DOI: 10.48305/jims.v43.i821.0749

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و سوم/شماره‌ی ۸۲۱/هفته‌ی اول شهریور ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۳۰ تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸

پتانسیل درمانی آنتی‌اکسیدانی اسکتامین در مقابله با آسیب ایسکمی مغزی/ خون‌رسانی مجدد در موش صحرایی نر

سهیلا عرفانی[۱]، باقر امیرحیدری[۲،۳]، سیده مهدیه خوش نظر[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی یکی از عوامل مهم افزایش استرس اکسیداتیو در مغز است که منجر به آسیب سلولی و اختلال در عملکرد طبیعی می‌شود. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند با مکانیسم‌های آسیب‌زا مرتبط با ROS (Reactive Oxygen Species) مقابله کنند. این مطالعه اثر اسکتامین (S)-Ketamine را بر کاهش استرس اکسیداتیو و آسیب‌های ناشی از آن در مدل ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی در موش‌های صحرایی بررسی کرد.

روش‌ها: تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم به‌طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: شم، ایسکمی- سالین، ایسکمی- اسکتامین با دوز پایین و ایسکمی- اسکتامین با دوز بالا. ایسکمی با انسداد هر دو شریان کاروتید مشترک CCA (Common carotid arteries) به مدت ۲۰ دقیقه القا شد. اسکتامین بلافاصله پس از ایسکمی با دوزهای ۰/۱ و ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز SOD (Superoxide dismutase)، کاتالاز CAT (Catalase) و گلوتاتیون پراکسیداز GPx (Glutathione peroxidase) با روش الایزا و پراکسیداسیون لیپید با روش تیوباربیتوریک اسیدارزیابی شدند.

یافته‌ها: سطوحMDA ، بعنوان شاخص استرس اکسیداتیو در ناحیه CA1 هیپوکامپ در موش‌های ایسکمیک بالاتر بود، در حالی که در گروه‌های تحت درمان با اسکتامین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانیSOD، CAT و GPx به‌طور معنی‌داری افزایش یافته و سطوح MDA کاهش یافت که نشان‌دهنده‌ی افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن در این گروه‌ها بود.

نتیجه‌گیری: اسکتامین (S)-Ketamine با کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند نقش مهمی در کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی داشته باشد.

واژگان کلیدی: اسکتامین؛ آسیب ریپرفیوژن؛ استرس اکسیداتیو؛ آنتی‌اکسیدان

ارجاع: عرفانی سهیلا، امیرحیدری باقر، خوش نظر سیده مهدیه. **پتانسیل درمانی آنتی‌اکسیدانی اسکتامین در مقابله با آسیب ایسکمی مغزی/ خون‌رسانی مجدد در موش صحرایی نر.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۲۱): ۷۴۹- ۷۵۸.

مقدمه

آسیب ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی (Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury)، یکی از عوامل اصلی در بروز اختلالات عصبی و مرگ سلولی گسترده در بیماران مبتلا به سکته مغزی است (۱، ۲). این نوع آسیب زمانی رخ می‌دهد که جریان خون به مغز متوقف شده و سپس به طور ناگهانی بازگردانده می‌شود. اگرچه بازگشت جریان خون برای تأمین اکسیژن و مواد مغذی ضروری است، اما همین فرایند می‌تواند موجب تشدید آسیب‌های مغزی از طریق مکانیسم‌هایی مانند تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) ROS، التهاب، و مرگ سلولی آپوپتوزی و نکروزی شود. این عوامل می‌توانند عملکرد طبیعی نورون‌ها را مختل کرده و به بروز آسیب‌های دائمی عصبی منجر شوند (۳، ٤).

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲- مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، پژوهشکده علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

۳- گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

۴- استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

نویسنده‌ی مسؤول: سیده مهدیه خوش نظر: استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

Email: m.khoshnazar@kmu.ac.ir

یکی از پیامدهای عمده‌ی ایسکمی- ریپرفیوژن، استرس اکسیداتیو است که از عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغزی ناشی می‌شود (۵). فرایند استرس اکسیداتیو از عدم تعادل بین ترکیبات اکسیدان و آنتی‌اکسیدان به نفع تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد ناشی می‌شود (٦). این فرایند منجر به اکسیداسیون بیومولکول‌ها، از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شود. به عنوان مثال، اکسیداسیون لیپیدها موجب تشکیل مالون‌دی‌آلدئید MDA (Malondialdehyde)به‌عنوان یک نشانگر آسیب لیپیدی می‌شود، در حالی که اکسیداسیون پروتئین‌ها منجر به تغییرات ساختاری و عملکردی آنزیم‌ها می‌گردد. همچنین، آسیب به DNA می‌تواند جهش‌های ژنتیکی و اختلال در فرایندهای ترمیم DNA را در پی داشته باشد. در نتیجه، این آسیب‌ها موجب اختلال در عملکرد بیولوژیکی این بیومولکول‌ها و ایجاد عدم تعادل در عملکردهای هموستاتیک سلولی می‌شوند؛ این امر پتانسیل آسیب اکسیداتیو به سلول‌ها و بافت‌ها را ایجاد می‌کند (۷).

شرایط فیزیولوژیک، نتیجه‌ی تنفس سلولی منجر به تولید رادیکال‌های آزاد، مانند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن واکنش‌پذیر (RNS) می‌شود که توسط دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase) SOD و کاتالاز (Catalase) CAT متعادل می‌شوند (۸). با این حال، تولید مداوم ROS می‌تواند باعث آسیب سلولی از طریق غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب پروتئین‌ها و تغییر DNA شود (۹) که منجر به نکروز یا آپوپتوز بسته به شدت استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۰، ۱۱).

در سال‌های اخیر، توجه ویژه‌ای به استراتژی‌های درمانی مبتنی بر کاهش استرس اکسیداتیو به منظور پیشگیری یا کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن معطوف شده است. یکی از این رویکردها استفاده از داروهایی با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است. چندین مطالعه پیش‌بالینی و بالینی مشاهده کرده‌اند که کتامین، به عنوان یک آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA، دارای خواص ضدافسردگی است. کتامین با مهار بیش‌فعالیت گیرنده‌های NMDA در شرایط ایسکمی-ریپرفیوژن، می‌تواند به کاهش آسیب‌های ناشی از تحریک‌پذیری بیش از حد گلوتامات کمک کند. این مکانیسم از آسیب‌های مغزی مانند مرگ نورونی ناشی از سمیت تحریکی (excitotoxicity) جلوگیری می‌کند.

