Original Article

The effect of probiotic supplementation on drug resistant epilepsy in children

Zarei F[1,3], Talebian A[2*], Heydari A[3], Esmaeiei-Taba SM[4], Salami M[3]

1- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.
2- Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.
3- Physiology Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.
4- Department of Education, Farhangian University, Qom, I.R. Iran.

Received: 2023/01/8 | Accepted: 2023/05/9

Abstract:

Background: Epilepsy is a chronic brain disease, and in addition to the genetic characteristics, environmental factors such as electrolyte disorders play a role in the recurrence of seizures. Unfortunately, antiepileptic drugs are not effective enough in one third of epilepsy patients. Nowadays, probiotics are considered as a supplement for the treatment of neurological diseases. Although previous studies have focused on the anti-inflammatory, antioxidant and metabolic effects of probiotics, it is possible that the effects of probiotics go beyond this.

Materials and Methods: This study was conducted with 9 patients with drug resistant epilepsy under the age of 16. In the first phase of the study, the epilepsy frequency of children was monitored, and in the second phase, probiotic supplements were prescribed to them for two months. At the beginning and end of the second phase, the serum concentrations of sodium, potassium, calcium and magnesium ions of the patients were evaluated and compared by paired t-test. Epilepsy frequency and severity based on NHS3 and HASS scales were measured and compared by Wilcoxon statistical test, also.

Results: Two-month administration of probiotic supplement significantly reduced the frequency of epilepsy (P=0.005), the seizure severity with the NHS3 scale (P=0.002) and the seizure severity with the HASS scale (P<0.0001). On the other hand, the serum levels of sodium, potassium, calcium and magnesium did not differ before and after probiotic administration, significantly.

Conclusion: Probiotic consumption can play a role in improving the clinical symptoms of patients by reducing the severity and frequency of epilepsy, but it was not effective on the serum level of electrolytes. Therefore, more studies are necessary to investigate the mechanism of probiotics effectiveness and the factors affecting the serum level of electrolytes in children with drug-resistant epilepsy.

Keywords: Drug-resistant epilepsy, Probiotic, Electrolytes

***Corresponding Author**
Email: talebianmd@ yahoo.com
Tel: 0098 31 555 589 336
Fax: 0098 315 562 1157

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2023; Vol. 27, No 2, Pages 186-196

Please cite this article as: Zarei F, Talebian A, Heydari A, Esmaeiei-Taba SM, Salami M. The effect of probiotic supplementation on drug resistant epilepsy in children ***Feyz*** 2023; 27(2): 186-96.

بررسی اثر مکمل‌یاری پروبیوتیک روی کودکان مبتلا به صرع مقاوم به درمان

فاطمه زارعی[۱]، احمد طالبیان[۲*]، اژدر حیدری[۳]، سیدمحمد اسماعیلی‌طبا[۴]، محمود سلامی[۵]

خلاصه:

سابقه و هدف: صرع یک بیماری مزمن مغزی است و علاوه‌بر ویژگی‌های ژنتیکی بیمار، عوامل محیطی مانند اختلالات الکترولیتی در عود حملات تشنج، نقش دارند. متأسفانه، داروهای ضدّتشنج نیز در یک‌سوم بیماران صرعی کارایی کافی ندارند. امروزه، پروبیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل درمان بیماری‌های عصبی مورد توجه قرار گرفته‌اند. اگرچه تمرکز مطالعات پیشین روی خواص ضدّالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و اثرات متابولیکی پروبیوتیک‌ها بوده است، ولی احتمال می‌رود اثرات پروبیوتیک‌ها فراتر از این باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه با تعداد ۹ بیمار مبتلا به صرع مقاوم به درمان، زیر ۱۶ سال انجام شد. در فاز اول مطالعه، فرکانس صرع کودکان پایش شد و در فاز دوم به مدت ۲ ماه مکمل پروبیوتیک برای آنان تجویز گردید. در ابتدا و انتهای فاز دوم، غلظت سرمی یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم بیماران ارزیابی و توسط آزمون آماری تی‌زوجی مقایسه شد. فرکانس و شدت صرع، براساس مقیاس NHS3 و HASS نیز سنجش و توسط آزمون آماری ویلکاکسون مقایسه گردید.

نتایج: تجویز دو ماهه مکمل پروبیوتیک به طرز معنی‌داری فرکانس صرع (P=۰/۰۰۵)، شدت صرع با مقیاس NHS3 (P=۰/۰۰۲) و شدت صرع با مقیاس HASS (P<۰/۰۰۰۱) را کاهش داد. در مقابل، سطح سرمی سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم، قبل و بعد از تجویز پروبیوتیک تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: مصرف پروبیوتیک می‌تواند با کاهش شدت و فرکانس صرع در بهبود علایم بالینی بیماران نقش داشته باشد، اما بر سطح سرمی الکترولیت‌ها مؤثر نیست؛ لذا مطالعات بیشتر برای بررسی مکانیسم اثرگذاری پروبیوتیک‌ها و علل مؤثر بر سطح سرمی الکترولیت‌ها در کودکان صرعی مقاوم به درمان، ضروری است.

واژگان کلیدی: صرع مقاوم به درمان، پروبیوتیک، الکترولیت

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و هفتم، شماره ۲، خرداد - تیر ۱۴۰۲، صفحات ۱۹۶-۱۸۶

مقدمه

صرع، یک بیماری مزمن مغزی است که عمده‌ترین تظاهرات بالینی آن تشنج‌های مکرر است [۱]. این بیماری زندگی بیش از ۵۰ میلیون نفر در جهان را تحت تأثیر قرار داده است [۲]. عوامل ژنتیکی درکنار عوامل محیطی مانند تروما و عفونت در ایجاد صرع نقش دارند [۳].

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲. استاد، گروه اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳. دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۴. پزشک عمومی، دانشگاه فرهنگیان، قم، ایران

۵. استاد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

*** نشانی نویسنده مسؤول:**

کاشان، بیمارستان شهید بهشتی، گروه اطفال

تلفن: ۰۹۱۳۲۶۲۱۰۲۵ **دورنویس:** ۰۳۱۵۵۶۲۱۱۵۷

پست الکترونیک: talebianmd@ yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۲/۲/۱۹

