

اثرات ضد تشنجی ناشی از اعمال تحریکات الکتریکی با فرکانس پایین در ناحیه شکنج دنداندار بر روند اکتساب کیندلینگ آمیگدال در موش صحرایی

امیر شجاعی^{۱،۲}، وحید شبیانی^۱، خدیجه اسماعیل پور^۱، یاسر معصومی^۳، سید جواد میرنجفی زاده^۲

^۱ مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

^۲ گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

^۳ مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

نشانی نویسنده مسؤول: ۱- دکتر وحید شبیانی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان - کرمان - ایران

۲- امیر شجاعی، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

E-mail: amir_shojaei61@yahoo.com

وصول: ۹۲/۴/۲۷، اصلاح: ۹۲/۶/۱۰، پذیرش: ۹۲/۸/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: اخیراً تحریک با فرکانس پایین (LFS) به عنوان یکی از راه‌های ضد تشنجی در مورد سندرم‌های صرعی مقاوم به درمان از جمله صرع لوب گیجگاهی پیشنهاد شده است. تا کنون در اکثر مطالعات بالینی و تحقیقاتی ناحیه هدف برای اعمال LFS همان ناحیه کانون تشنج بوده است. با توجه به نقش ناحیه شکنج دنداندار در گسترش تشنجات سیستم لیمبیک، در این مطالعه تأثیر اعمال LFS به شکنج دنداندار بر تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای ایجاد کیندلینگ، در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با استفاده از دستگاه استریوتاکسی یک الکتروود سه قطبی در ناحیه قاعده‌ای - جانبی آمیگدال سمت راست و یک الکتروود دو قطبی در ناحیه شکنج دنداندار در همان طرف قرار داده شد. پس از یک دوره بهبودی ده روزه، حیوانات در دو گروه قرار گرفتند. حیوانات گروه کیندل (n=6)، تحریکات کیندلینگ را به صورت روزانه دریافت می‌کردند تا زمانی که مرحله ۵ تشنج را نشان دهند. در حیوانات گروه کیندل+LFS (n=6) روزانه یک دقیقه پس از پایان تحریکات کیندلینگ، تحریکات LFS به ناحیه شکنج دنداندار اعمال می‌شد. تأثیر LFS بر مراحل رفتاری تشنج‌ها و مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در دو گروه با استفاده از آزمون ناپارامتری Kruskal Walllis و آزمون ANOVA دو طرفه از نوع Repeated Measures با هم مقایسه گردید و $p < 0.05$ به عنوان حداقل سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: مدت زمان لازم برای کیندل شدن حیوانات گروه کیندل ۱۲ روز بود، اما حیوانات گروه کیندل+LFS پس از گذشت ۱۲ روز فقط تا مرحله ۲ تشنج رسیدند. اعمال تحریکات LFS در مقایسه با گروه کیندل، به طور معنی‌داری از پیشرفت مراحل رفتاری تشنج و افزایش مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در طی روند کیندلینگ جلوگیری کرد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که اعمال LFS به ناحیه شکنج دنداندار می‌تواند یک راه مؤثر برای کنترل تشنجات ناشی از کیندلینگ باشد و شواهد بیشتری فراهم می‌کند که نشان می‌دهد علاوه بر کانون تشنج، اعمال LFS به نواحی دخیل در انتشار تشنج نیز می‌تواند اثر ضد تشنجی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: تشنج، تحریک الکتریکی با فرکانس پایین، شکنج دنداندار، آمیگدال

