

اثر تزریق داخل هیپوکمپی وراپامیل در روند ایجاد کیندلینگ شیمیایی بر روی

یادگیری فضایی در ماز آبی موریس در موشهای صحرایی

دکتر محمدرضا پالیزوان^۱، احسان اله غزنوی راد^۲، اعظم امینی کمیجانی^۳

۱- استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اراک (مؤلف مسئول) palizvan@yahoo.com

۲- مربی گروه میکروبیشناسی دانشگاه علوم پزشکی اراک

۳- مربی گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اراک

چکیده

زمینه و هدف: در این تحقیق نقش کانالهای کلسیمی حساس به ولتاژ ناحیه CA₁ هیپوکمپ بر روی کیندلینگ و اختلالات یادگیری ایجادشده توسط کیندلینگ در اثر پنتیلن تترازول مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: در این تحقیق ۲۳ موش به سه گروه بطور تصادفی تقسیم بندی شدند. در گروه کنترل مایع مغزی نخاعی مصنوعی به شکل دو طرفه به داخل هیپوکمپ تزریق شد. در گروه کیندل شده بیست دقیقه پس از تزریق مایع مغزی نخاعی مصنوعی برای ایجاد کیندلینگ پنتیلن تترازول با غلظت ۳۷/۵ mg/kg، به شکل داخل صفاقی تزریق می شد. در گروه وراپامیل یا گروه آزمون داروی وراپامیل (۴ μg/۴ min) محلول در مایع مغزی نخاعی مصنوعی به داخل هیپوکمپ تزریق شده و پس از ۲۰ دقیقه به منظور ایجاد کیندلینگ شیمیایی پنتیلن تترازول با ۳۷/۵ mg/kg، به شکل داخل صفاقی به موشها تزریق شد. پس از تزریق دارو رفتارهای حیوان به مدت ۲۰ دقیقه تحت نظر گرفته شده و پاسخهای تشنجی بر اساس معیار پنج رتبه ای طبقه بندی گردید. یک ماه پس از ایجاد کیندلینگ میزان یادگیری فضایی حیوانات هر سه گروه در ماز آبی موریس مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: وراپامیل به شکل معنی داری سبب افزایش اختلال یادگیری در موشهای کیندل شده گردید.

نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد که تزریق داخل هیپوکمپی وراپامیل، به شکل معنی داری سبب کاهش یادگیری فضایی می گردد.

کلید واژه ها: پنتیلن تترازول، کیندلینگ، وراپامیل، هیپوکمپ، یادگیری فضایی، ماز آبی موریس

وصول مقاله: ۸۳/۱۱/۲۵ اصلاح نهایی: ۸۴/۸/۲ پذیرش مقاله: ۸۴/۹/۹

مقدمه

صرع در واقع نوعی اختلال در عملکرد نورونهای مغزی می باشد که به صورت رفتارهای تشنجی دوره ای و غیر قابل پیش بینی در فرد بروز پیدا می کند.

مشاهدات بالینی نشان داده است که بیماران صرعی اغلب نواقصی را در حافظه و یادگیری از خود نشان می دهند (۲). اما به دلیل عدم شناخت کافی از آسیب زایی (پاتوژنز) این بیماری تا کنون راهی قطعی

لغت صرع^۱ معرفی عمومی برای نشان دادن گروهی از بیماریهای سیستم اعصاب مرکزی^۲ است که در مجموع به وسیله حملات متناوب حرکتی، حسی، اتونومیک و یا روانی مشخص می گردند. این بیماری یکی از اختلالات رایج عصبی است که توسط عوامل مختلفی از قبیل آسیبها و ضربات مغزی، استعمال بی رویه داروها، عفونت و یا نواقص ژنتیکی ایجاد می شود (۱).

1- epilepsy

2 - central nervous system

حافظه اثر می‌گذارد؟ از هسته‌های مهم مغزی در گیر در یادگیری فضایی می‌توان به هیپوکمپ اشاره نمود (۱۶). نشان داده شده است که تخریب هیپوکمپ سبب نارسایی در یادگیری فضایی در حیوانات می‌گردد (۱۷). به این ترتیب به نظر می‌رسد که از جایگاه‌های مهمی که وراپامیل با اثر بر آن می‌تواند سبب تغییر در میزان یادگیری گردد هیپوکمپ است. هدف از انجام این تحقیق نیز یافتن جوابی برای این پرسش است که آیا وراپامیل با اثر بر روی هیپوکمپ می‌تواند سبب تغییر میزان اختلال یادگیری ایجاد شده توسط کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن ترازول گردد؟