یکی از چالش‌های مهم در صرع، این است که داروهای ضدّتشنج کنونی، بیماری را در برخی افراد به‌صورت کامل درمان نمی‌کنند. تخمین زده می‌شود که ۳۰ درصد از بیماران مبتلا به صرع، از صرع مقاوم به درمان رنج می‌برند [۴]. طبق تعریف (ILAE: International League Against Epilepsy)، بیمارانی که علی‌رغم مصرف دو داروی ضدّتشنج خط اول، با دوز کافی و زمان مناسب، حملات تشنج آنان کنترل نمی‌گردد، بیمار صرعی مقاوم به درمان خوانده می‌شوند [۵]. متأسفانه، تشنج‌های مکرر، بیماران را در معرض انواع عوارض جسمی، روانی و اجتماعی قرار می‌دهد [۶] و از آن‌جایی که دوران کودکی، زمان رشد و تکامل مغزی فرد است، حملات مکرر تشنج می‌تواند منجر به آسیب‌های مغزی و اختلال در روند رشد ذهنی و تکامل کودک شود [۷]. بنابراین، مدیریت صرع به‌صورت ویژه در کودکان، بسیار مهم است و با کنترل تشنج، می‌توان از این پیامدها تا حد زیادی جلوگیری کرد و کیفیت زندگی کودک را بهبود بخشید [۸]. پاتوفیزیولوژی مقاومت دارویی در صرع تا حد زیادی ناشناخته است. با این حال، شواهد موجود نشان می‌دهد عدم تعادل میکروبیوتای روده، به‌عنوان یک عامل احتمالی در ایجاد صرع مقاوم به درمان نقش دارد و برخی مطالعات نیز دیس‌بیوزیس روده را به‌عنوان یک بیومارکر جدید در صرع پیشنهاد

می‌کنند. به همین علت، امروزه برخی روش‌های اصلاح میکروبیوتای روده به‌عنوان درمان مکمل در صرع مقاوم به درمان، پیشنهاد شده‌اند [۹]. از سوی دیگر، ارتباط بین غلظت سرمی یون‌های سدیم و پتاسیم و بیماری صرع، تا حد زیادی شناخته شده است. برای نمونه، مطالعات به نقش اختلالات الکترولیتی در ایجاد تشنج حاد، عود حملات و ایجاد وضعیت اورژانسی صرع پیوسته Status (Epilepticus :SE) در فرد مبتلا اشاره کرده‌اند [۱۰، ۱۱]. همچنین برخی مطالعات به ارتباط سطوح پایین کلسیم و منیزیم و بروز حملات صرع اشاره داشته‌اند [۱۲، ۱۳]. از این‌رو به نظر می‌رسد حفظ تعادل سطح سرمی این یون‌ها برای هر بیمار صرعی بسیار مهم است و در مدیریت بیماری کمک‌کننده است. محور روده – مغز اصطلاحی است که طی سال‌های اخیر در مطالعات مربوط به بیماری‌های عصبی، بسیار مورد توجه واقع شده است [۱۴]. همچنین نقش پروبیوتیک‌ها نیز به‌عنوان یک عامل مهم در تعدیل سیگنال‌دهی روده – مغز مطرح شده است [۱۵] و کاربرد آن‌ها به‌عنوان مکمل درمان دارویی در بیماری‌های سیستم عصبی مانند آلزایمر [۱۶]، پارکینسون [۱۷]، مالتیپل اسکلروزیس (MS: multiple sclerosis) [۱۸] و صرع در مطالعات متعدد، مورد بحث قرار گرفته است. برخی مطالعات اثربخشی پروبیوتیک‌ها در بیماری صرع، عمدتاً به کاهش سطح تحریک سیستم عصبی و بهبود حفاظت عصبی توسط پروبیوتیک‌ها، از طریق اثرات ضدّالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و متابولیک اشاره نموده‌اند، ولی تابه‌حال اثربخشی پروبیوتیک‌ها روی صرع از طریق تغییر سطح الکترولیت‌های خون بیماران مورد توجه قرار نگرفته است؛ اگرچه سطح یون‌های ذکرشده عاملی تأثیرگذار در وضعیت بالینی بیماران است و این احتمال نیز وجود دارد که مکانیسم‌های اثرگذاری پروبیوتیک‌ها بر صرع، فراتر از نتایج مطالعات پیشین باشد. بنابراین، با توجه به مطالعات قبلی در زمینه کارایی پروبیوتیک‌ها بر بیماری صرع، این مطالعه با هدف بررسی اثر مکمل پروبیوتیک بر حملات صرع مقاوم به درمان در اطفال و همچنین تعیین اثر مکمل پروبیوتیک روی سطح سرمی سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم آنان انجام گردیده است.

مواد و روش‌ها

نوع مطالعه، کد اخلاق و محل مطالعه

این مطالعه از نوع مداخله‌ای با تعداد ۹ بیمار در دانشگاه علوم پزشکی کاشان با کد اخلاق IR.KAUMS.MEDNT.REC.1398.076 و ثبت‌شده در مرکز کارآزمایی بالینی ایران (IRCT20170615034549N2) انجام شد. بیماران با تشخیص صرع مقاوم با سنّ زیر ۱۶ سال مراجعه‌کننده به کلینیک فوق تخصصی مغز و اعصاب اطفال درمانگاه بیمارستان شهید بهشتی کاشان در بازه زمانی آبان ۱۳۹۸ تا مهر ۱۴۰۱، مورد مطالعه قرار گرفتند.

مداخله

در این مطالعه از مکمل پروبیوتیکی به فرم کپسول، حاوی ترکیب چهار سویه باکتری *Lactobacillus acidophilus*، *Lactobacillus rhamnosus*، *Bifidobacterium bifidum* و *Bifidobacterium lactis* استفاده شد. هرکپسول دارای 1×10^{9} باکتری است. برای تمامی شرکت‌کنندگان در مطالعه، روزی یک کپسول به مدت دو ماه تجویز شد.

معیارهای ورود و خروج

بیماران زیر ۱۶ سال که طبق تعریف ILAE تشخیص صرع مقاوم به درمان داشته و در طول سه ماه قبل از شروع مطالعه، حداقل یک حمله تشنجی داشته‌اند، وارد مطالعه شدند. تمامی کودکان از نظر بیماری‌های متابولیک، اختلالات عصبی پیشرونده، مشکلات کبدی، کلیوی، گوارشی و عفونی ارزیابی‌شده و درصورت وجود این مشکلات وارد مطالعه نشدند. بیماران در طول مطالعه، تنها داروهای ضدّتشنج و مکمل پروبیوتیک را مصرف می‌کردند و در صورت ابتلای کودک به بیماری، مصرف آنتی‌بیوتیک، بستری‌شدن و یا تغییر داروهای مصرفی، آن فرد از مطالعه حذف می‌گردید. مصرف پروبیوتیک برای بیماران عوارضی نداشت و بیماران به‌خوبی آن را تحمل کردند. تنها یکی از بیماران به دلیل بروز اسهال با علت نامعلوم و عدم رضایت خانواده از مطالعه حذف گردید.

پرسشنامه‌ها و متغیرها

برای به‌دست‌آوردن فرکانس تشنج بیماران، علامت‌های تشنج بیمار به خانواده کودک آموزش داده شد و از آنان خواسته شد در صورت بروز حمله، آن را یادداشت نمایند. برای سنجش شدت صرع نیز از یک پرسشنامه ویژه پزشک و یک مقیاس ویژه والدین به طریق ذیل استفاده شد:

مقیاس The National Hospital Seizure Severity Scale: (NHS3) برای سنجش شدت صرع شامل ۷ شاخص است. نمره کلی مقیاس در محدوده ۱ تا ۲۷ است و نمره کمتر، به معنای شدت کمتر بیماری است. این پرسشنامه توسط پزشک تکمیل شد. مقیاس NHS3 یک معیار معتبر و قابل‌قبول برای مطالعات بالینی می‌باشد [۱۹].

