنج تشنج به دنبال ۱۳ تزریق PTZ در دو گروه UDCA (n=9, 15 تزریق) و سالیسین (n=7, 15 تزریق) (* $p=0/014$)



نمودار ۴. مقایسه میانگین تجمعی زمان مرحله پنج تشنج به دنبال ۱۳ تزریق PTZ در دو گروه UDCA (n=9, 15 تزریق) و سالیسین (n=7, 15 تزریق) (* $p=0/012$)

نشان داد که در متغیرهای مرحله حمله، زمان رسیدن به مرحله دوم تشنج و زمان رسیدن به مرحله پنجم تشنج اختلاف معنی داری وجود ندارد اما میانگین زمان مرحله پنج تشنج به دنبال ۱۵ تزریق سالیسین ($12/37 \pm 1/24$ ثانیه) در مقایسه با ۳ بار تزریق سالیسین ($8/4 \pm 1/09$ ثانیه) به شکل معنی داری بیشتر بود ($p=0/026$). مقایسه میانگین تجمعی پارامترهای تشنجی به دنبال ۳ بار تزریق UDCA و سالیسین نشان داد که در متغیرهای مرحله حمله ($p=0/122$)، زمان رسیدن به مرحله دوم ($p=0/908$)، زمان رسیدن به مرحله پنجم ($p=0/153$) و همچنین زمان باقی ماندن حیوان در مرحله پنجم تشنج ($p=0/767$) بین دو گروه اختلاف معنی داری وجود ندارد (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه پارامترهای تشنجی به دنبال ۳ بار تزریق UDCA و سالیسین

مرحله	گروه	سالیسین (۳ تزریق) Mean±SEM	ارسوداکسی کولیک اسید (۳ تزریق) Mean±SEM	P-value
مرحله حمله		$3/42 \pm 0/28$	$2/89 \pm 0/18$	0/122
زمان رسیدن به مرحله دوم تشنج		$30/7/88 \pm 54/9$	$315/67 \pm 40/38$	0/908
زمان رسیدن به مرحله پنج تشنج		$118/1/09 \pm 71/60$	$1314/41 \pm 55/11$	0/153
زمان باقی ماندن در مرحله پنج تشنج		$8/43 \pm 1/09$	$8 \pm 0/92$	0/767

مقایسه میانگین مرحله حمله در دو گروه نشان داد که مرحله حمله به دنبال تزریق UDCA $3/08 \pm 0/17$ بوده که به شکل معنی داری کمتر از سالیسین $3/53 \pm 0/11$ می باشد ($p=0/038$) (نمودار ۲). مقایسه میانگین تجمعی زمان رسیدن به مرحله دوم تشنج در گروه های ۱۵ بار تزریق UDCA و سالیسین حاکی از عدم اختلاف معنی دار بین آنها بود ($p=0/396$). مقایسه میانگین تجمعی زمان رسیدن حیوان به مرحله پنج تشنج به دنبال تزریق داخل صفاقی PTZ در دو گروه ۱۵ بار تزریق با آزمون تی نشان داد که میانگین زمان رسیدن به مرحله پنجم تشنج در گروه UDCA $1252/41 \pm 63/49$ ثانیه بوده که به شکل معنی داری بیشتر از این زمان ($1021/65 \pm 72/07$ ثانیه) در گروه دریافت کننده سالیسین می باشد ($p=0/014$) (نمودار ۳). مقایسه میانگین تجمعی زمان باقی ماندن حیوان در مرحله پنج تشنج نشان داد که این زمان در گروه UDCA (۱۵ تزریق) $8/61 \pm 0/58$ ثانیه نسبت به سالیسین $12/37 \pm 1/24$ ثانیه (۱۵ تزریق) به شکل معنی داری کمتر می باشد ($p=0/012$) (نمودار ۴). مقایسه میانگین زمان و مسافت طی شده تا پیدا کردن سکو در ۴ روز آموزش نشان داد که در هر دو گروه UDCA (۳ تزریق) و سالیسین (۳ تزریق) به صورت مجزا با تکرار روزهای آموزش زمان و مسافت لازم برای پیدا کردن سکو کاهش می یابد ($F(1/11)=24/11, p=0/0001$). از طرف دیگر مقایسه دو گروه سه تزریق سالیسین و UDCA ($F(1/12)=1/09, p=0/334$) و مسافت ($F(1/12)=1/88, p=0/209$) لازم برای پیدا کردن سکو نشان داد که بین آنها اختلاف معنی داری وجود ندارد.