روش بررسی

حیوانات تحت آزمایش

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر نژاد wistar (تهیه شده از انستیتو پاستور تهران) با وزن بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در اتاقی با حرارت ۲۴ درجه سانتیگراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند و آب و غذا به طور آزاد در اختیار آنها قرار داشت. کل حیوانات به سه گروه بطور تصادفی تقسیم شدند ۱- کنترل (n=۷) ۲- کیندل شده (n=۸) ۳- حیوانات کیندلی (n=۸) که قبل از تزریق پنتیلن ترازول، وراپامیل به شکل داخل هیپوکمپی به آنها تزریق گردیده بود. یک ماه پس از پایان کیندلینگ در این حیوانات آزمایشهای رفتاری به عمل آمد.

جهت انجام جراحی ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین و رامپون بیهوش گردیده و در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. برشی در پوست سر در بخش میانی و به صورت میانی خلفی ایجاد شد. مطابق اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۸)، کانولهای هادی در

جهت درمان و یا کاهش عوارض جانبی این بیماری یافت نشده است.

تحقیقات بر روی مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع نیز نشان داده است که به دنبال کیندلینگ الکتریکی (۳) و کیندلینگ شیمیایی (۴) فرایند یادگیری نارسا می‌گردد. بدین ترتیب ارتباط میان صرع، هیپوکمپ و یادگیری توجه زیادی را به خود جلب کرده و مطالعه هیپوکمپ جهت بررسی چگونگی نقش آن در صرع، حافظه و یادگیری در تمام سطوح در حال انجام است.

از جمله داروهایی که امروزه تحقیقات فراوانی در زمینه نقش آن در درمان صرع انجام می‌گیرد، آنتاگونیست‌های کانالهای کلسیمی حساس به ولتاژ هستند. اثرات ضد تشنجی این داروها بر روی مدل‌های مختلف صرعی نشان داده شده است (۵-۸). همچنین نشان داده شده است که به دنبال صرع در ساختمان و تعداد این کانالها تغییراتی ایجاد می‌گردد (۹،۸). نشان داده شده است که پنتیلن ترازول از سد خونی مغز عبور می‌کند (۱۰) و با اثر بر روی کانالهای کلری و تغییر ساختمان آنها در نورونها سبب ایجاد اثرات تحریکی و اختلالات یادگیری بر روی بافت مغزی می‌گردد (۱۱،۱۲). از طرف دیگر نشان داده شده است که آنتاگونیست‌های کانالهای کلسیمی نوع L با مهار کانالهای کلسیمی و کاهش فعالیتهای تحریکی نورونها اثر تشنج‌زای پنتیلن ترازول را مهار می‌کنند (۱۳ و ۱۴).

تحقیقات نشان داده است که تزریق داخل صفاقی وراپامیل می‌تواند سبب کاهش اختلال یادگیری ایجاد شده در اثر کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن ترازول گردد (۱۵). با این حال جای این سؤال باقی است که وراپامیل با اثر بر کدامیک از هسته‌های مغزی بر روی یادگیری و

گرفت. در گروه دوم (گروه با تزریق داخل هیپوکمپی وراپامیل $n=8$) جراحی همانند حیوانات گروه اول انجام شد ولی در این حیوانات وراپامیل محلول در ACSF به مقدار ۴ میکرو گرم در حجم یک میکرو لیتر و در مدت چهار دقیقه به شکل دو طرفه به داخل هیپوکمپ آنها تزریق شد.