پرسشنامه HAGUE seizure severity scale: (HASS) برای ارزیابی شدت صرع در کودکان طراحی شده و شامل ۱۳ شاخص است و دامنه نمرات از ۱۳ تا ۵۳ است. در این مطالعه ترجمه فارسی این پرسشنامه توسط والدین بیمار تکمیل شد. این

مقیاس نیز برای مطالعات بالینی روی صرع کودکان رواج داشته و مطالعات متعددی از آن استفاده نموده‌اند [۲۰، ۲۱]. با توجه به این که والدین، شاهدان عینی تشنج کودک هستند، ممکن است قضاوت بهتری در مورد شدت صرع نسبت به پزشکان داشته باشند. بنابراین، پرسشنامه تکمیل‌شده توسط والدین، می‌تواند معیار دقیقی برای ارزیابی شدت صرع بیمار در طول مطالعه باشد. HASS، یک معیار معتبر و قابل‌اعتماد از شدت صرع گزارش‌شده توسط والدین است که می‌تواند به‌عنوان معیاری در مورد صرع دوران کودکی، مفید و کاربردی باشد [۲۲]. برای سنجش الکترولیت‌های خون، بیماران صبح ناشتا به آزمایشگاه منتخب مراجعه نموده و نمونه‌گیری از ورید بیماران انجام می‌شد. سپس خون، داخل لوله آزمایش دارای ژل فعال‌کننده انعقادی ریخته و به‌مدت ۳۰ دقیقه و در دمای محیط قرار داده می‌شد. بعد از گذشت این زمان، نمونه‌ها به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ در ۲۵۰۰ الی ۳۰۰۰ دور در ثانیه قرار داده شدند تا سرم آن‌ها جداسازی گردد. سپس آزمایش‌ها روی این نمونه‌های سرم انجام گردید. برای سنجش کلسیم و منیزیم از روش رنگ‌سنجی (colorimetry) استفاده شد. همچنین جهت سنجش سطح سرمی سدیم و پتاسیم از روش آزمایشگاهی (ISE): Ion Selective Electrode استفاده گردید.

شرکت‌کنندگان در مطالعه و ویژگی‌های آنان

این مطالعه بر روی ۹ نفر از کودکان مبتلا به صرع مقاوم به درمان، انجام شد. میانگین سنی بیماران ۱/۲±۹ سال بود و ۵۵ درصد بیماران پسر بودند. همچنین ۴ نفر از کودکان (۴۴ درصد)، مبتلا به فلج مغزی همراه با صرع مقاوم به درمان بودند.

پروتکل مطالعه

همه شرایط مطالعه قبل از شروع پژوهش، به اطلاع والدین بیماران رسید و روند انجام کار دقیقاً توضیح داده شد. همچنین آموزش‌های لازم، داده شد و رضایت آگاهانه از والدین اخذ گردید. این مطالعه دو فاز داشت. در فاز اول بیماران تحت نظر قرار گرفتند تا فرکانس تشنج آنان مشخص گردد. در فاز دوم، به‌مدت ۲ ماه به بیماران مکمل پروبیوتیک داده شد. در ابتدا و انتهای فاز دوم، پارامترهای مرتبط به صرع بیماران شامل فرکانس و شدت تشنج‌ها، محاسبه و به‌صورت قبل و بعد، با هم مقایسه شدند. نمونه خون وریدی بیماران نیز در ابتدا و انتهای فاز دوم دریافت شد و سطح الکترولیت‌های سرمی خون، قبل و بعد از تجویز پروبیوتیک با هم مقایسه گردید. جهت اطمینان از مصرف مکمل و همچنین پیگیری وضعیت بیماران در فاز دوم مطالعه، مکمل به‌صورت ماهانه در اختیار خانواده قرار گرفت و بیماران یک ماه بعد از دریافت مکمل نیز مورد ارزیابی پزشک و محقق قرار گرفتند.

روش تجزیه و تحلیل آماری

برای تحلیل نتایج از نرم‌افزار GraphPad Prism 9.0.0 استفاده شد. جهت تحلیل آماری کلیه داده‌های غیرپارامتریک از آزمون آماری ویلکاکسون و برای تحلیل داده‌های پارامتریک از آزمون آماری تی‌زوجی استفاده گردید. تمامی نتایج به‌دست‌آمده به‌صورت ($\bar{X} \pm SEM$) بیان شد و سطح معنی داری آزمون‌ها به‌صورت P کمتر از ۰/۰۵، برای تمامی نتایج در نظر گرفته شد.

نتایج

تجویز پروبیوتیک توانست در ۶ بیمار (۶۶ درصد از کل بیماران)، تعداد تشنج در ماه را بیشتر از ۵۰ درصد کاهش دهد.

جدول شماره ۱- خصوصیات دموگرافیک بیماران واردشده در مطالعه

متغیرهای دموگرافیک	میزان
میانگین سن (سال)	۹±۱/۲
جنسیت (پسر٪)	٪۵۵
جنسیت (دختر٪)	٪۴۵
فلج مغزی (٪)	٪۴۴
درمان ترکیبی با چند داروی ضدّتشنج (٪)	٪۱۰۰
وجود یا بروز اختلالات الکترولیتی(٪)	۰٪
کاهش فراوانی تشنج‌ها (٪۵۰ <)	٪۶۶

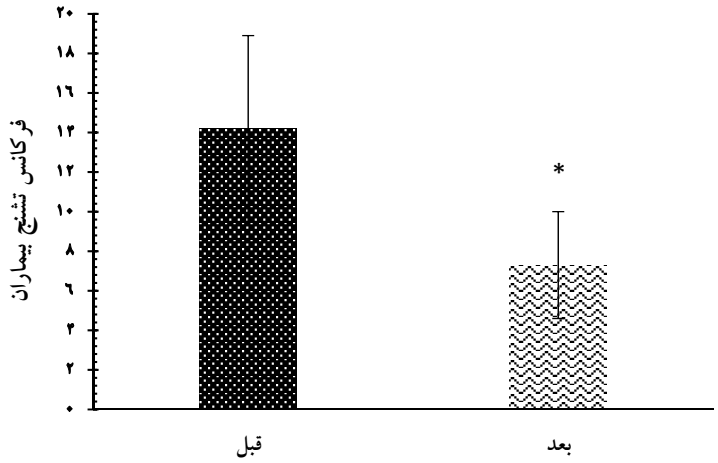
تأثیر مکمل پروبیوتیک بر پروفایل‌های صرع بیماران

میانگین فرکانس تشنج در بیماران از ۴/۷ ± ۱۴/۲ به ۲/۷ ± ۷/۳ در انتهای مطالعه رسید. مقایسه فرکانس تشنج بیماران براساس آزمون آماری ویلکاکسون نشان داد که تعداد تشنج‌های بیماران کاهش معنی‌دار داشته است (P=۰/۰۰۵، نمودار ۱- الف).