مقایسه میانگین زمان و مسافت طی شده تا پیدا کردن سکو در ۴ روز آموزش نشان داد که در هر دو گروه UDCA (۱۵ تزریق) و سالیسین (۱۵ تزریق)

کیندلینگ میشود. یکی از مکانیسم های ایجاد تشنج توسط پنتیلن تترازول افزایش میزان آپوتوز در نورونهاست (۳۴ و ۳۳). مطالعات قبلی نشان دادند که UDCA از اثرات آپوتوز القا شده در نورونها توسط ۳-نیتروپروپیونیک اسید جلوگیری می کند. همچنین این دارو باعث کاهش اختلال میتوکندریال در جسم مخطط و از بین رفتن نورون ها در اثر ۳-نیتروپروپیونیک اسید می گردد (۳۵ و ۲۹). در مطالعه ای دیگر UDCA با کاهش آپوتوز سبب کاهش آسیب ناشی از ایسکمی در مغز موشها گردیده بود (۱۶).

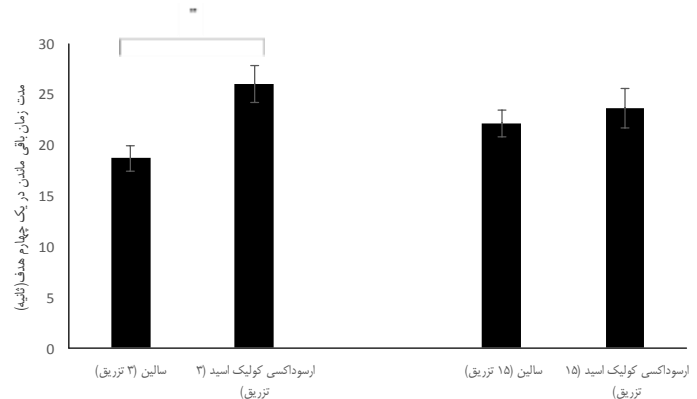
همچنین Castro و همکاران نشان دادند که UDCA آپوتوز ناشی از افزایش بیش از حد گلوتامات را در نورونها کم می کند (۳۶). به نظر می رسد که اثر ۱۵ بار تزریق UDCA بر روی مهار کیندلینگ ناشی از مهار آپوتوز در این موشها باشد. از طرف دیگر نتایج نشان داد که سه بار تزریق UDCA سبب مهار کیندلینگ نمیشود. این اختلاف احتمالا ناشی از این موضوع است که UDCA اثرات دراز مدتی در مهار پدیده تشنج ندارد با این حال در کوتاه مدت بروز تظاهرات تشنجی را در حیوان کمتر می کند. به دلیل اینکه گروه سه بار تزریق در طول تزریقات PTZ، UDCA دریافت کرده بودند این اثرات مهاری در آنها وجود نداشت. احتمال دیگر این است که سه بار تزریق UDCA غلظت کافی جهت بروز اثرات مهاری آن را ایجاد نکرده است. در همین راستا مطالعه ای که به بررسی سطح UDCA در مغز به دنبال تزریق داخل صفاقی پرداخته بودند به این نتیجه رسیدند که سطح UDCA در مغز به دنبال تزریق حاد و مزمن به ترتیب ۲ و ۶ برابر بوده است (۲۹).