همچنین، کتامین از طریق تنظیم تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو، می‌تواند از آسیب به میتوکندری‌ها و عملکرد نورون‌ها در دوره‌های ایسکمی- ریپرفیوژن محافظت کند. این اثرات در مطالعات مختلف به عنوان عوامل کلیدی در کاهش آسیب مغزی در ایسکمی- ریپرفیوژن مورد تأیید قرار گرفته‌اند. کتامین در ابتدا به عنوان یک عامل بیهوشی استفاده می‌شد و دو ایزومر فعال نوری از کتامین وجود دارد: S (+) و R (-) که خواص دارویی متفاوتی دارند. ایزومر S (+) اثرات روان‌پریشی کمتری نسبت به ایزومر R (-) ایجاد می‌کند (۱۲). مکانیسم‌های اثر این دارو شامل تعدیل سطوح گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، و کاهش پاسخ‌های التهابی در بافت‌های آسیب‌دیده است (۱۳). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که اسکتامین (S)-Ketamine می‌تواند اثرات مثبتی در کاهش آسیب‌های نورونی ناشی از استرس اکسیداتیو داشته باشد (۱٤)، اما جزئیات دقیق این اثرات در مدل‌های ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است.

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات اسکتامین (S)-Ketamine بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در موش‌های صحرایی نر به دنبال ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی است. یافته‌های این پژوهش می‌تواند اطلاعات مفید و ارزشمندی را در زمینه استفاده از اسکتامین (S)-Ketamine به عنوان یک مداخله درمانی برای کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن و بهبود نتایج بالینی ارائه دهد.

روش‌ها

حیوانات و گروه‌های آزمایشی: در این مطالعه، تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد نگهداری شامل دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵±۵ درصد و چرخه‌ی روشنایی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند. دسترسی به آب و غذا به صورت آزاد برای تمامی حیوانات فراهم بود. حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه هفت‌تایی تقسیم شدند: گروه شم (حیوانات این گروه تحت جراحی بدون القای ایسکمی قرار گرفتند)، گروه ایسکمی- سالین (در این گروه، ایسکمی مغزی القا شد و حیوانات سالین دریافت کردند)، گروه ایسکمی- اسکتامین با دوز پایین (در این گروه ایسکمی القا شد و اسکتامین (S)-Ketamine با دوز ۰/۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد) و گروه ایسکمی- اسکتامین با دوز بالا (در این گروه، ایسکمی القا شد و اسکتامین (S)-Ketamine با دوز ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد). در ابتدای خونرسانی مجدد، اسکتامین (S)-Ketamine با دوزهای ۰/۱ و ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به هر حیوان به صورت داخل صفاقی تزریق شد. اثرات دارو بر فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT و GPx به‌عنوان شاخص‌های کاهش

استرس اکسیداتیو بررسی شدند. این فعالیت‌ها با استفاده از نمونه‌برداری از هیپوکامپ ناحیه CA1 موش‌ها و اندازه‌گیری آنزیمی با کیت‌های اختصاصی پس از دوره مشخص ارزیابی شدند. علاوه بر این، معیارهای رفتاری و وضعیت فیزیولوژیک حیوانات برای بررسی اثرات سیستمیک دارو به‌طور منظم پایش شدند.

روش القای ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی: ایجاد مدل ایسکمی- ریپرفیوژن بر اساس روش جراحی بستن موقتی شریان‌های کاروتید مشترک انجام گردید (۱۵، ۱۶). در مطالعه‌ی حاضر، تمام مراحل مرتبط با کشتن حیوانات و نمونه‌برداری بافتی بر اساس راهنمای اخلاقی بین‌المللی برای استفاده از حیولنات در تحقیقات آزمایشگاهی و کمیته‌ی اخلاق حیوانات پژوهشی انجام شده است. بی‌هوشی حیوانات با سدیم پنتوباربیتال (۵۰ mg/ kg) به صورت داخل صفاقی انجام شد؛ سپس تحت عمل جراحی ایسکمی مغزی قرار گرفتند که به‌طور موثر شرایط بی‌دردی و بی‌هوشی عمیق را برای جراحی ایسکمی مغزی فراهم کرد. در ابتدا شریان های کاروتید مشترک دو طرفه مشاهده شده و با دقت از اعصاب واگ جدا می‌شوند. انسداد شریان‌های کاروتید مشترک توسط گیره‌های جراحی به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. در پایان جراحی، گیره‌ها برای ایجاد ریپرفیوژن (خونرسانی مجدد) برداشته شدند. بازگشت جریان خون با مشاهده تأیید گردید. در طول جراحی، دمای رکتوم حیوانات در ۰/۵ ± ۳۶/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد با استفاده از سامانه‌ی گرمایش بازخوردی تنظیم شد. پس از جراحی، حیوانات در قفس‌های خود با دسترسی آزاد به غذا و آب به مدت ٤ روز جداگانه نگهداری شدند. پس از تأیید بی‌هوشی کامل و مرگ حیوانات، بافت مورد نظر (هیپوکامپ) تحت شرایط استریل و با استفاده از ابزارهای جراحی استریل استخراج شد. بافت به‌سرعت در دمای پایین ذخیره شدند (مانند نیتروژن مایع یا فریزر -۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) در محلول‌های مناسب تثبیت‌کننده (مانند فرمالین) قرار گرفتند.

در مطالعه‌ی حاضر، بررسی‌های ما به‌طور خاص بر روی ناحیه CA1 هیپوکامپ متمرکز بود. این ناحیه به دلیل حساسیت بالای خود نسبت به آسیب‌های ایسکمی انتخاب شده است.

در این مطالعه همچنین، بافت ناحیه CA1 به‌صورت جداگانه استخراج و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی SOD، CAT و GPx و میزان استرس اکسیداتیو با استفاده از کیت‌های استاندارد تجاری تحلیل شد.