تزریق وراپامیل و ایجاد کیندلینگ در حیوانات

به منظور بررسی تأثیر وراپامیل بر روی روند ایجاد کیندلینگ شیمیایی با PTZ، هر ۴۸ ساعت یکبار در ابتدا مایع مغزی نخاعی مصنوعی (در گروه کنترل) و یا وراپامیل محلول در مایع مغزی نخاعی مصنوعی (در گروه آزمون) با غلظت ۴ میکرو گرم و به مقدار ۱ میکرو لیتر در عرض ۴ دقیقه به داخل ناحیه CA_1 هیپوکمپ پستی تزریق شده. پس از ۲۰ دقیقه، PTZ ($37/5 \text{ mg/kg}$)، داخل صفاقی) به موشها تزریق شد. پس از تزریق PTZ رفتارهای حیوان برای مدت ۲۰ دقیقه تحت نظر گرفته شده و پاسخهای تشنجی حیوان بر اساس تحقیقات قبلی (۲۰) به شکل زیر طبقه بندی شدند: مرحله ۰=عدم پاسخ، مرحله اول=انقباض عضلات صورت و گوشها؛ مرحله دوم=موج انقباضی بدن؛ مرحله سوم= پرشهای میوکلونیک و ایستادن روی دو پا؛ مرحله چهارم=افتادن به پهلو و مرحله پنجم=افتادن به پشت و حملات عمومی تونیک و کلونیک. فعالیتهای تشنجی در طول بیست دقیقه پس از تزریق PTZ ارزیابی شد. در گروه کنترل پس از اولین تزریق بعضی از موشها مراحل اول و یا دوم تشنج را از خود نشان دادند، با ادامه تزریقات بتدریج واکنش تشنج در موشها پیشرفت کرد و پس از ۱۲ تا ۱۵ بار تزریق دارو تمام موشها مرحله پنجم تشنج را از خود نشان دادند.

نواحی CA_1 هیپوکمپ پستی راست و چپ با مختصات $3/6$ میلی متر به سمت عقب و $2/3$ میلی متر به سمت راست و چپ نسبت به برگما و $2/2$ میلی متر زیر سخت شامه) کار گذاشته شدند. پس از کارگذاری کانولها به وسیله سیمان دندانپزشکی روی سطح مجسمه ثابت گردیدند.

تزریق داخل هیپوکمپی وراپامیل

برای تهیه دارو از مایع مغزی نخاعی مصنوعی (ACSF) به عنوان حلال استفاده گردید. ترکیبات تشکیل دهنده ACSF و مقادیر آنها بر حسب میلی مولار عبارت بودند از: $NaCl$ (۱۱۴)، NaH_2PO_4 (۱۰۲۵)، Mg_2O_4 (۲)، $CaCl_2$ (۱)، $NaHCO_3$ (۲۶) و گلوکز (۱۰). PH محلول حاصل در محدوده $7/3$ تا $7/4$ تنظیم شد. محلولهای حاصله قبل از تزریق با عبور دادن از میکروفیلتر ($0.2 \mu m$) استریل می شدند. با استفاده از یک سر سوزن $G 30$ به عنوان کانول تزریقی و با کمک یک لوله پلی اتیلنی متصل به سرنگ همیلتون مقدار یک میکرو لیتر از محلول در عرض ۴ دقیقه به داخل ناحیه CA_1 هیپوکمپ تزریق می شد (۱۹).

ایجاد کیندلینگ در حیوانات

حیوانات به سه گروه تقسیم شدند. در حیوانات گروه اول یا گروه کنترل (گروه با تزریق داخل هیپوکمپی مایع مغزی نخاعی مصنوعی $n=7$ ACSF) جراحی و کانول گذاری انجام گرفت. در این حیوانات مایع مغزی نخاعی مصنوعی به شکل دو طرفه به داخل هیپوکمپ تزریق شد. در گروه دوم یا گروه کیندل شده ($n=8$) تزریق مایع مغزی نخاعی همانند گروه اول انجام گرفت با این تفاوت که ۲۰ دقیقه پس از هر بار تزریق مایع مغزی نخاعی مصنوعی با تزریق داخل صفاقی پنتیلن تترازول عمل کیندلینگ بر روی حیوانات انجام

پس از اتمام آزمایشها برای تعیین محل کانول، هر حیوان بوسیله اتر بیهوش شده و از تزریق کانولها ۱ میکرولیتر آبی متیل به درون مغز تزریق گردید. سپس مغز حیوان خارج شده و در داخل فرمالین قرار می گرفت و از مغز برش گیری می شد تا محل دقیق کانولها مشخص گردد. پس از بررسی بافت شناسی، نتایج مربوط به حیواناتی که محل کارگذاری کانول آنها صحیح نبود حذف گردید.