بررسی نتایج حافظه و یادگیری فضایی نشان داد که اگر چه هیچکدام از پرتوکل های تزریق UDCA بر روی یادگیری اثر معنی داری نداشت ولی سه بار تزریق UDCA سبب بهبود حافظه موشها در ماز آبی موریس گردید. همراستا با نتایج ما مطالعات قبلی نشان داده اند که تزریق UDCA بر روی اختلال حافظه ناشی از هیپوکسی (۳۷)، مدل آلزایمر (۳۸) اثر ندارد. از طرف دیگر برخلاف نتایج ما که ۳ بار تزریق UDCA سبب بهبود حافظه رفرانس میگردد در حالیکه ۱۵ بار تزریق اثری بر روی حافظه رفرانس نداشت.

نتایج قبلی نشان دادند که ۱۴ بار تزریق UDCA سبب بهبود حافظه در اختلال حافظه ناشی از هیپوکسی (۳۷)، مدل آلزایمر (۳۸) و ایجاد اختلال در یادگیری بوسیله microcystin-leucine-arginin می گردد (۳۹). این اختلاف احتمالا ناشی از تفاوت در مدل های ایجاد اختلال در حافظه و یادگیری است. نتیجه مطالعه نشان داد که مصرف مزمن UDCA سبب کاهش استعداد ابتلا به کیندلینگ شیمیایی میشود اما مصرف کوتاه مدت آن تاثیری بر روند کیندل شدن نداشته ولی از اختلال حافظه ناشی از کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول جلوگیری می کند.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از شرکت از شرکت داروسازی لقمان که داروی UDCA را به صورت رایگان در اختیارمان قرار دادند تشکر و قدردانی می گردد.



نمودار ۵. مقایسه میانگین زمان حضور در یک چهارم هدف در آزمون پروب در ماز آبی موریس در دو گروه UDCA و Saline (۳ و ۱۵ بار تزریق) به دنبال ۱۳ تزریق PTZ (p=0.006)**

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل نشان داد در حالی که سه بار تزریق پیایی UDCA تاثیری در مهار روند کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول نداشت تزریق این دارو به مدت یک ماه باعث کاهش میانگین مرحله حمله، افزایش زمان رسیدن به مرحله پنج تشنج و همچنین سبب کوتاه تر شدن زمان مرحله پنج تشنج گردید. از طرف دیگر بررسی میزان حافظه و یادگیری موشها در ماز آبی موریس نشان دهنده آن بود که سه بار تزریق UDCA اثری بر روی حافظه کوتاه مدت نداشته اما حافظه رفرانس را به شکل معنی داری افزایش می دهد. تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از ۱۵ بار تزریق UDCA بر روی یادگیری نشان داد که اثر معنی داری بر روی حافظه و یادگیری ندارد. اولین نکته در مورد اثرات UDCA بر روی اختلالات مغزی امکان عبور آن از سد خونی مغز است.

تحقیقات نشان داده است که دوز ۵۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم UDCA و فرم کونژوگه آن (TUDCA) از اسیدهای صفراوی آندوژن می باشند که قادر به عبور از سد خونی مغزی هستند (۲۹ و ۳۰). همچنین Parry و همکاران نشان دادند که تجویز UDCA به شکل وابسته به دوز باعث افزایش سطح آن در خون و مایع مغزی نخاعی در بیماران می گردد (۳۰). همراستا با این نتایج تحقیقات ما نیز نشان داد که تزریق داخل صفاقی UDCA سبب مهار تشنج و بهبود حافظه در موشها می گردد که ناشی از عبور آن از سد خونی مغز است. همچنین نتایج ما نشان داد که زمان مرحله پنج تشنج در گروه سالیین (۱۵ تزریق) به شکل معنی داری بیشتر از سالیین (۳ تزریق) بود.