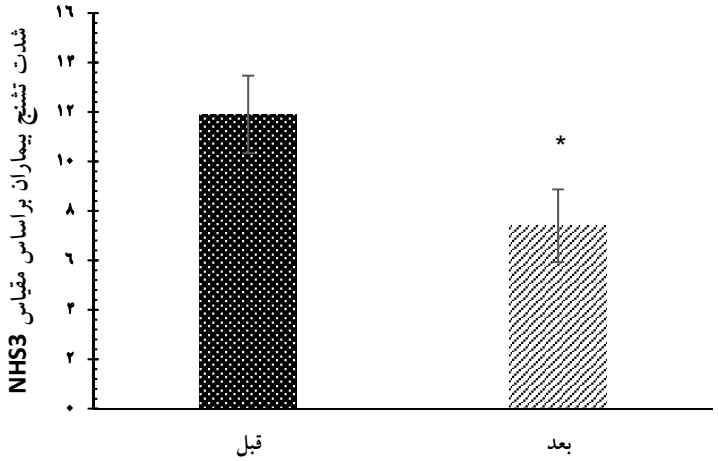
به‌علاوه، قبل از تجویز پروبیوتیک میانگین شدت تشنج براساس مقیاس NHS3، ۱۱/۹±۱/۵۷ بود که پس از تجویز مکمل پروبیوتیک، به ۱/۴۷ ± ۷/۴ رسید. شدت تشنج سنجیده شده با این مقیاس نیز براساس آزمون آماری ویلکاکسون کاهش معنی‌دار داشت (P=۰/۰۰۲، نمودار ۱-ب).

شدت تشنج سنجیده‌شده با مقیاس HASS نیز از ۳۴/۷±۱/۷ به ۲۳±۱/۱۵ رسید که پس از تحلیل آماری براساس آزمون ویلکاکسون این اختلاف نیز معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۰۱، نمودار ۱-ج).

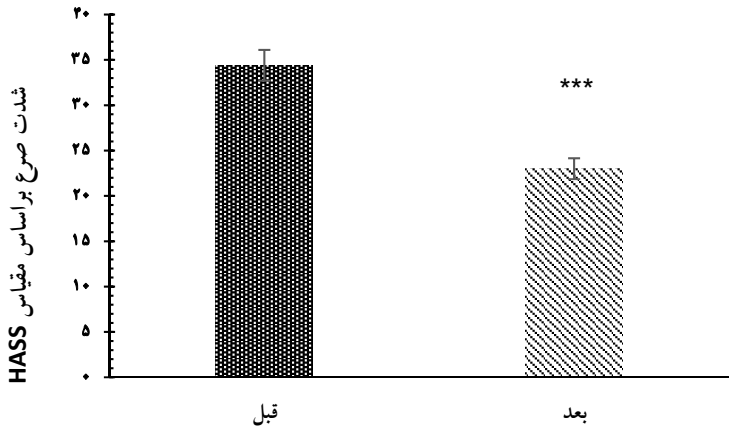
لذا نتایج نشان می‌دهد که تجویز دوماهه‌ی مکمل پروبیوتیک به‌صورت معنی‌داری فرکانس صرع و شدت صرع سنجیده‌شده با دو مقیاس NHS3 و HASS را در بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان، بهبود بخشیده است. لازم به ذکر است که یکی از بیماران با توجه به اثرات مثبت مصرف پروبیوتیک، به‌صورت داوطلبانه مطالعه را تا سه ماه ادامه داد که فرکانس و شدت تشنج‌های وی در ماه سوم نیز کاهش یافت.



نمودار شماره ۱ -الف- مقایسه فرکانس تشنج قبل و بعد از مصرف پروبیوتیک براساس آزمون آماری ویلکاکسون (P=۰/۰۰۵)



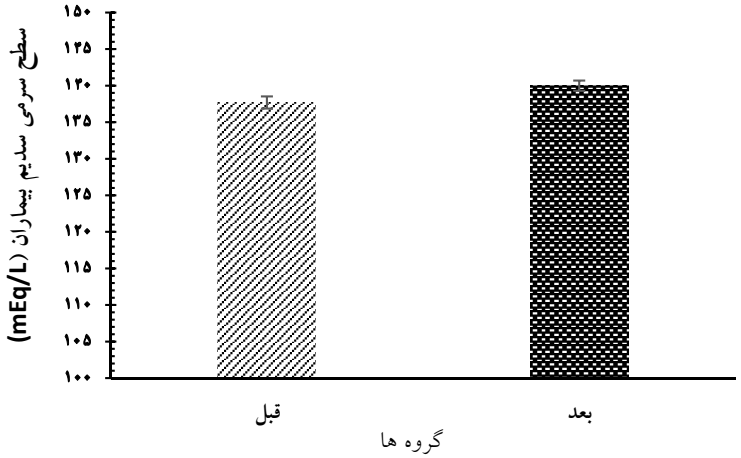
نمودار شماره ۱- ب- مقایسه شدت تشنج سنجیده شده با مقیاس NHS3 قبل و بعد از دریافت پروبیوتیک براساس آزمون آماری ویلکاکسون (P=۰/۰۰۲)



نمودار شماره ۱- ج- مقایسه شدت تشنج سنجیده شده با مقیاس HASS قبل و بعد از دریافت پروبیوتیک براساس آزمون آماری ویلکاکسون (P<۰/۰۰۰۱)

تأثیر مکمل پروبیوتیک بر سطح سدیم خون بیماران

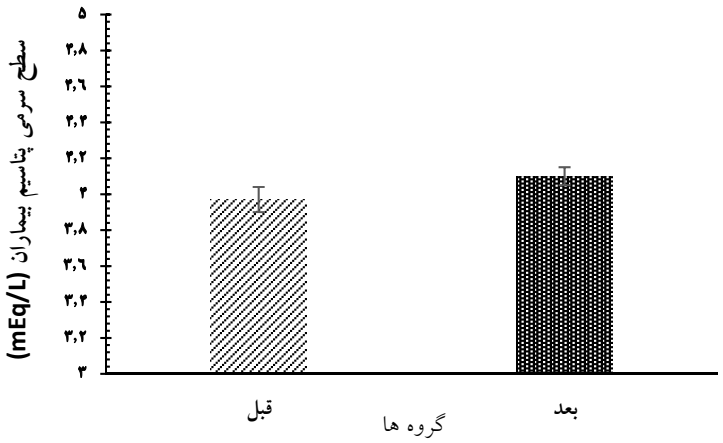
میانگین سطح سرمی سدیم بیماران در ابتدای فاز دوم مطالعه ۱۳۷/۷±۰/۸۳ mEq/L بود و پس از تجویز دوماهه‌ی مکمل پروبیوتیک، به ۱۴۰±۰/۷ mEq/Lرسید. تحلیل آماری با آزمون تی‌زوجی نشان داد که مکمل پروبیوتیک تغییر معنی‌داری در سطح سدیم خون بیماران ایجاد نکرده است (P=۰/۰۸۶، نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲- مقایسه سطح سدیم خون قبل و بعد از دریافت پروبیوتیک براساس آزمون تی‌زوجی (P=۰/۰۸۶)