تمام مراحل انجام شده با رعایت اصول اخلاقی، بهداشتی و ایمنی بوده و تأییدیه کتبی از کمیته‌ی اخلاقی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه دریافت شده است. این زمان‌بندی با هدف کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از ایسکمی و همچنین فراهم آوردن خواص ضددردی و نوروپروتکتیو دارو طراحی شد.

پس از جراحی، حیوانات به دقت تحت نظارت قرار گرفتند و هرگونه نشانه‌ای از درد یا ناراحتی ارزیابی شد. در صورت نیاز، تسکین درد با داروهای مناسب انجام شد.

برای پیشگیری از عفونت، تمام مراحل جراحی تحت شرایط استریل انجام شد. ابزار جراحی و محیط کار به‌طور کامل استریل شده و از محلول‌های ضدعفونی‌کننده‌ی مناسب استفاده گردید. علاوه بر این، وضعیت حیوانات پس از جراحی به‌طور منظم بررسی شد و هرگونه نشانه‌ای از عفونت ثبت و اقدامات لازم انجام شد.

اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید

برای تعیین محصولات پراکسیداسیون لیپید، سطح مالون دی‌آلدئید (MDA) در نمونه‌های هیپوکامپ با استفاده از کیت سنجش MDA (شرکت ZellBio GmbH، آلمان) ارزیابی شد. بافت‌های جمع‌آوری‌شده در ۱/۱۵ درصد KCl یخ‌زده به مدت دو دقیقه هموژن شدند. علاوه بر این، سطح MDA بر اساس روش تشکیل مواد واکنش‌پذیر با اسید تیوباربیتوریک (TBARS) اندازه‌گیری شد. ۱۰ درصد اسید تری‌کلرو استیک سرد (۱ میلی‌لیتر) و ۱۰ درصد اسید تیوباربیتوریک (۲ میلی‌لیتر) با بافت‌های هموژن شده مخلوط شده و به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد حرارت داده شدند. پس از خنک شدن محلول به دمای اتاق و سانتریفیوژ کردن، رسوب جدا شده و سرم صورتی به میکروپلیت منتقل شد. اندازه‌گیری جذب مخلوط واکنشی در طول موج ۵۳۵ نانومتر توسط خوانشگرهای میکروپلیت (ELx800، BioTek، ایالات متحده) انجام شد. در نهایت، غلظت MDA (µM) بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد (۱۷).

لندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: برای بررسی اثرات ایسکمی- ریپرفیوژن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، حیوانات پس از القای ایسکمی بی‌هوش شده و مغز آن‌ها به دقت استخراج گردید. در ادامه، هیپوکامپ ناحیه CA1 به سرعت جدا شده و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای مراحل بعدی آزمایش نگهداری شد. جهت ارزیابی سطوح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بافت هیپوکامپ در محلول بافر فسفات (pH 7.4) هموژنیزه گردید و سپس مخلوط هموژن شده با سانتریفیوژ در دمای پایین جداسازی شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های SOD و CAT: فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) به کمک کیت‌های تجاری شرکت ZellBio GmbH(آلمان) و به روش الایزا سنجیده شد. این کیت‌ها برای دقت و حساسیت بالا در مطالعات زیستی انتخاب گردیده‌اند.

اندازه‌گیری آنزیم GP: برای ارزیابی فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، از کیت‌های تجاری شرکت Cayman Chemical (آمریکا) استفاده شد. تمام مراحل آزمایش، شامل تهیه‌ی نمونه‌ها، افزودن واکنش‌دهنده‌ها و قرائت نهایی، طبق دستورالعمل‌های سازندگان کیت انجام شد (۱۸).

از آزمون Kolmogorov-Smirnov به عنوان آزمون نرمال بودن استفاده شد، که این آزمون نشان داد، داده‌ها به طور نرمال توزیع شده‌اند. علاوه بر این، آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) برای مقایسه‌ی اختلافات بین گروه‌ها استفاده شد و هنگامی که تفاوت معنی‌داری وجود داشت، یک آزمون تعقیبی (شفه یا دانت تی-۳) برای تعیین محل اینکه تفاوت در کدام گروه‌ها رخ داده است، استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ≥ P تعیین شد. تمام داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

این پژوهش پس از تأییدیه اخلاقی از کمیته‌ی اخلاق در پژوهش دانشگاه (IR.KMU.AEC.1401.013) انجام شد. یکی از محدودیت‌های مطالعه‌ی ما تعداد نسبتاً کم نمونه‌ها بود که ممکن است قدرت آماری یافته‌ها را تحت تأثیر قرار داده باشد. مطالعات آینده با حجم نمونه بالاتر برای تأیید نتایج ضروری است. اگرچه تلاش شد تمامی آزمایش‌ها تحت شرایط استاندارد انجام شود، اما تفاوت‌های جزئی در شرایط محیطی ممکن است بر نتایج تأثیر گذاشته باشد. انتخاب دوزهای اسکتامین بر اساس مطالعات پیشین و نتایج پیش‌آزمایش‌ها صورت گرفت. با این‌حال، ممکن است دوزهای متفاوت یا فواصل زمانی تزریق نتایج متفاوتی به همراه داشته باشند که نیازمند بررسی بیشتر هستند.

یافته‌ها

در این مطالعه، اثرات اسکتامین (S)-Ketamine بر کاهش استرس اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مدل ایسکمی-ریپرفیوژن مغزی در موش صحرایی نر بررسی شد. نتایج به دست آمده از آزمایش‌ها نشان داد که ایسکمی- ریپرفیوژن باعث افزایش سطوح MDA، بعنوان شاخص استرس اکسیداتیو در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مغز موش‌ها شد. درمان با اسکتامین به‌طور قابل توجهی سطوح استرس اکسیداتیو را کاهش داده و موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در هیپوکامپ شد. این نتایج نشان‌دهنده‌ی اثرات محافظتی اسکتامین (S)-Ketamine در کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن و بهبود مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی مغز است.