شاید این موضوع ناشی از اختلاف در تعداد تزریقات باشد. در حالیکه موشهای گروه اول سه تزریق سالیین دریافت کردند به موشهای گروه دوم ۱۵ بار تزریق سالیین انجام گرفت. بنابراین تزریقات بیشتر ممکن است از طریق ایجاد استرس بر روی تشنج اثر گذار باشد. همراستا با این نتایج، مطالعات قبلی نشان داده اند که استرس مزمن سبب افزایش تشنج در حیوانات می گردد (۳۱ و ۳۲). از دیگر یافته های این تحقیق این است که تزریق UDCA به مدت یک ماه سبب مهار روند

Effect of Ursodeoxycholic Acid on Pentylentetrazole Kindling and Kindling Induced Memory Impairment in Rat

M. Naderi (MD)¹, A. Jand (MD)², Y. Jand (MD)², T. Rahjoo (MSc)¹, M.R. Palizvan (PhD)^{*1}

1. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Science, Arak, I.R.Iran

2. Ischemic Disorders Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(1); Jan 2018; PP: 50-6

Received: Jul 1st 2017, Revised: Oct 22th 2017, Accepted: Nov 12th 2017

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Epilepsy is one of the common diseases of the brain that about 30-40% of patients with epilepsy experience recurrent attacks due to drug resistance. Recently, the beneficial effects of Ursodeoxycholic acid on brain disorders have been considered. The aim of this study was to evaluate the effect of Ursodeoxycholic acid (UDCA) on the Pentylentetrazole (PTZ) induced kindling, and related learning and memory impairments on Morris water maze.

METHODS: This experimental study was done on 32 male Wistar rats divided into 4 groups. The first (n=7) and the second (n=9) groups have received three injections of 0.5 ml NaCl or 50 mg/kg of UDCA respectively and third (n=7) and fourth (n=9) groups have received fifteen injections of 0.5 ml NaCl or 50 mg/kg of UDCA respectively. All injections were given intraperitoneally (ip) (every 48 hours). In all groups, chemical kindling were started after third injections. Twenty-four hour after the last injection, spatial memory was investigated in the Morris water maze.

FINDING: Fifteen injections of UDCA significantly reduced the seizure stage from 3.5 ± 0.17 to 3.08 ± 0.11 and duration of stages five from 12.37 ± 1.21 to 8.43 ± 1.09 and increased time to reach the stage five seizures from 1021.65 ± 72.07 to 1252.41 ± 49.63 as compared to control group. However, three injections of UDCA have no effect on the kindling process. However, three time administration of UDCA significantly increased reference memory from 18.72 ± 1.2 s to 26.11 ± 1.8 s.

CONCLUSION: Ursodeoxycholic acid inhibits chemical kindling and improves kindling induced memory impairment.

KEY WORDS: Epilepsy, Pentylentetrazole, Spatial learning, Ursodeoxycholic acid

Please cite this article as follows:

Naderi M, Jand A, Jand Y, Rahjoo T, Palizvan MR. Effect of Ursodeoxycholic Acid on Pentylentetrazole Kindling and Kindling Induced Memory Impairment in Rat. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(1):50-6.

*Corresponding author: M.R. Palizvan (PhD)

Address: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Science, Basij Square, Sardasht, Arak, I.R.Iran.