تأثیر مکمل پروبیوتیک بر سطح پتاسیم خون بیماران

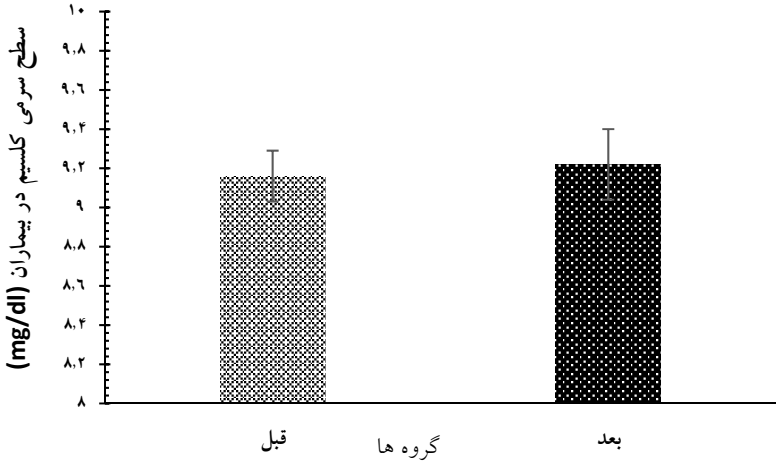
میانگین سطح پتاسیم خون بیماران از mEq/L ۳/۹۷±۰/۰۷ در ابتدای فاز دوم مطالعه به mEq/L ۰/۰۵ ±۴/۱ در انتهای مطالعه رسید؛ با این وجود، تحلیل آماری با آزمون تی‌زوجی نشان داد که مکمل پروبیوتیک نتوانسته است تغییر معنی‌داری در سطح پتاسیم خون بیماران ایجاد کند (P=۰/۲۱، نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳- مقایسه سطح پتاسیم خون قبل و بعد از دریافت پروبیوتیک براساس آزمون تی‌زوجی (P=۰/۲۱)

تأثیر مکمل پروبیوتیک بر سطح کلسیم خون بیماران

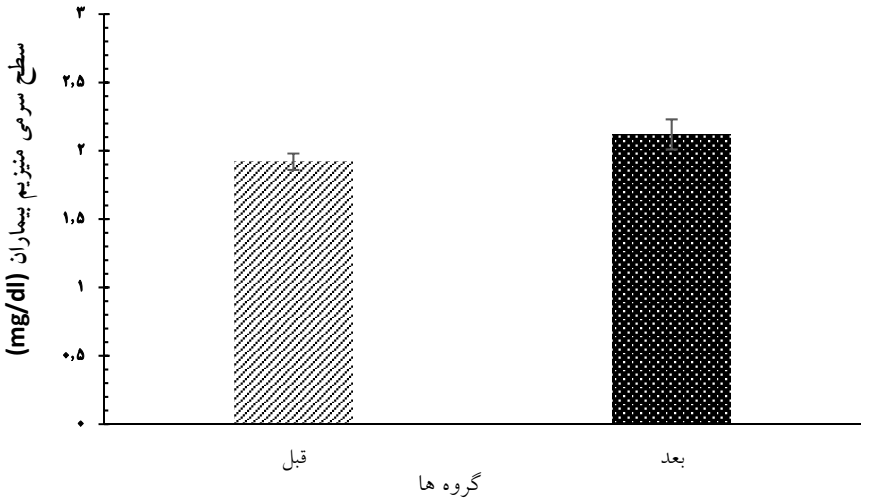
قبل از شروع فاز دوم مطالعه میانگین سطح کلسیم خون بیماران ۹/۱۶±۰/۱۳ mg/dl بود که پس دو ماه مصرف پروبیوتیک به ۹/۲۲ ±۰/۱۸ mg/dl رسید؛ با این وجود، پس از تحلیل آماری با آزمون تی‌زوجی، این اختلاف معنی‌دار نبود (P=۰/۵۶، نمودار شماره ۴). لذا مکمل پروبیوتیک نتوانست تغییر معنی‌داری در سطح کلسیم خون بیماران ایجاد کند.



نمودار شماره ۴- مقایسه سطح کلسیم خون قبل و بعد از دریافت پروبیوتیک براساس آزمون تی‌زوجی (P=۰/۵۶)

تأثیر مکمل پروبیوتیک بر سطح منیزیم خون بیماران

میانگین سطح سرمی منیزیم بیماران از ۱/۹۲±۰/۰۶ mg/dl در ابتدای فاز دوم مطالعه، به ۲/۱۲ ±۰/۱۱mg/dl در پایان مطالعه رسید؛ با این‌حال تجزیه و تحلیل آماری براساس آزمون تی‌زوجی نشان داد که مکمل پروبیوتیک نتوانسته است تغییر معنی‌داری در سطح منیزیم خون بیماران ایجاد کند (P=۰/۰۹۸، نمودار شماره ۵).



نمودار شماره ۵- مقایسه سطح منیزیم خون قبل و بعد از دریافت پروبیوتیک براساس آزمون تی‌زوجی (P=۰/۰۹۸)