اثرات تزریق اسکتامین (S)-Ketamine بر سطوح مالون دی‌آلدئید ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن:

در این مطالعه، اثر داروی اسکتامین (S)-Ketamine بر سطح مالون دی‌آلدئید (MDA) بعد از ایسکمی ریپرفیوژن مغزی بررسی شد. نتایج نشان داد که سطح MDA در گروه کنترل بالاتر از گروه شم بود (P < ۰/۰۰۱). پس از تجویز اسکتامین با دوز پایین (۰/۱) و دوز بالا (۰/۲۵ میلی‌گرم) به موش‌های صحرایی که تحت ایسکمی مغزی قرار گرفته بودند، سطح MDA به طور معنی‌داری کاهش یافت (P > ۰/۰۰۱، ۶/۷۸ = (۳/۲۴) F) و (P > ۰/۰۰۱، ۱۵/۲۴ = (۳/۲۴) F).

این یافته‌ها نشان‌دهنده‌ی اثر حفاظتی اسکتامین (S)-Ketamine در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی مغزی و بهبود وضعیت نرمال در بافت‌های مغزی بود. این مطالعه به وضوح نشان می‌دهد که اسکتامین (S)-Ketamine می‌تواند به عنوان یک گزینه‌ی درمانی مؤثر در مدیریت آسیب‌های ناشی از ایسکمی مغزی و کاهش محصولات پراکسیداسیون لیپید مورد استفاده قرار گیرد (شکل 1A).

اثرات تزریق اسکتامین (S)-Ketamine بر سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن:

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های آزمایشی:

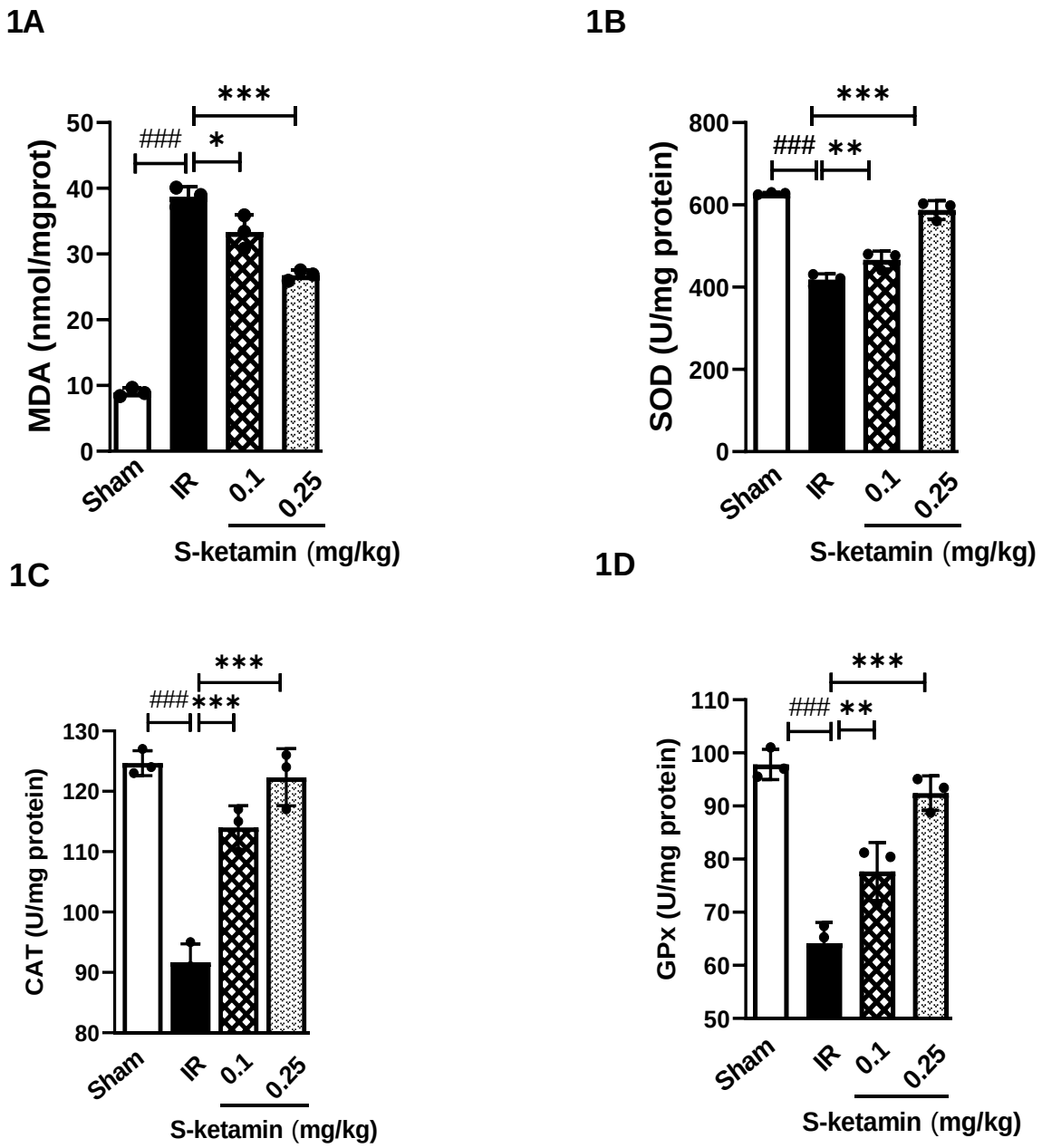
گروه شم: در گروه شم، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، و کاتالاز (CAT) در سطح طبیعی باقی ملند. این نتایج نشان‌دهنده عملکرد طبیعی سیستم آنتی‌اکسیدانی در شرایط بدون القای ایسکمی-ریپرفیوژن بود.

گروه ایسکمی- سالین: در گروه ایسکمی- سالین، القای ایسکمی- ریپرفیوژن به کاهش معنادار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر شد (P < ۰/۰۰۱). این کاهش به‌ویژه در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ که به عنوان یکی از مناطق حساس به استرس اکسیداتیو و آسیب ایسکمی- ریپرفیوژن شناخته می‌شود، برجسته‌تر بود. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده‌ی افزایش استرس اکسیداتیو، تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب به ساختار و عملکرد سلول‌های عصبی است.

گروه‌های درمانی (ایسکمی- اسکتامین با دوز پایین و دوز بالا): در گروه‌های درمانی که اسکتامین (S)-Ketamine به عنوان مداخله درمانی پس از القای ایسکمی- ریپرفیوژن استفاده شد، اثرات حفاظتی آن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشهود بود.