آزمایشهای رفتاری ساختمان ماز آبی

به منظور بررسی تأثیر وراپامیل بر روی روند یادگیری فضایی حیوانات در ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفتند. ماز آبی از یک مخزن آب استوانه‌ای سیاه رنگ (به قطر ۱۴۰ سانتی متر و ارتفاع ۶۰ سانتی متر) تشکیل شده است که تا ارتفاع ۳۲/۵ سانتی متری از آب پر شده است. دمای آب هم دمای اتاق آزمایشگاه بوده و برابر با ۳۲ درجه سانتی گراد بود. یک سکوی قابل تغییر به ارتفاع ۳۰ سانتی متر (پایه پایینی که در کف استخر قرار می گرفت ۳۰ سانتی متر و پایه بالایی که محل قرارگیری موش بود ۱۰ سانتی متر قطر داشت) و به رنگ سیاه در یک جایگاه مشخص از استخر قرار داده می شد. به شکلی که به اندازه ۲/۵ سانتی متر زیر آب قرار می گرفت. استخر در اتاقی قرار گرفته بود که اشکالی در خارج از ماز بر روی دیوار آن نسب بود و در هنگام آزمایش شخص آزمایش کننده همیشه در یک جا می ایستاد. در طول آزمایشها حرکات حیوان توسط دوربین و یوتوبی که درست در بالای ماز قرار داشت ثبت می شد (۲۱).

چگونگی انجام آزمایشها در ماز آبی

کل آزمایشها، شامل چهار روز آموزش و یک روز آزمون بود. در هر روز، آموزش شامل چهار بار رها کردن حیوان در ماز آبی بود. برای انجام این کار ماز به چهار قسمت مساوی تقسیم شد. به این ترتیب در اطراف ماز چهار نقطه شمال، جنوب، مغرب و مشرق ایجاد می شد، که در هر بار رها کردن حیوان در آب، موش از یکی از این نقاط به داخل آب رها می شد. این نقاط به شکل اتفاقی انتخاب می شدند با این نکته که در هر روز از هر چهار نقطه A, B, C, D جهت رها کردن موشها به داخل استخر استفاده می شد. در ابتدای آزمایش موش به مدت ۱۰ ثانیه بر روی سکو قرار داده می شد. سپس آن را از استخر خارج کرده و پس از یک دقیقه از یکی از نقاط مورد نظر در استخر رها می گردید. موش ۶۰ ثانیه برای پیدا کردن سکو وقت داشت اگر در این مدت سکو را پیدا می کرد به موش اجازه داده می شد تا ۱۰ ثانیه بر روی سکو قرار گیرد و اگر در این مدت ۶۰ ثانیه حیوان قادر به پیدا کردن سکو نبود به آرامی با دست به طرف سکو راهنمایی می شد. پس از پیدا کردن سکو به او اجازه داده می شد تا ۱۰ ثانیه بر روی سکو قرار گیرد و سپس از استخر خارج می شد. در پایان آزمایشها در هر روز حیوان به آرامی توسط حوله خشک شده و به قفس برگردانده می شد. به این ترتیب می توان گفت که ماز آبی شامل چند قسمت است. ۱- موش باید در ابتدا به این مفهوم که سکو در داخل آب قرار دارد و بنا بر این امکان فرار از آب وجود دارد پی ببرد. ۲- با پیدا کردن سکو حیوان باید جایگاه آنرا در حافظه کوتاه مدت خود حفظ کرده به این ترتیب حیوان قادر خواهد بود تا در تلاشهای بعدی در همان روز جایگاه سکو را به خاطر بسپارد. (working memory) همچنین حیوان قادر خواهد بود تا محل سکو را برای آزمایشهایی که

تحلیل متغیرهای دیگر از قبیل مدت زمان لازم برای پیدا کردن سکو و مقایسه میزان یادگیری در روزهای متوالی و مقایسه مدت زمانی که موش در منطقه هدف بسر می‌برد از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Tukey استفاده شد.