مقدمه

صرع مجموعه‌ای از اختلالات عصبی مزمن می‌باشد که با تخلیه‌های ناگهانی و همزمان مجموعه‌ای از نوروها مشخص می‌گردد (۱). صرع لوب گیجگاهی شایع‌ترین اختلال صرعی در بالغین است؛ به طوری که ۵۵ درصد افراد بالغ مبتلا به صرع، از این نوع اختلال رنج می‌برند. این بیماری همچنین در مقایسه با سایر اختلالات صرعی، به درمان دارویی مقاوم‌تر است (۲)، از این رو پیدا کردن راه‌های درمانی مؤثرتر به‌عنوان جایگزین برای درمان دارویی در مورد این نوع از اختلال صرعی، به عنوان یکی از اولویت‌های تحقیق بایستی مورد توجه قرار گیرد. یکی از روش‌های درمانی که در دو دهه‌ی اخیر در مورد بیماران صرعی مقاوم به درمان مورد توجه قرار گرفته است، تحریک عمقی مغز است که در آن پالس‌های الکتریکی با شدت و فرکانس مشخص به طور مستقیم به ناحیه خاصی از بافت عصبی مغز اعمال می‌گردند (۳). تاکنون برای تحریک الکتریکی، عمدتاً از فرکانس‌های بالا (معمولاً بین ۵۰ تا ۲۰۰ هرتز) استفاده شده است که باعث کاهش میزان وقوع تشنج‌ها و اسپایک‌های بین حمله‌ای (Interictal spike) می‌شود (۳)، اما بسیاری از تحقیقات نیز نشان داده‌اند که اعمال تحریک الکتریکی با فرکانس پایین (LFS) نیز می‌تواند نقش مهمی در کاهش فعالیت‌های نورونی داشته باشد (۴،۵). علاوه بر آن، تحریک با فرکانس پایین به دلیل آسیب بافتی ناچیز و مصرف انرژی کم و اثرات درمانی طولانی‌تر نسبت به تحریک الکتریکی با فرکانس بالا، می‌تواند جایگزین خوبی در درمان صرع باشد. تاکنون در اکثر مطالعات آزمایشگاهی و بالینی، همان ناحیه مغزی که کانون تشنج در آن قرار دارد، برای اعمال LFS در نظر گرفته شده است؛ لذا با توجه به نحوه مداربندی مغز و نقشی که سایر نواحی مغزی در عمومی شدن تشنجات دارند، این فرضیه مطرح می‌شود که ممکن است اعمال LFS برای نواحی دیگری غیر از ناحیه کانون تشنج، اثر ضد تشنجی داشته باشد.

یکی از رایج‌ترین مدل‌های حیوانی برای مطالعه صرع لوب گیجگاهی، مدل صرعی کیندلینگ است که به صورت توسعه‌ی پیش‌شونده تشنج‌های رفتاری و الکتروانسفالوگرافیک در پاسخ به کاربرد مکرر یک عامل تشنج‌زا با شدت پایین تعریف می‌شود (۶). برای ایجاد این مدل، تحریکات الکتریکی ضعیف (زیر آستانه) با شدت، فرکانس، طول مدت معین و با فواصل زمانی مشخص بر روی منطقه حساسی از مغز اعمال می‌شوند (۶) که با اعمال تحریکات اولیه، تخلیه‌های متعاقب در محل تحریک قابل ثبت است اما رفتار تشنجی آشکاری وجود نخواهد داشت. با ادامه تحریکات الکتریکی در فواصل منظم، به تدریج زمان و دامنه امواج تخلیه متعاقب افزایش می‌یابد و علایم رفتاری تشنج ظاهر می‌گردد (۶). ناحیه آمیگدال که به عنوان کانون تشنج در بسیاری از بیماران مبتلا به صرع لوب گیجگاهی عمل می‌کند، یکی از رایج‌ترین نواحی برای اعمال تحریکات کیندلینگ نیز محسوب می‌شود. این هسته همچنین به دلیل داشتن مقادیر زیاد گلوتامات و ارتباطات گسترده با هسته قاعده‌ای - جانبی نیمکره مخالف، نقش مهمی در انتشار حملات صرعی به نیمکره مخالف دارد (۷). مشاهده شده است در برخی از افراد مبتلا به صرع لوب گیجگاهی مقاوم دارو، تخریب جسم آمیگدال توسط عمل جراحی، موجب از بین رفتن حملات تشنجی و یا کاهش قابل ملاحظه‌ای در شدت آنها می‌شود (۸). حساسیت هسته‌های مختلف آمیگدال برای ایجاد تشنج متفاوت است و از میان آنها هسته قاعده‌ای - جانبی، استعداد بیشتری برای ایجاد تشنج دارد (۷).