دوز پایین اسکتامین (S)-Ketamine: درمان با دوز پایین اسکتامین توانست فعالیت آنزیم‌های SOD (P < ۰/۰۵، ۵/۲۳ = (۳/۲۴) F)، GPx (P < ۰/۰۵، ۴/۶۵ = (۳/۲۴) F) و CAT (P < ۰/۰۵، ۴/۸۵ = (۳/۲۴) F) را نسبت به گروه ایسکمی- سالین بهبود بخشد. هرچند این بهبود در مقایسه با دوز بالا کمتر چشمگیر بود، اما همچنان نشان‌دهنده‌ی کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود نسبی مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در هیپوکامپ بود.

دوز بالا اسکتامین (S)-Ketamine: درمان با دوز بالای اسکتامین (S)-Ketamine به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های SOD (P < ۰/۰۰۱، ۱۳/۵۸ = (۳/۲۴) F)، GPx (P < ۰/۰۰۱، ۱۱/۹۲ = (۳/۲۴) F) و



شکل ۱. اثر اسکتامین (S)-Ketamine بر شاخص استرس اکسیداتیو (MDA) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، GPx، CAT در موش‌های صحرایی تحت ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی.

(1A) سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو، در گروه ایسکمی- سالین به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شم بود (P < ۰/۰۰۱). درمان با اسکتامین در دوز پایین (۰/۱ میلی‌گرم) باعث کاهش معنی‌دار سطح MDA شد (P < ۰/۰۱) و دوز بالای اسکتامین (۰/۲۵ میلی‌گرم) این کاهش را به‌طور چشمگیری تشدید کرد (P < ۰/۰۰۱).

(1B) فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، (1C) گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و (1D) کاتالاز (CAT) در گروه ایسکمی- سالین نسبت به گروه شم کاهش قابل توجهی نشان دادند (P < ۰/۰۰۱). درمان با دوز پایین اسکتامین منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت هر سه آنزیم شد (SOD، GPx و CAT) (P < ۰/۰۵)؛ در حالی که دوز بالای اسکتامین افزایش بیشتری در فعالیت این آنزیم‌ها ایجاد کرد (SOD، GPx و CAT) (P < ۰/۰۰۱). این نتایج نشان‌دهنده‌ی تأثیر دوز وابسته اسکتامین در کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در هیپوکامپ موش‌ها است.

CAT ($P < ۰/۰۰۱$، $F (۳/۲٤) = ۱۲/۱٤$) را افزایش داد. این افزایش به‌ویژه در ناحیه‌ی هیپوکامپ قابل توجه بود، که نشان‌دهنده‌ی اثربخشی بالاتر این دوز در مهار آسیب اکسیداتیو و ارتقای توانایی سیستم آنتی‌اکسیدانی بافت مغزی برای مقابله با اثرات زیان‌آور ایسکمی- ریپرفیوژن است.

تفاوت معنی‌دار میان گروه ایسکمی سالین و گروه‌های درمانی با اسکتامین (S)-Ketamine نشان می‌دهد که این دارو می‌تولند با تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، از پیشرفت آسیب اکسیداتیو جلوگیری کند. نتایج این مطالعه تأیید می‌کند که دوز بالاتر اسکتامین (S)-Ketamine اثرات محافظتی بیشتری دارد و می‌تواند به عنوان رویکردی مؤثر در درمان آسیب‌های ایسکمی-ریپرفیوژن مغزی مورد توجه قرار گیرد (شکل 1B, 1C, 1D).

بحث

استرس اکسیداتیو و ایسکمی- ریپرفیوژن

استرس اکسیداتیو و ایسکمی- ریپرفیوژن از عوامل اصلی آسیب‌رسان به بافت مغز در بسیاری از اختلالات نورولوژیک هستند. این فرایندها نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی سکته مغزی، آسیب‌های تروماتیک مغزی و سایر بیماری‌های عصبی ایفا می‌کنند (۱۹). در شرایط ایسکمی، کمبود اکسیژن و گلوکز منجر به اختلال در متابولیسم سلولی و تولید ATP می‌شود. این امر باعث فعال شدن مسیرهای آبشاری می‌شود که منجر به تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌گردد. با برقراری مجدد جریان خون در مرحله‌ی ریپرفیوژن، افزایش ناگهانی اکسیژن باعث تشدید تولید ROS می‌شود که این امر استرس اکسیداتیو را به شدت افزایش می‌دهد (۲۰). مطالعات نشان داده‌اند که حتی دوره‌های کوتاه ایسکمی- ریپرفیوژن می‌توانند منجر به آسیب‌های جدی و غیرقابل برگشت در بافت مغز شوند. به عنوان مثال، تحقیقات نشان داده‌اند که ایسکمی به مدت ۲۰ دقیقه می‌تواند باعث مرگ گسترده نورون‌ها در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ شود که این امر تأثیر قابل توجهی بر حافظه و یادگیری دارد (۲۱).

ROS تولید شده در این شرایط به ساختارهای مختلف سلولی از جمله غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA آسیب می‌رسانند (۲۰). پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای سلولی منجر به اختلال در عملکرد غشا و نفوذپذیری آن می‌شود. آسیب به DNA می‌تواند منجر به جهش‌های ژنتیکی و اختلال در بیان ژن‌ها شود. اکسیداسیون پروتئین‌ها نیز می‌تولند عملکرد آنزیم‌ها و پروتئین‌های ساختاری را مختل کند (۲۰).

علاوه بر این، استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث فعال شدن مسیرهای آپوپتوز و نکروز شود که منجر به مرگ سلولی می‌گردد. در کنار اثرات مستقیم ROS، التهاب نیز نقش مهمی در تشدید آسیب‌های ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن دارد. تجمع سلول‌های التهابی مانند نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها در ناحیه آسیب دیده منجر به تولید سایتوکین‌های التهابی و ROS بیشتر می‌شود که این امر چرخه معیوب آسیب بافتی را تشدید می‌کند (۲۲). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و عوامل ضدالتهابی می‌تواند در کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن مؤثر باشد. به عنوان مثال، استفاده از ویتامین E، کوآنزیم Q10 و مهارکننده‌های NF-κB در مدل‌های حیوانی نتایج امیدوارکننده‌ای نشان داده است (۲۳). با این حال، انتقال این یافته‌ها به کاربردهای بالینی هنوز با چالش‌هایی روبرو است و نیاز به تحقیقات بیشتر دارد. درک عمیق‌تر مکانیسم‌های مولکولی دخیل در استرس اکسیداتیو و آسیب ایسکمی- ریپرفیوژن می‌تواند به توسعه راهکارهای درمانی مؤثرتر و هدفمندتر برای بیماری‌های عروقی مغز و سایر اختلالات نورولوژیک کمک کند. این امر می‌تواند منجر به بهبود پیش‌آگهی و کیفیت زندگی بیماران مبتلا به این اختلالات شود.