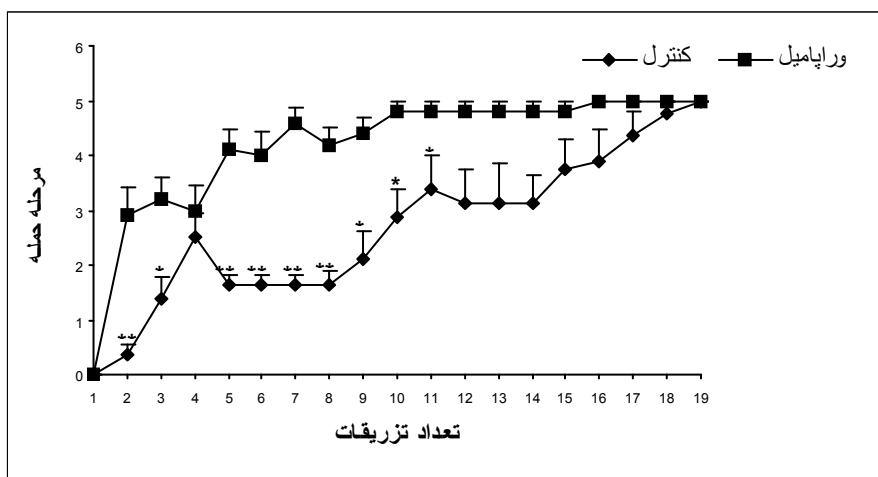
یافته‌ها

مقایسه تعداد تزریقات لازم برای رسیدن حیوانات به مرحله پنجم تشنج نشان داد که تعداد تحریکات لازم برای ایجاد مرحله پنجم تشنج در حیواناتی که وراپامیل را به شکل داخل هیپوکمپی دریافت کرده‌اند به شکل معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است ($p < 0.01$). آزمونها تفاوت معنی‌داری را بین گروه وراپامیل و گروه کنترل نشان دادند (نمودار ۱).

در روزهای آینده انجام می‌گرفت به خاطر بسپارد (reference memory). در روز پنجم سکو را از داخل استخر خارج کرده و هر کدام از حیوانات را نقطه B به داخل استخر گذاشته شد. در مدت ۶۰ ثانیه حضور حیوان در استخر مدت زمانی را که حیوان در هر ۱۵ ثانیه در یک چهارم هدف (یک چهارم از استخر که سکو در آن قرار داشت) شنا می‌کرد اندازه‌گیری می‌شد. این زمان نشان دهنده میزان حافظه فرانس در حیوانات است (۲۱).

روشهای آماری

نتایج حاصل به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین ارائه گردیده است. در این تحقیق برای مقایسه تعداد تحریکات لازم برای رسیدن حیوانات به مرحله پنج تشنج از آزمون Kruskal-wallis و به دنبال آن از آزمون U Mann-Whitney استفاده شد. برای تجزیه و



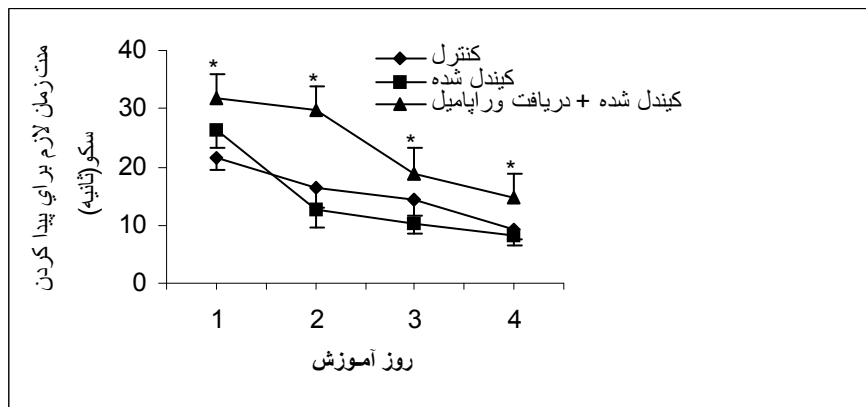
نمودار ۱: اثر تزریق داخل هیپوکمپی مایع مغزی نخاعی و وراپامیل بر روی مرحله حمله

گروهی که به جای وراپامیل حلال آن یعنی مایع مغزی نخاعی مصنوعی ACSF و گروهی که کیندل نشده بودند نشان داد که تزریق داخل هیپوکمپی وراپامیل به

مقایسه توانایی یادگیری حیوانات در گروهی از موشها که در آنها وراپامیل قبل از تزریق پنتیلن ترازول به شکل داخل هیپوکمپی به آنها تزریق شده بود با

معنی داری کاهش می یابد. مقایسه گروه ها با آزمون Tukey نشان داد که زمان لازم برای پیدا کردن سکو در موشهایی که وراپامیل را دریافت کرده اند به شکل معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل و حیوانات کیندل شده ای که ACSF را دریافت کرده اند بیشتر است (نمودار ۲).