بحث

نتایج نشان داد که تجویز دوماهه‌ی پروبیوتیک، شدت و فرکانس صرع را در بیماران، به‌طرز معنی‌داری بهبود می‌بخشد؛ ولی پروبیوتیک روی سطح سرمی یون‌ها تأثیر معنی‌داری ندارد. مطالعات پیشین شواهدی از تأثیر درمان‌های روده‌محور را روی صرع ارائه داده‌اند. برای نمونه، در یک گزارش موردی، پیوند میکروبیوتای مدفوع (FMT: Fecal microbiota transplantation) در بیمار مبتلا به بیماری کرون و صرع مقاوم، توانست علاوه بر بهبود مشکل گوارشی، موجب قطع حملات تشنج تونیک - کلونیک عمومی (Generalized tonic-clonic seizures) وی گردد. بیمار بعد از ۲۰ ماه پیگیری نیز همچنان بدون تشنج بود [۲۳]. به‌علاوه، برخی مطالعات انجام‌شده روی صرع، اشاره دارند که یکی از مکانیسم‌های احتمالی اثرگذاری رژیم کتوژنیک بر کنترل بیماری صرع، به‌علت القای تغییر در میکروبیوتای روده است [۲۴]. بر همین اساس، مطالعات جدید به بررسی نقش پروبیوتیک‌ها در بیماری صرع گرایش دارند. برای نمونه، در مطالعه باقری و همکاران، مکمل پروبیوتیک توانست علاوه بر کاهش شدت تشنج، فعالیت انتقال‌دهنده عصبی گابا و سطح آنتی‌اکسیدانی مغز موش‌های مدل تشنجی کیندل‌شده با PTZ را بهبود بخشد [۲۵]. در مطالعه دیگری روی موش‌ها، گاواژ ۶۰روزه مکمل‌های پروبیوتیک، اثرات ضدّتشنجی در برابر تشنج‌های القاءشده توسط PTZ را با تأخیر در زمان شروع هر دو تشنج میوکلونیک و تونیک - کلونیک ژنرالیزه، نشان داد. به‌علاوه، مدت زمان تشنج ژنرالیزه تونیک - کلونیک را نیز کاهش داد. همچنین مارکرهای التهابی و اکسیدانی اندازه‌گیری‌شده، کاهش یافتند [۲۶]. در یک مطالعه انسانی روی بیماران مبتلا به صرع لوب تمپورال، مصرف ۱۲ هفته پروبیوتیک، تأثیر قابل‌توجهی در کنترل تشنج و بهبود اضطراب، افسردگی و کیفیت زندگی در بیماران داشت [۲۷]. در مطالعه‌ای روی بزرگسالان مبتلا به صرع مقاوم به درمان، تجویز چهار ماهه مخلوط پروبیوتیکی شامل ۸ سویه باکتری *Lactobacillus acidophilus*، *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus Casei*، *Lactobacillus helveticus*، *Lactobacillus brevis*، *Bifidobacterium lactis*، *Streptococcus salivarius subsp* و *Streptococcus thermophilus* و به‌میزان (Colony for unit): cfu ۱۰^۱۱×۴ در روز، به فرم ساشه‌های خوراکی، موجب کاهش فرکانس تشنج و بهبود کیفیت زندگی بیماران شد. به علاوه، در ارزیابی بیوشیمیایی انجام‌شده روی خون، سطوح میانجی عصبی گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا) γ- (Aminobutyric acid :GABA) در بیماران افزایش یافت و مارکرهای التهابی بهبود پیدا کرد [۲۸]. شواهد متعددی نشان می‌دهد که میکروبیوتای روده، نقش مهمی در ارتباط دوطرفه بین روده و مغز دارد؛ به نحوی که ممکن است باکتری‌های روده، رشد و تکامل عصبی را شکل دهند، انتقال عصبی را تعدیل کنند و بر رفتار تأثیر بگذارند و درنتیجه در ایجاد و یا پیشرفت بسیاری از بیماری‌های عصبی نقش محافظتی داشته باشند [۲۹]. به نظر می‌رسد در این بین، پروبیوتیک‌ها به‌عنوان عامل مؤثر در تعدیل میکروبیوتای روده، بخش عمده‌ای از اثرات خود بر بیماری‌ها را از طریق محور روده - مغز اعمال می‌کنند. روش‌های پیشنهادی برای اثرگذاری پروبیوتیک‌ها بر بیماری‌های مختلف، عمدتاً شامل تعدیل فعالیت سیستم ایمنی، ضدّاسترس اکسیداتیو، اثرات متابولیک و هورمونی است [۳۰، ۳۱]، در مطالعات انجام‌شده روی پروبیوتیک‌ها و صرع نیز به خواص ضدّالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، متابولیک و تقویت سیستم گاباارژیک توسط آن‌ها اشاره شده است. ولی با توجه به حیطه گسترده

اثرگذاری پروبیوتیک‌ها بر بدن، امکان دارد در مطالعات آینده مکانیسم‌های جدیدی از تأثیر پروبیوتیک‌ها شناخته شود.

بررسی‌های آزمایشگاهی انجام‌شده روی سطح الکترولیت‌ها در بیماران صرعی، اطلاعات پایه را در اختیار قرار می‌دهد. براساس همین یافته‌ها، کم‌سدیمی خون (Hyponatremia) می‌تواند حملات شبیه صرع ایجاد کند [۳۲] و در بیماران صرعی نیز می‌تواند موجب افزایش حملات تشنج و حتی ایجاد صرع پیوسته گردد [۳۳]. کم‌پتاسیمی خون (Hypokalemia) نیز یکی از یافته‌های بیوشیمیایی خون در برخی از بیمارانی است که حملات صرع آنان کنترل نشده است [۱۱]. سطوح پایین‌تر منیزیم و کلسیم سرم نیز در بیماران صرعی نسبت به افراد سالم و افراد با تشنج‌های غیرصرعی گزارش شده است [۱۲]. از سوی دیگر، برخی از مطالعات موجود نشان‌دهنده‌ی اثرات مفید باکتری‌ها بر فراهمی‌زیستی مواد معدنی و تأثیر مثبت پروبیوتیک‌ها بر جذب مواد معدنی در انسان و حیوان است [۳۴]. به‌علاوه، اخیراً نقش عوامل تعدیل‌کننده میکروبیوتا، مانند پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها نیز در جذب بهینه مواد مغذی و معدنی، مورد توجه برخی مطالعات بالینی قرار گرفته است. برای نمونه، مطالعه‌ای روی نوجوانان ۱۴ تا ۱۸ساله نشان داد که مصرف ۱۰ هفته مکمل‌های پروبیوتیک در افزایش سطح کلی بیومارکرهای خونی شامل ویتامین‌ها و جذب مواد معدنی مانند کلسیم، در مقایسه با دارونما مؤثر است [۳۵]. در مطالعه دیگری به بیماران پسوریازیس به‌مدت ۱۲ هفته یک مکمل سین‌بیوتیک داده شد. پس از ۱۲ هفته، سطوح سرمی آهن، روی، فسفر، منیزیم، کلسیم و سدیم در بیماران پسوریازیس، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. محققان این مطالعه نتیجه گرفتند که مکمل سین‌بیوتیک توانسته است که جذب مواد معدنی را از دستگاه گوارش بیماران مبتلا به پسوریازیس بهبود بخشد [۳۶]. به‌صورت کلی، مطالعاتی که روی ارتباط مصرف پروبیوتیک‌ها و جذب مواد غذایی از روده باریک انجام شده است، به اثرات ترمیمی پروبیوتیک‌ها بر جدار روده و حفظ یکپارچگی سد روده‌ای [۳۷]، تنظیم pH روده، تحریک رشد پرزهای روده و تولید متابولیت‌های مؤثر بر سلامت روده [۳۸] اشاره کرده‌اند؛ تا جایی‌که برخی محققان، به‌هم‌خوردن تعادل در ترکیب و تنوع باکتری‌های روده یا دیس‌بیوزیس (Dysbiosis) دستگاه گوارش را یک عامل مؤثر بر سوءجذب دانسته‌اند [۳۹]. اما در این مطالعه مکمل پروبیوتیک نتوانست تفاوت قابل‌توجهی در غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلسیم ایجاد کند که احتمالاً ناشی از وجود عوامل دیگر مؤثر بر هومئوستاز و تنظیم غلظت این یون‌ها است. مطالعات متعدد گزارش داده‌اند که عواملی مانند تغییرات محتوای رژیم غذایی و مایعات دریافتی، میزان دفع کلیوی و همچنین تنظیم مرکزی بدن از طریق سیستم عصبی و هورمونی، می‌تواند روی سطح سرمی الکترولیت‌ها مؤثر باشد. برای نمونه، در تنظیم هومئوستاز سدیم علاوه‌بر میزان دریافت سدیم از رژیم غذایی، سیستم عصبی، عوامل هورمونی، تنظیم کلیوی و هومورال نیز نقش دارند تا میزان سدیم خون در محدوده باریک نرمال حفظ شود [۴۰]؛ در تنظیم سطح پتاسیم، علاوه‌بر فاکتورهای ذکرشده، مسأله تعادل اسید و باز خون نیز مطرح است [۴۱] و آن‌چه در میزان کلسیم خون در بیماران صرعی به‌طور ویژه مهم است، مسأله تداخل داروهای ضدّتشنج با هومئوستاز کلسیم در بیماران صرعی است. مطالعات متعدد گزارش کرده‌اند که مصرف داروهای ضدّتشنج می‌تواند منجر به اختلال در سطح کلسیم و کاهش تراکم استخوان‌ها در بیماران شود [۴۲, ۴۳]. بنابراین، از آن‌جایی که فاکتورهای مؤثر بر الکترولیت‌های خون بیماران صرعی متعدد است، نمی‌توان به‌صورت قطعی در مورد اثر مداخله پروبیوتیک روی این فاکتورهای سنجیده‌شده، نظر داد؛ مگر آن‌که در مطالعه، معیاری برای اندازه‌گیری تمامی فاکتورهای مؤثر بر سطح الکترولیت‌های خون بیماران، وجود داشته باشد. با این حال، به نظر می‌رسد با توجه به این‌که در ابتدا و انتهای مطالعه، سطح الکترولیت‌های سنجش‌شده برای تمامی بیماران، در محدوده نرمال بود، احتمالاً مکانیسم اثرگذاری پروبیوتیک‌ها در این بیماران به عوامل دیگری برمی‌گردد. درنهایت، با توجه به این‌که تا به حال مطالعه‌ای در ارتباط با اثرگذاری مصرف پروبیوتیک‌ها بر بیماری صرع مقاوم به درمان، از طریق تغییر سطح سرمی الکترولیت‌های بیماران موجود نبوده است، به مطالعات بیشتری نیاز هست تا مکانیسم‌های اثرگذاری پروبیوتیک‌ها در بیماران مبتلا به صرع مقاوم به درمان، آشکار گردد. در پایان لازم است به محدودیت‌های مطالعه حاضر اشاره شود. از آن‌جا که مطالعه در زمان اپیدمی کووید ۱۹ انجام شد، خانواده تعداد قابل‌ملاحظه‌ای از بیماران که دارای معیارهای ورود به مطالعه بودند، به دلیل مشکلات دوران کرونا و قرنطینه، از انجام مطالعه انصراف دادند. از طرفی به دلیل محدودیت‌های بیماری صرع مقاوم به درمان و سن پایین بیماران، تعدادی از خانواده‌ها برای انجام پروتکل مطالعه و پیگیری‌ها دچار مشکل بودند که همین مسائل موجب کاهش تعداد بیماران موردمطالعه، گردید.