نقش اسکتامین در کاهش استرس اکسیداتیو و مکانیسم مولکولی اسکتامین (S)-Ketamine

در این مطالعه، تأثیر اسکتامین بر کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مدل ایسکمی- ریپرفیوژن مغزی بررسی شد. نتایج نشان داد که اسکتامین، به‌ویژه در دوزهای بالا، موجب کاهش معنی‌داری در سطح استرس اکسیداتیو و بهبود فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در بافت مغزی شده است. این نتایج تأییدکننده‌ی اثرات محافظتی اسکتامین (S)-Ketamine در مقابله با آسیب‌های ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن و استرس اکسیداتیو است.

در این راستا، مکانیسم‌های مختلفی پیشنهاد شده‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که اسکتامین (S)-Ketamine با فعال‌سازی مسیر Nrf2، که فاکتور ترانسکریپشن مهمی در پاسخ به استرس اکسیداتیو است، می‌تواند بیان ژن‌های محافظتی و آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد (۲٤). این فعال‌سازی منجر به کاهش التهاب و آسیب سلولی در مغز می‌شود (۲۱).

همچنین، اسکتامین (S)-Ketamine با فعال‌سازی مسیر AMPK/mTOR و افزایش فعالیت TFEB، که فاکتور ترانسکریپشن کلیدی در فرایند اتوفاژی است، موجب کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب در مغز شده و حفاظت از نورون‌ها را تسهیل می‌کند (۲۵).

ایسکمی مغزی با کاهش جریان خون و اکسیژن‌رسانی به سلول‌های مغزی همراه است که منجر به تغییرات متابولیسم سلولی و تولید مقادیر بالای ROS می‌شود. در حین ریپرفیوژن، گونه‌های فعال اکسیژن به‌طور عمده از طریق فعالیت آنزیم‌هایی نظیر

NADPH Oxidase و Xanthine oxidase تولید می‌شوند و آسیب‌های شدیدی به سلول‌ها وارد می‌کنند (۲۶). در این میان، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD، GPx و CAT نقش حیاتی در کنترل سطوح ROS و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو دارند.

در مدل‌های ایسکمی- ریپرفیوژن، کاهش فعالیت این آنزیم‌ها و افزایش تولید ROS موجب تشدید آسیب‌های نورولوژیکی می‌شود (۲۷). به علاوه، بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو با کاهش سطوح گلوتاتیون مرتبط هستند. کاهش دسترسی زیستی گلوتاتیون می‌تواند توانایی سلول‌ها در مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو را کاهش دهد. شواهدی نشان داده‌اند که افزایش پراکسیداسیون لیپید و اکسیداسیون پروتئین با کاهش محتوای سولفیدریل در نواحی مختلف مغز پس از تجویز کتامین رخ می‌دهد (۲۸).

در مطالعه‌ی حاضر، تجویز اسکتامین (S)-Ketamine موجب کاهش معنادار سطوح استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. همچنین، نتایج یک مطالعه نشان داد که اسکتامین (S)-Ketamine با فعال‌سازی مسیر HIF-1α/HO-1، سطح HO-1 را افزایش داده و این امر منجر به کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت‌ها می‌شود. این مکانیسم‌ها نشان می‌دهند که اسکتامین می‌تواند سطح آنتی‌اکسیدان‌ها را بهبود بخشد و از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت کند (۲۹).

مقایسه با مطالعات قبلی و تأیید یافته‌ها

نتایج تحقیقات دیگر روی مدل‌های حیوانی و سلولی نیز هم‌راستا با یافته‌های ما بوده است. در یک مطالعه، سلول‌های HepG2 و SH-SY5Y تحت تأثیر دوزهای مختلف کتامین قرار گرفتند و نتایج نشان داد که کتامین، می‌تولند زنده‌مانی سلول‌ها را افزایش دهد، آسیب DNA را کاهش دهد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تقویت کند (۳۰). داده‌های ما نشان داد که اسکتامین با کاهش سطوح MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT تولنایی مغز را در مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو بهبود بخشید.

داده‌های ما نشان داد که یک تزریق واحد از اسکتامین (S)-Ketamine توانست کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT ناشی از ایسکمی در هیپوکامپ موش‌های بالغ را معکوس کند. SOD مسئول واکنشی است که منجر به تشکیل پراکسید هیدروژن (H2O2) می‌شود. H2O2 زیرلایه‌ای برای CAT است که H2O2 را به اکسیژن و آب تبدیل می کند. علاوه بر این، H2O2 به عنوان یک ROS محسوب می‌شود؛ بنابراین تولید و افزایش ROS ممکن است منجر به آسیب اکسیداتیو لیپیدی و پروتئینی شود (۳۱). مطالعات قبلی همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی کتامین را نشان داده‌اند (۳۲). بنابراین، داده‌های ما شواهدی ارائه داد که نشان می‌دهند کتامین با افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT می‌تواند رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد و در نتیجه آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی را کاهش دهد.

نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه‌ی حاضر نشان‌دهنده‌ی اثرات وابسته به دوز اسکتامین (S)-Ketamine بود. در گروه‌هایی که دوز بالای اسکتامین (S)-Ketamine دریافت کردند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و سطوح استرس اکسیداتیو کاهش پیدا کرد. این نتایج با مطالعات قبلی که نشان داده‌اند دوزهای بالاتر اسکتامین (S)-Ketamine تأثیرات حفاظتی بیشتری دارند، مطابقت دارد. دوزهای پایین‌تر نیز اثرات مثبتی داشتند، اما این اثرات نسبت به دوزهای بالاتر ضعیف‌تر بودند.