Tel: +98 86 34173502

E-mail: dr.palizvan@arakmu.ac.ir

References

1. Abou-Khalil B, Schmidt D. Antiepileptic drugs: advantages and disadvantages. *Handbook Clin Neurol*. 2012;108:723-39.
2. Baulac M, Pitkänen A. Research priorities in epilepsy for the next decade-A representative view of the European scientific community: Summary of the ILAE Epilepsy Research Workshop, Brussels, 17-18 January 2008. *Epilepsia*. 2009;50(3):571-8.
3. Fridley J, Thomas JG, Navarro JC, Yoshor D. Brain stimulation for the treatment of epilepsy. *Neurosurg Focus*. 2012;32(3):13.
4. Pitkanen A, Sutula TP. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. *Lancet Neurol*. 2002;1(3):173-81.
5. Thurman DJ, Beghi E, Begley CE, Berg AT, Buchhalter JR, Ding D, et al. Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52(7):26.
6. Henshall DC, Simon RP. Epilepsy and apoptosis pathways. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(12):1557-72.
7. Henshall DC, Clark RS, Adelson PD, Chen M, Watkins SC, Simon RP. Alterations in bcl-2 and caspase gene family protein expression in human temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 2000;55(2):250-7.
8. Gawlowicz M, Reichert M, Wojcierowski J, Czuczwar SJ, Borowicz KK. Apoptotic markers in various stages of amygdala kindled seizures in rats. *Pharmacological Rep*. 2006;58(4):512-8.
9. Pretel S, Applegate CD, Piekut D. Apoptotic and necrotic cell death following kindling induced seizures. *Acta Histochemica*. 1997;99(1):71-9.
10. Schindler CK, Shinoda S, Simon RP, Henshall DC. Subcellular distribution of Bcl-2 family proteins and 14-3-3 within the hippocampus during seizure-induced neuronal death in the rat. *Neurosci letters*. 2004;356(3):163-6.
11. Shinoda S, Araki T, Lan JQ, Schindler CK, Simon RP, Taki W, et al. Development of a model of seizure-induced hippocampal injury with features of programmed cell death in the BALB/c mouse. *J Neurosci Res*. 2004;76(1):121-8.
12. Kovacs R, Schuchmann S, Gabriel S, Kann O, Kardos J, Heinemann U. Free radical-mediated cell damage after experimental status epilepticus in hippocampal slice cultures. *J Neurophysiol*. 2002;88(6):2909-18.
13. Henshall DC, Skradski SL, Bonislowski DP, Lan JQ, Simon RP. Caspase-2 activation is redundant during seizure-induced neuronal death. *J Neurochem*. 2001;77(3):886-95.
14. Henshall DC, Skradski SL, Lan JQ, Ren T, Simon RP. Increased Bcl-w expression following focally evoked limbic seizures in the rat. *Neurosci lett*. 2001;305(3):153-6.
15. Cheng XL, Zhang JJ. Effect of edaravone on apoptosis of hippocampus neuron in seizures rats kindled by pentylentetrazole. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(6):769-74.
16. Rodrigues CM, Spellman SR, Sola S, Grande AW, Linehan-Stieers C, Low WC, et al. Neuroprotection by a bile acid in an acute stroke model in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002;22(4):463-71.
17. Rodrigues CM, Fan G, Ma X, Kren BT, Steer CJ. A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest*. 1998;101(12):2790-9.
18. Rodrigues CM, Stieers CL, Keene CD, Ma X, Kren BT, Low WC, et al. Tauroursodeoxycholic acid partially prevents apoptosis induced by 3-nitropropionic acid: evidence for a mitochondrial pathway independent of the permeability transition. *J Neurochem*. 2000 Dec;75(6):2368-79.
19. Azzaroli F, Mehal W, Soroka CJ, Wang L, Lee J, Crispe IN, et al. Ursodeoxycholic acid diminishes Fas-ligand-induced apoptosis in mouse hepatocytes. *Hepatol*. 2002;36(1):49-54.
20. Castro-Caldas M, Carvalho AN, Rodrigues E, Henderson CJ, Wolf CR, Rodrigues CM, et al. Tauroursodeoxycholic acid prevents MPTP-induced dopaminergic cell death in a mouse model of Parkinson's disease. *Molecul Neurobiol*. 2012;46(2):475-86.
21. Chun HS, Low WC. Ursodeoxycholic acid suppresses mitochondria-dependent programmed cell death induced by sodium nitroprusside in SH-SY5Y cells. *Toxicology*. 2012;292(2-3):105-12.