نتیجه‌گیری

این مطالعه، اولین مطالعه در نوع خود بود که به ارزیابی همزمان اثر مصرف پروبیوتیک روی علایم بالینی و سطح سرمی الکترولیت‌های کودکان صرعی مقاوم به درمان، پرداخت. این مطالعه می‌تواند راهگشای پژوهش‌های آینده درزمینه بررسی اثربخشی

پروبیوتیک‌ها بر صرع مقاوم اطفال باشد. اگرچه در بین بیماران این مطالعه، شدت و فراوانی تشنج‌ها پس از مصرف پروبیوتیک بهبود قابل‌ملاحظه‌ای داشت، اما سطح سرمی سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم این بیماران بدون تغییر ماند. لذا با توجه به محدودیت‌های این مطالعه و وجود فاکتورهای متعدد اثرگذار بر سطح سرمی الکترولیت‌ها، انجام مطالعات بیشتر در این زمینه مورد نیاز است. توجه به این نکته ضروری است که اثرات پروبیوتیک‌ها بر بدن، طیف گسترده‌ای را شامل می‌شود، بنابراین پژوهش‌های آینده روی ترکیب‌های پروبیوتیکی مختلف و شناخت اثرات آن‌ها، مسیر را برای محققان و پزشکان روشن‌تر خواهد ساخت تا بتوان بیش از پیش از این ترکیبات برای کمک به بیماران استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با کد ۹۸۱۲۰، مورد حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان قرار داشت. از همکاری صمیمانه بیماران و خانواده‌های آن‌ها و نیز پرسنل درمانی درمانگاه بیمارستان شهید دکتر بهشتی کاشان سپاسگزاری می‌گردد.

References:

[1] Chen TS, Lai MC, Huang HI, Wu SN, Huang CW. Immunity, Ion Channels and Epilepsy. ***Int J Mol Sci*** 2022; 23(12).

[2] Garg N, Joshi R, Medhi B. A novel approach of targeting refractory epilepsy: Need of an hour. ***Brain Res Bull*** 2020; 163: 14-20.

[3] Pérez-Pérez D, Frías-Soria CL, Rocha L. Drug-resistant epilepsy: From multiple hypotheses to an integral explanation using preclinical resources. ***Epilepsy Behav*** 2021; 121: 106430.

[4] Kalilani L, Sun X, Pelgrims B, Noack-Rink M, Villanueva V. The epidemiology of drug-resistant epilepsy: a systematic review and meta-analysis. ***Epilepsia*** 2018; 59(12): 2179-93.

[5] Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. Wiley Online Library; 2010.

[6] Devinsky O. Patients with refractory seizures. ***New England J Med*** 1999; 340(20): 1565-70.

[7] Denervaud S, Korff C, Fluss J, Kalser J, Roulet-Perez E, Hagmann P, et al. Structural brain abnormalities in epilepsy with myoclonic atonic seizures. ***Epilepsy Res*** 2021; 177: 106771.

[8] McCagh J, Fisk JE, Baker GA. Epilepsy, psychosocial and cognitive functioning. ***Epilepsy Res*** 2009; 86(1): 1-14.

[9] Chatzikonstantinou S, Gioula G, Kimiskidis VK, McKenna J, Mavroudis I, Kazis D. The gut microbiome in drug-resistant epilepsy. ***Epilepsia Open*** 2021; 6(1): 28-37.

[10] Nardone R, Brigo F, Trinka E. Acute Symptomatic Seizures Caused by Electrolyte Disturbances. ***J Clin Neurol*** 2016; 12(1): 21-33.

[11] Sheikh Hassan M, Sidow NO, Ali Adam B, Gökgül A, Hassan Ahmed F, Ali IH. Epidemiology and Risk Factors of Convulsive Status Epilepticus Patients Admitted in the Emergency Department of Tertiary Hospital in Mogadishu, Somalia. ***Int J Gen Med*** 2022; 15: 8567-75.

[12] Abdullahi I, Watila MM, Shahi N, Nyandaiti YW, Bwala SA. Serum magnesium in adult patients with idiopathic and symptomatic epilepsy in Maiduguri, Northeast Nigeria. ***Niger J Clin Pract*** 2019; 22(2): 186-93.