علاوه بر این، مطالعات مشابه در سایر مدل‌های ایسکمی نشان داده‌اند که داروهایی با اثرات ضدالتهابی و تنظیم‌کننده مسیرهای آپوپتوتیک و نکروتیک، می‌توانند نقش مهمی در کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن داشته باشند. نتایج مطالعه‌ی ما با شواهد پیشین در مورد اثرات محافظتی اسکتامین بر سیستم عصبی همخوانی داشت و به درک عمیق‌تر از مکانیسم‌های اثرگذاری این دارو در شرایط ایسکمی مغزی کمک می‌کند.

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که ایسکمی مغزی، منجر به افزایش مرگ سلولی نکروزیس و استرس اکسیداتیو می‌شود و درمان با اسکتامین (S)-Ketamine می‌تواند به‌صورت وابسته به دوز، این آسیب‌ها را کاهش دهد. بهبود شاخص‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو در گروه‌های درمانی، اهمیت نقش اسکتامین در تعدیل پاسخ‌های آسیب‌شناختی ایسکمی- ریپرفیوژن را برجسته می‌کند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که اسکتامین می‌تواند از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، و بهبود تعادل اکسیداتیو- آنتی‌اکسیدانی، در کاهش آسیب‌های ایسکمیک مؤثر باشد. با توجه به پتانسیل درمانی اسکتامین (S)-Ketamine، تحقیقات بیشتری برای بررسی مکانیسم‌های دقیق اثرگذاری آن و کاربرد بالینی در شرایط بیماری‌های مرتبط با ایسکمی و استرس اکسیداتیو پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه ماحصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمان با کد Reg. No. 401000278 است. بدین‌وسیله از تمامی افرادی که در این مطالعه همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Zhang M, Liu Q, Meng H, Duan H, Liu X, Wu J, et al. Ischemia-reperfusion injury: molecular mechanisms and therapeutic targets. Signal Transduct Target Ther 2024; 9(1): 12.
2. Khoshnazar M, Parvardeh S, Bigdeli MR. Alpha-pinene exerts neuroprotective effects via anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms in a rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion. J Stroke Cerebrovasc Dis 2020; 29(8): 104977.
3. Yang Y, Li Z, Fan X, Jiang C, Wang J, Rastegar-Kashkooli Y, et al. Nanozymes: potential therapies for reactive oxygen species overproduction and inflammation in ischemic stroke and traumatic brain injury. ACS Nano 2024; 18(26): 16450-67.
4. Khoshnazar M, Bigdeli MR, Parvardeh S, Pouriran R. Attenuating effect of α-pinene on neurobehavioural deficit, oxidative damage and inflammatory response following focal ischaemic stroke in rat. J Pharm Pharmacol 2019; 71(11): 1725-33.
5. Orellana-Urzúa S, Briones-Valdivieso C, Chichiarelli S, Saso L, Rodrigo R. Potential role of natural antioxidants in countering reperfusion injury in acute myocardial infarction and ischemic stroke. Antioxidants (Basel) 2023; 12(9): 1760.
6. Hassan HA, Ahmed HS, Hassan DF. Free radicals and oxidative stress: mechanisms and therapeutic targets. Hum Antibodies 2024; 32(4): 151-67.
7. Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, et al. Oxidative stress in human pathology and aging: molecular mechanisms and perspectives. Cells 2022; 11(3): 552.
8. Jomova K, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities and low-molecular-weight antioxidants. Arch Toxicol 2024; 98(5): 1323-67.
9. An X, Yu W, Liu J, Tang D, Yang L, Chen X. Oxidative cell death in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities. Cell Death Dis 2024; 15(8): 556.
10. Behl T, Makkar R, Sehgal A, Singh S, Sharma N, Zengin G, et al. Current trends in neurodegeneration: cross talks between oxidative stress, cell death and inflammation. Int J Mol Sci 2021; 22(14): 7432.
11. Shabani M, Erfani S, Abdolmaleki A, Afzali FE, Khoshnazar SM. Alpha-pinene modulates inflammatory response and protects against brain ischemia via inducible nitric oxide synthase-nuclear factor–kappa B-cyclooxygenase-2 pathway. Mol Biol Rep 2023; 50(8): 6505-16.
12. Trimmel H, Helbok R, Staudinger T, Jaksch W, Messerer B, Schöchl H, et al. S (+)-ketamine: current trends in emergency and intensive care medicine. Wien Klin Wochenschr 2018; 130(9-10): 356-66.
13. Xu W, Wang P, Wang D, Liu K, Zhang S, Zhao W, et al. S-ketamine alleviates carbon tetrachloride-induced hepatic injury and oxidative stress by targeting the Nrf2/HO-1 signaling pathway. Can J Physiol Pharmacol 2021; 99(12): 1308-15.
14. Liu FF, Zhao S, Liu P, Huo SP. Influence of mTOR signaling pathway on ketamine-induced injuries in the hippocampal neurons of rats. Neurol Res 2019; 41(1): 77-86.
15. Khoshnazar M, Parvardeh S, Bigdeli MR. Alpha-pinene exerts neuroprotective effects via anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms in a rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion. J Stroke Cerebrovasc Dis 2020; 29(8): 104977.
16. Khoshnazar M, Bigdeli MR, Parvardeh S, Pouriran R. Attenuating effect of α-pinene on neurobehavioural deficit, oxidative damage and inflammatory response following focal ischaemic stroke in rat. J Pharm Pharmacol 2019; 71(11): 1725-33.
17. Khoshnazar SM, Kazemi M, Amirheidari B. Neuroprotective effects of γ-terpinene in rats with acute cerebral ischemia: modulation of inflammation, apoptosis, and oxidation. Neurochem Res 2024; 49(7): 1863-78.
18. Erfani S, Moghimi A, Aboutaleb N, Khaksari M. Protective effects of Nesfatin-1 peptide on cerebral ischemia reperfusion injury via inhibition of neuronal cell death and enhancement of antioxidant defenses. Metab Brain Dis 2019; 34: 79-85.
19. Houldsworth A. Role of oxidative stress in neurodegenerative disorders: a review of reactive oxygen species and prevention by antioxidants. Brain Commun 2024; 6(1): fcad356.
20. Jurcau A, Ardelean AI. Oxidative stress in ischemia/reperfusion injuries following acute ischemic stroke. Biomedicines 2022; 10(3): 574.
21. Pourheydar B, Shahi M, Farjah GH, Javanmard M, Karimipour M, Atabaki F. Evaluation of apoptosis in hippocampal cells of rat following intravenous injection of bone marrow stromal cells in ischemia-reperfusion model [in persian]. Studies in Medical Sciences 2014; 25(7): 586-97.
22. Wu L, Xiong X, Wu X, Ye Y, Jian Z, Zhi Z, et al. Targeting oxidative stress and inflammation to prevent ischemia-reperfusion injury. Front Mol Neurosci 2020;13: 28.
23. Soares ROS, Losada DM, Jordani MC, Évora P, Castro-e-Silva O. Ischemia/reperfusion injury revisited: an overview of the latest pharmacological strategies. Int J Mol Sci 2019; 20(20): 5034.
24. Yu X, Zhang H, Gan J. Low-dose sketamine promotes brain protection via the ERK/Nrf2 pathway in vascular dementia rats. 2023. Available from: https://assets-eu.researchsquare.com/files/rs-3599975/v1/8069c0f1-9c47-4034-be42-831d4155c241.pdf?c=1703152360
25. Tang Y, Liu Y, Zhou H, Lu H, Zhang Y, Hua J, et al. Esketamine is neuroprotective against traumatic brain injury through its modulation of autophagy and oxidative stress via AMPK/mTOR-dependent TFEB nuclear translocation. Exp Neurol 2023; 366: 114436.
26. Erfani S, Valadbeigi T, Aboutaleb N, Karimi N, Moghimi A, Khaksari M. Usnic acid improves memory impairment after cerebral ischemia/reperfusion injuries by anti-neuroinflammatory, anti-oxidant, and anti-apoptotic properties. Iran J Basic Med Sci 2020; 23(9): 1225-31.