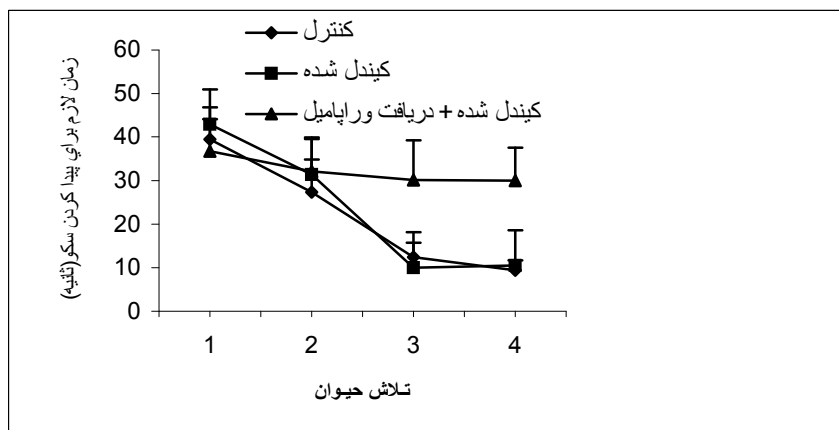
شکل معنی داری یادگیری فضایی را در این حیوانات کاهش می دهد. نمودار ۱ نشان دهنده متوسط زمان لازم برای پیدا کردن سکو در هر سه گروه مورد آزمون در چهار روز آموزش را، نشان می دهد. آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که در هر گروه زمان لازم برای پیدا کردن سکو با افزایش تعداد روزهای تمرین به شکل



نمودار ۲: مدت زمان لازم برای پیدا کردن سکو در موشهای تحت مطالعه

بین زمان لازم برای پیدا کردن سکو در تلاش اول و سوم و چهارم اختلاف معنی داری وجود دارد. این زمانها در موشهایی که وراپامیل را قبل از تزریق پنتیلن ترازول دریافت کرده بودند با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند که نشان دهنده کاهش میزان حافظه working در این موشها بود (نمودار ۳).

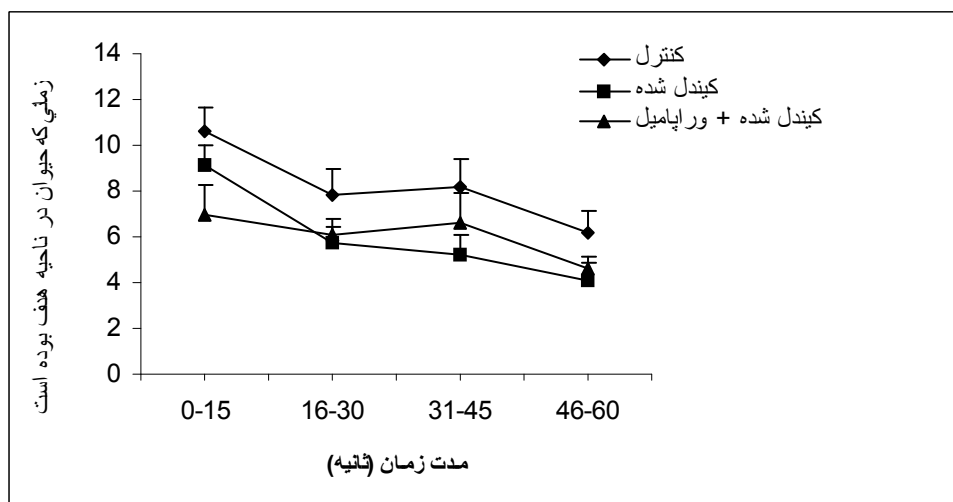
مقایسه توانایی موشها برای یادگیری موقعیت سکو در تلاشهای مختلف در یک روز نشان داده که زمان لازم برای پیدا کردن سکو با تلاشهای دوم و سوم در گروه های کنترل و کیندل به شکل معنی داری کاهش پیدا می کند. آنالیز داده ها نشان داده که در این دو گروه



نمودار ۳: مقایسه میزان یادگیری حیوانات در سه گروه مورد مطالعه

زمان کمتری را در منطقه هدف نسبت به دو گروه قبلی شنا می‌کردند ولی آنالیز داده‌ها اختلاف معنی‌داری را بین سه گروه نشان نداد.

(نمودار ۴) مدت زمانی را که موشهای مورد مطالعه در یک چهارم هدف، در چهار ثانیه متوالی شنا می‌کنند نشان می‌دهد. اگرچه موشهای گروه وراپامیل مدت



نمودار ۴: زمانی که موشهای مورد مطالعه در یک چهارم هدف (یک چهارمی که سکو قبلاً در داخل آن قرار داشته است) در چهار ۱۵ ثانیه متوالی شنا می‌کرده

بحث

از طرف دیگر، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در آزمون probe trial اختلاف معنی‌داری بین موشها در سه گروه وجود نداشت. این موضوع نشان می‌دهد که در دراز مدت پس از کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول اختلالی در حافظه reference که بستگی به مناطقی از مغز غیر از هیپوکمپ دارد (۲۴ و ۲۳) بوجود نیامده است.