[13] Prasad DK, Shaheen U, Satyanarayana U, Surya Prabha T, Jyothy A, Munshi A. Association of serum trace elements and minerals with genetic generalized epilepsy and idiopathic intractable epilepsy. ***Neurochem Res*** 2014; 39(12): 2370-6.

[14] Cryan JF, O'Riordan KJ, Cowan CSM, Sandhu KV, Bastiaanssen TFS, Boehme M, et al. The Microbiota-Gut-Brain Axis. ***Physiol Rev*** 2019; 99(4): 1877-2013.

[15] Margolis KG, Cryan JF, Mayer EA. The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. ***Gastroenterology*** 2021; 160(5): 1486-501.

[16] Akbari E, Asemi Z, Daneshvar Kakhaki R, Bahmani F, Kouchaki E, Tamtaji OR, et al. Effect of Probiotic Supplementation on Cognitive Function and Metabolic Status in Alzheimer's Disease: A Randomized, Double-Blind and Controlled Trial. ***Front Aging Neurosci*** 2016;8:256.

[17] Gazerani P. Probiotics for Parkinson's Disease. ***Int J Mol Sci*** 2019 ; 20(17).

[18] Ghezzi L, Cantoni C, Pinget GV, Zhou Y, Piccio L. Targeting the gut to treat multiple sclerosis. ***J Clin Invest*** 2021; 131(13).

[19] Verma N, Maiti R, Mishra BR, Jha M, Jena M, Mishra A. Effect of add-on melatonin on seizure outcome, neuronal damage, oxidative stress, and quality of life in generalized epilepsy with generalized onset motor seizures in adults: A randomized controlled trial. ***J Neurosci Res*** 2021; 99(6): 1618-31.

[20] Mikati MA, Ataya N, Ferzli J, Kurdi R, El-Banna D, Rahi A, et al. Quality of life after surgery for intractable partial epilepsy in children: a cohort study with controls. ***Epilepsy Res*** 2010; 90(3): 207-13.

[21] Gupta B, Misra P, Karuppusamy A, Balamurugan D, Parewa M, Tomar M, et al. Individualized Homeopathic Medicines as Adjunctive Treatment of Pediatric Epilepsy: A

Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. ***Homeopathy*** 2022.
[22] Carpay J, Vermuelen J, Stroink H, Brouwer O, Peters A, Aldenkamp A, et al. Seizure severity in children with epilepsy: a parent-completed scale compared with clinical data. ***Epilepsia*** 1997; 38(3): 346-52.
[23] He Z, Cui BT, Zhang T, Li P, Long CY, Ji GZ, et al. Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: The first report. ***World J Gastroenterol*** 2017; 23(19): 3565-8.
[24] Attaye I, van Oppenraaij S, Warmbrunn MV, Nieuwdorp M. The Role of the Gut Microbiota on the Beneficial Effects of Ketogenic Diets. ***Nutrients*** 2021; 14(1).
[25] Bagheri S, Heydari A, Alinaghipour A, Salami M. Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling. ***Epilepsy Behav*** 2019; 95: 43-50.
[26] Kilinc E, Ankarali S, Ayhan D, Ankarali H, Torun IE, Cetinkaya A. Protective effects of long-term probiotic mixture supplementation against pentylenetetrazole-induced seizures, inflammation and oxidative stress in rats. ***J Nutr Biochem*** 2021; 98: 108830.
[27] Wang X, Ma R, Liu X, Zhang Y. Effects of long-term supplementation of probiotics on cognitive function and emotion in temporal lobe epilepsy. ***Front Neurol*** 2022; 13: 948599.
[28] Gómez-Eguílaz M, Ramón-Trapero JL, Pérez-Martínez L, Blanco JR. The beneficial effect of probiotics as a supplementary treatment in drug-resistant epilepsy: a pilot study. ***Benef Microbes*** 2018; 9(6): 875-81.
[29] Socała K, Doboszewska U, Szopa A, Serefko A, Włodarczyk M, Zielińska A, et al. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. ***Pharmacol Res*** 2021; 172: 105840.
[30] Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, Feleszko W. Postbiotics-A Step Beyond Pre- and Probiotics. ***Nutrients*** 2020; 12(8).
[31] Markowiak P, Śliżewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. ***Nutrients*** 2017; 9(9).
[32] Wójcik M, Janus D, Herman-Sucharska I, Starzyk JB. Generalized seizures as the first manifestation of multihormonal pituitary hormone deficiency causing normovolemic hyponatremia. ***Am J Case Rep*** 2013; 14: 507-10.
[33] Zelano J, Halawa I, Clausen F, Kumlien E. Hyponatremia augments kainic-acid induced status epilepticus in the mouse: a model for dysmetabolic status epilepticus. ***Epilepsy Res*** 2013; 106(1-2): 29-34.
[34] Bielik V, Kolisek M. Bioaccessibility and Bioavailability of Minerals in Relation to a Healthy Gut Microbiome. ***Int J Mol Sci*** 2021; 22(13).
[35] Ballini A, Gnoni A, De Vito D, Dipalma G, Cantore S, Gargiulo Isacco C, et al. Effect of probiotics on the occurrence of nutrition absorption capacities in healthy children: a randomized double-blinded placebo-controlled pilot study. ***Eur Rev Med Pharmacol Sci*** 2019; 23(19): 8645-57.
[36] Akbarzadeh A, Taheri M, Ebrahimi B, Alirezaei P, Doosti-Irani A, Soleimani M, et al. Evaluation of Lactocare® Synbiotic Administration on the Serum Electrolytes and Trace Elements Levels in Psoriasis Patients: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial Study. ***Biol Trace Elem Res*** 2022; 200(10): 4230-7.
[37] Krishna Rao R, Samak G. Protection and restitution of gut barrier by probiotics: nutritional and clinical implications. ***Curr Nutr Food Sci*** 2013; 9(2): 99-107.
[38] Sánchez B, Delgado S, Blanco-Míguez A, Lourenço A, Gueimonde M, Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. ***Mol Nutr Food Res*** 2017; 61(1): 1600240.
[39] Judkins TC, Archer DL, Kramer DC, Solch RJ. Probiotics, Nutrition, and the Small Intestine. ***Curr Gastroenterol Rep*** 2020; 22(1): 2.
[40] Bernal A, Zafra MA, Simón MJ, Mahía J. Sodium Homeostasis, a Balance Necessary for Life. ***Nutrients*** 2023; 15(2).
[41] Lee Hamm L, Hering-Smith KS, Nakhoul NL. Acid-base and potassium homeostasis. ***Semin Nephrol*** 2013; 33(3): 257-64.
[42] Uçan Tokuç FE, Fatma G, Abidin E, Yasemin GB. Management of bone metabolism in epilepsy. ***Ideggyogy Sz*** 2021; 74(7-08): 257-65.
[43] Modi S, Tripathi M, Saha S, Goswami R. Seizures in patients with idiopathic hypoparathyroidism: effect of antiepileptic drug withdrawal on recurrence of seizures and serum calcium control. ***Eur J Endocrinol*** 2014; 170(5): 777-83.