27. Aboutaleb N, Shamsaei N, Khaksari M, Erfani S, Rajabi H, Nikbakht F. Pre-ischemic exercise reduces apoptosis in hippocampal CA3 cells after cerebral ischemia by modulation of the Bax/Bcl-2 proteins ratio and prevention of caspase-3 activation. J Physiol Sci 2015; 65(5): 435-43.

28. Abdel-Salam OM, Youness ER, Mohammed NA, Omara EA, Sleem AA. Effect of ketamine on oxidative stress following lipopolysaccharide administration. Comp Clin Pathol 2015; 24 :53-63.

29. Shi J, Song S, Wang Y, Wu K, Liang G, Wang A, et al. Esketamine alleviates ferroptosis-mediated acute lung injury by modulating the HIF-1α/HO-1 pathway. Int Immunopharmacol 2024; 142(Pt A): 113065.

30. Jurič A, Tariba Lovaković B, Zandona A, Rašić D, Češi M, Pizent A, et al. The effects of ketamine on viability, primary DNA damage and oxidative stress parameters in HepG2 and SH-SY5Y cells. Arh Hig Rada Toksikol 2023; 74(2): 106-14.

31. Reus GZ, Carlessi AS, Titus SE, Abelaira HM, Ignácio ZM, da Luz JR, et al. A single dose of S-ketamine induces long-term antidepressant effects and decreases oxidative stress in adulthood rats following maternal deprivation. Dev Neurobiol 2015; 75(11): 1268-81.

32. Bove M, Tucci P, Dimonte S, Trabace L, Schiavone S, Morgese MG. Postnatal antioxidant and anti-inflammatory treatments prevent early ketamine-induced cortical dysfunctions in adult mice. Front Neurosci 2020; 14: 590088.

DOI: *10.48305/jims.v43.i821.0749*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 43, No. 821, 1st Week, September 2025**

Received: 25.12.2024 Accepted: 21.08.2025 Published: 30.08.2025

Antioxidant Therapeutic Potential of S-Ketamin Against Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Male Rats

Sohaila Erfani[1], Bagher Amirhaidari[2,3], Seyedeh Mahdieh Khoshnazar[4]

Original Article

Abstract

Background: Cerebral ischemia-reperfusion is a major cause of increased oxidative stress in the brain, which leads to cellular damage and impaired normal function. Antioxidant compounds can counteract the damaging mechanisms associated with ROS. This study investigated the effect of (S)-Ketamine on reducing oxidative stress and its associated damage in a rat model of cerebral ischemia-reperfusion.

Methods: 28 male Wistar rats weighing 250-300 grams were randomly divided into four groups: control, ischemia-saline, ischemia-low dose esketamine, and ischemia-high dose esketamine. Ischemia was induced by occluding both common carotid arteries (CCA) for 20 minutes. Esketamine was injected immediately after ischemia at doses of 0.1 and 0.25 mg per kg body weight. The activity of antioxidant enzymes, including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx), was assessed using ELISA, while lipid peroxidation was evaluated using the thiobarbituric acid method.

Findings: MDA levels, as an indicator of oxidative stress, were higher in the CA1 region of the hippocampus in ischemic rats, while in the (S)-Ketamine-treated groups, the activities of antioxidant enzymes SOD, CAT, and GPx significantly increased and MDA levels decreased, indicating an increase in antioxidant capacity and a decrease in oxidative stress caused by ischemia-reperfusion in these groups.

Conclusion: (S)-Ketamine may play a crucial role in mitigating cerebral ischemia-reperfusion injury by reducing oxidative stress and enhancing antioxidant enzyme activity.

Keywords: S-Ketamine; Reperfusion injury; Oxidative stress; Antioxidants

Citation: Erfani S, Amirhaidari B, Khoshnazar SM. **Antioxidant Therapeutic Potential of S-Ketamin Against Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2025; 43(821): 749- 58.

1- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam, Iran.
2- Pharmaceutics Research Center, Institute of Pharmaceutical Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3- Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
4- Assistant Professor, Gastroenterology and Hepatology Research Center, Institute of Basic and Clinical Physiology Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
Corresponding Author: Seyedeh Mahdieh Khoshnazar, Assistant Professor, Gastroenterology and Hepatology Research Center, Institute of Basic and Clinical Physiology Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran; Email: m.khoshnazar@kmu.ac.ir