وراپامیل از جمله داروهایی است که تحقیقات وسیعی در مورد نقش آن در حافظه و یادگیری انجام گرفته است (۲۵ و ۱۴ و ۱۳). در تحقیقاتی که تا کنون انجام شده، وراپامیل و یا دیگر آنتاگونیست‌های کانال‌های کلسیمی به شکل داخل صفاقی تزریق شده‌اند (۶ و ۱۴ و ۱۳ و ۲۵) بنابراین وراپامیل بر روی کل مغز اثر داشته

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که تزریق وراپامیل به داخل ناحیه CA1 هیپوکمپ پستی موشهای صحرائی سبب کاهش میزان یادگیری فضایی آنها در ماز آبی موریس می‌گردد.

همانگونه که در نتایج آمده است، میزان حافظه working در گروهی از حیوانات که وراپامیل به شکل داخل هیپوکمپی به آنها تزریق شده، مختل شده بود. تحقیقات نشان داده است که حافظه working با از دست رفتن عملکرد هیپوکمپ از بین می‌رود (۲۲). بدین ترتیب به نظر می‌رسد که تزریق داخل هیپوکمپی وراپامیل نه تنها به حفاظت از مدارهای هیپوکمپ در برابر حملات تشنجی کمکی نکرده، بلکه این تزریق سبب اختلال ماندگاری در عملکرد نورونهای هیپوکمپ می‌گردد.

میکرولیتر در مدت چهار دقیقه) قادر به انتشار از داخل هیپوکمپ و رسیدن به بافت‌های دیگر مغز نیست (۲۷). به این ترتیب به نظر می‌رسد که بر خلاف یافته‌هایی که وراپامیل را به شکل داخل صفاقی تزریق کرده‌اند، تزریق داخل هیپوکمپی وراپامیل میزان اختلال یادگیری را تشدید می‌کند. بنابراین به نظر می‌رسد که در این زمینه باید تحقیقات بیشتری صورت گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد که از این معاونت تشکر به عمل می‌آید.

است. در این تحقیقات وراپامیل اکثراً توانسته است که سبب بهبود یادگیری و یا جلوگیری از اختلال یادگیری در انواع مختلفی از مدل‌های یادگیری گردد. اگر چه برخی از تحقیقات نیز گزارش کرده‌اند که بر خلاف دیگر آنتاگونیست‌های کانال‌های کلسیمی، تزریق داخل صفاقی وراپامیل اثری بر روی یادگیری ندارد (۲۶). با این حال در مورد نقش کانال‌های کلسیمی موجود در هیپوکمپ در شرایط *in vivo* در یادگیری و تزریق داخل هیپوکمپی وراپامیل تحقیقات اندکی صورت گرفته است. در این تحقیق وراپامیل به شکل موضعی و دو طرفه به داخل هیپوکمپ‌ها تزریق شده است. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که این حجم از دارو (یک