22. Mortiboys H, Aasly J, Bandmann O. Ursodeoxycholic acid rescues mitochondrial function in common forms of familial Parkinson's disease. *Brain*. 2013;136(10):3038-50.
23. Keene CD, Rodrigues CM, Eich T, Chhabra MS, Steer CJ, Low WC. Tauroursodeoxycholic acid, a bile acid, is neuroprotective in a transgenic animal model of Huntington's disease. *Proc Nat Acad Sci U S A*. 2002;99(16):10671-6.
24. Siegel AL, Bledsoe C, Lavin J, Gatti F, Berge J, Millman G, et al. Treatment with inhibitors of the NF-kappaB pathway improves whole body tension development in the mdx mouse. *Neur Dis*. 2009;19(2):131-9.
25. Carlson CG, Potter R, Yu V, Luo K, Lavin J, Nielsen C. In vivo treatment with the NF-kappaB inhibitor ursodeoxycholic acid (UDCA) improves tension development in the isolated mdx costal diaphragm. *Muscle Nerve*. 2016;53(3):431-7.
26. Abdelkader NF, Safar MM, Salem HA. Ursodeoxycholic Acid ameliorates apoptotic cascade in the rotenone model of parkinson's disease: modulation of mitochondrial perturbations. *Mol Neurobiol*. 2016;53(2):810-7.
27. Davoudi M, Shojaei A, Palizvan MR, Javan M, Mirnajafi-Zadeh J. Comparison between standard protocol and a novel window protocol for induction of pentylenetetrazol kindled seizures in the rat. *Epilepsy Res*. 2013;106(1-2):54-63.
28. Palizvan MR, Jand A, Jand Y, Taherinejad MR. A study on the effects of orally administered copper sulfate on learning and spatial memory of wistar rats. *J Babol Univ Med Sci*. 2016;18(1):31-36. [In Persian].
29. Keene CD, Rodrigues CM, Eich T, Linehan-Stieers C, Abt A, Kren BT, et al. A bile acid protects against motor and cognitive deficits and reduces striatal degeneration in the 3-nitropropionic acid model of Huntington's disease. *Exp Neurol*. 2001;171(2):351-60.
30. Parry GJ, Rodrigues CM, Aranha MM, Hilbert SJ, Davey C, Kelkar P, et al. Safety, tolerability, and cerebrospinal fluid penetration of ursodeoxycholic Acid in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neuropharmacol*. 2010;33(1):17-21.
31. MacKenzie G, Maguire J. Chronic stress shifts the GABA reversal potential in the hippocampus and increases seizure susceptibility. *Epilepsy Res*. 2015;109:13-27.
32. Haghhighizad H, Touhidi A, Pourmotabbed A, Moradpour F, Nedaei SE, Pourmotabbed T. Curcumin Improves Chronic Stress Induced Potentiated Seizure Activity in Experimental Model of Epilepsy. *J Neurol Sci*. 2017;34(1):76-85.
33. Bengzon J, Mohapel P, Ekdahl CT, Lindvall O. Neuronal apoptosis after brief and prolonged seizures. *Prog Brain Res*. 2002;135:111-9.
34. Meral I, Esrefoglu M, Dar KA, Ustunova S, Aydin MS, Demirtas M, et al. Effects of *Nigella sativa* on apoptosis and GABAA receptor density in cerebral cortical and hippocampal neurons in pentylenetetrazol induced kindling in rats. *Biotech Histochem*. 2016;91(8):493-500.
35. Keene CD, Rodrigues CM, Eich T, Chhabra MS, Steer CJ, Low WC. Tauroursodeoxycholic acid, a bile acid, is neuroprotective in a transgenic animal model of Huntington's disease. *Proc Nat Acad Sci*. 2002;99(16):10671-6.
36. Castro RE, Sola S, Ramalho RM, Steer CJ, Rodrigues CM. The bile acid tauroursodeoxycholic acid modulates phosphorylation and translocation of bad via phosphatidylinositol 3-kinase in glutamate-induced apoptosis of rat cortical neurons. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;311(2):845-52.
37. Xu LH, Xie H, Shi ZH, Du LD, Wing YK, Li AM, et al. Critical Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Chronic Intermittent Hypoxia-Induced Deficits in Synaptic Plasticity and Long-Term Memory. *Antioxid Redox Signal*. 2015;23(9):695-710.
38. Dionisio PA, Amaral JD, Ribeiro MF, Lo AC, D'Hooge R, Rodrigues CM. Amyloid-beta pathology is attenuated by tauroursodeoxycholic acid treatment in APP/PS1 mice after disease onset. *Neurobiol Aging*. 2015;36(1):228-40.
39. Cai F, Liu J, Li C, Wang J. Critical Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Cognitive Impairment Induced by Microcystin-LR. *Int J Mol Sci*. 2015;16(12):28077-86.