References

1. Rall TW, Shleifer LS. Drugs effective in the therapy of the epilepsies, In Goodman A, Rall TW, Nies AS, and Taylor P, (Eds). The pharmacological Basis of therapeutica, pergmon press, New York, 1991; 436-462.
2. Holmes GL, The long-term effects of seizures on the developing brain: clinical and laboratory issues. *Brain Dev.* 1991; 13: 393-409.
3. McNanara RK, Kirkuy RD, Depape GE, Skelton RW, Corcoran ME. Differential effects of kindling and kindled seizures on place learning in the morris water maze Hippocampus. 1993; 3: 123-125.
4. Gilbert ME, Cain DP. A single neonatal pentylenetetrazol or hyperthermia convulsion increases kindling susceptibility in adult rat. *Developmental Brain Res.* 1985; 22: 169-180.
5. Kryzhanovskii GN, Karpoua MN Pankov OI. Effects of organic calcium antagonists and magnesium on the development of corazol kindling. *Biull Eksp Med.*, 1990; 110: 348-350.
6. Kohling R, Straub H, Speckmann E. Diferential involvement of L-type calcium channels in epileptogenesis of rat hippocampal slices during ontogenesis. *Neurobiol Dis.* 2000; 7: 471-482.
7. Ikegaya Y, Nishiyama N, Matsuki N. L type (Ca^{2+}) channel blocker inhibits mossy fiber sprouting and cognitive deficits following pilocarpine seizures in immature mice. *Neuroscience.* 2000; 98: 647-659.
8. Blalock EM, Chen KC, Vanaman TC, Landfield PW, Slevin JT. Epilepsy-induced decrease of L-type Ca^{2+} channel activity and coordinate regulation of subunit mRNA in single neurons of rat hippocampal 'zipper' slices. *Epilepsy Res.* 2001; 43: 211-26.
9. Hendriksen H, Kamphuis W, Lopes da Silva FH. Changes in voltage-dependent calcium channel alpha1-subunit mRNA levels in the kindling model of pileptogenesis. *Brain Res Mol Brain Res.* 1997; 50:257-66.
10. Moriki Y, Suzuki T, Furuishi T, Fukami T, Tomono K, Watanabe J. In vivo evidence for the efflux transport of pentazocine from the brain across the blood-brain barrier using the brain efflux index method. *J Drug Target.* 2005; 13:53-9.
11. Psarropoulou C, Matsokis N, Angeatou F. and Kostopoulos G. pentylenetetrazol-induced seizures decrease γ -aminobutyric acid-mediated recurrent inhibition and enhance adenosine-mediated depression. *Epilepsia.* 1994; 35:12-19.

12. Macdonald R, Barker J. Pentylentetrazol and penicillin are selective antagonists of GABA-mediated post-synaptic inhibition in cultured mammalian neurons. *Nature*. 1997; 267: 270-271.
13. Mack CM, Gilbert ME. An examination of the anticonvulsant properties of voltage-sensitive calcium channel inhibitors in amygdala kindled seizures. *Psychopharmacology (Berl)*. 1992; 106:365-9.
14. Wurlpel JN, Iyer SN. Calcium channel blockers verapamil and nimodipine inhibit kindling in adult and immature rats. *Epilepsia*. 1994; 35:443-9.
15. Hassan H, Grecksch G, Ruthrich H, Krug M. Effects of nicordipine, an antagonist of L-type voltage-dependent calcium channels on kindling development, kindling-induced learning deficits and hippocampal potentiation phenomena. *Neuropharmacology*, 1999; 38:1841-1850.
16. Preston AR and Garieli JDE. Different function for different medial temporal lobe structures. learning and memory. 2002; 9: 215-217.
17. Drapeau E, Mayo W, Aurousseau C, Moal M, Piazza PV, Abrous DN. Spatial memory performance of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *PNAS*. 2003; 25: 14385-14390.
18. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press. Orlando. 1986.
19. Alasvand Zarasvand M, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Palizvan MR. Anticonvulsant effect of bilateral injection of N6-cyclohexyladenosine into the CA₁ region of the hippocampus in amygdala-kindled rats. *Epilepsy Res* 2001; 47: 141-49.
20. Zhao D, Leung LS, Boon F, Cain DP. persistent physiological effects caused by a single pentylentetrazol induced seizure in neonatal rats. *Brain Res Dev. Brain Res*. 1994; 80:190-198.
21. Anisman H, McIntyre DC. Conceptual, spatial, and cue learning in the morris water maze in fast or slow kindling rats: attention deficit comorbidity. *The J. Neurosci*. 2002; 22:7809-7817.
22. Bohbot V, Otahal P, Liu Z, Nadel L, Bures J. Electroconvulsive shock and lidocaine reveal rapid consolidation of spatial working memory in the water maze. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93(9): 4016-9.
23. Kitajima I, Yamamoto T, Ohno M, Ueki S. Working and reference memory in rats in the three-panel runway task following dorsal hippocampal lesions. *Jpn J Pharmacol*. 1992; 58: 175-83.
24. Olton DS. The function of septo-hippocampal connections in spatially organized behaviour. *Ciba Found Symp*. 1977; 3: 27-49.
25. Semnanian S, Fathollahi Y, Palizvan MR. Epileptogenic insult causes a shift in the form of long-term potentiation expression. *Neuroscience*. 2005; 134(2): 415-23.
26. Kamal JA, Nadig RS, Joseph T, and David J. Effect of calcium channel blockers on experimentally induced seizures in rats. *Indian J Exp Biol*. 1990; 28: 605-8.
27. Randich A and Aicher SA. Mudulatory substrates mediating antinociception produced by electrical stimulation of the vagus. *Brain Res*. 1988; 445: 68-76.