مطالعات قبلی نشان داده است که ارتباط دوطرفه آمیگدال و هیپوکمپ نقش مهمی در گسترش امواج تشنجی از این ناحیه به سایر نقاط مغز دارد (۹). شکنج دندانه‌دار بخشی از تشکیلات هیپوکمپ است که در انتقال اطلاعات از قشر انتوراینال به هیپوکمپ از طریق مسیر پرفورنت (که مهم‌ترین مسیر ورودی به هیپوکمپ

محسوب می‌شود)، حکم دروازه را دارد. شکنج دنداندار عمدتاً ساختار مهاری دارد و نقش مهمی را در کنترل تحریک پذیری سلول‌های ناحیه CA3 هیپوکمپ را بازی می‌کند؛ به طوری که به هم خوردن توازن میان تحریک و مهار (به نفع تحریک) در ناحیه شکنج دنداندار سبب بروز فعالیت صرعی شکل در ناحیه CA3 می‌گردد. این ناحیه همچنین در انتقال امواج تشنجی از قشر انتوراینال به هیپوکمپ همانند فیلتر عمل کرده و سبب جلوگیری از انتشار این امواج به درون هیپوکمپ می‌گردد (۱۰). نشان داده شده است که شکنج دنداندار همچنین در انتشار امواج تشنجی ناشی از کیندلینگ آمیگدال نقش مهمی دارد. علاوه بر آن این ناحیه یکی از مهم‌ترین نواحی است که در پاسخ به اعمال تحریکات کیندلینگ آمیگدال دستخوش تغییراتی همچون مرگ نورونی و بازآرایی آکسون‌ها می‌شود (۱۱).

با توجه به این که هنوز مطالعات کاملی در مورد بهترین محل آناتومیکی برای اعمال تحریکات LFS در بیماران مبتلا به صرع لوب گیجگاهی صورت نگرفته و با توجه به نقش مهم ناحیه شکنج دنداندار در ایجاد و گسترش تشنجات در این بیماران، مطالعه حاضر به بررسی اثرات ضد تشنجی ناشی از اعمال تحریک با فرکانس پایین به ناحیه شکنج دنداندار بر روند ایجاد تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال پرداخته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۹۰ تا ۳۲۰ گرم در شروع آزمایش‌ها استفاده شد. حیوانات در حیوان‌خانه با شرایط مناسب نور (۱۲ ساعت روشنایی-۱۲ ساعت تاریکی) و به صورت منفرد در قفس‌های جداگانه نگهداری می‌شدند به طوری که به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. در کلیه مراحل تحقیق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با پروتکل دانشگاه علوم پزشکی کرمان رعایت

گردید.

به‌منظور جراحی، حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و رامپون (۱۰ mg/kg) بی‌هوش و در دستگاه استریوتاکس قرار داده می‌شدند. یک الکتروود سه قطبی در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال در نیمکره راست (با مختصات ۲/۸- میلی‌متر قدامی- خلفی و ۴/۸ میلی‌متر جانبی نسبت به برگما و ۸/۶ میلی‌متر به سمت پایین نسبت به سخت‌شامه) و یک الکتروود دو قطبی در شکنج دنداندار همان طرف (با مختصات ۲/۸- میلی‌متر قدامی-خلفی و ۱/۸ میلی‌متر جانبی نسبت به برگما و ۲/۵ میلی‌متر به سمت پایین نسبت به سخت‌شامه) قرار می‌گرفت. برای تعیین مختصات ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال و ناحیه شکنج دنداندار از اطلس پاکسینوس استفاده شد (۱۲). الکتروودها از جنس فولاد ضد زنگ با پوشش تفلون و قطر ۱۲۷ میکرومتر (شرکت A. M. System آمریکا) انتخاب شدند که در تمام طولشان (بجز نوک) عایق بودند. دو الکتروود تک قطبی نیز به وسیله پیچ‌های متصل به آنها به سطح مجسمه در لوب پیشانی محکم شدند. در پایان کارگذاری لکتروودها نیز پین‌های متصل به آنها را در داخل سوکت مخابراتی قرار داده سپس سوکت مخابراتی با کمک سیمان دندانپزشکی به روی سر حیوان محکم گردید.

ده روز بعد از جراحی، به‌منظور اعمال تحریکات روزانه کیندلینگ به ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال، شدت آستانه ایجاد امواج تخلیه متعاقب برای هر حیوان تعیین می‌شد. برای تعیین شدت آستانه از حداقل شدت جریان الکتریکی که قادر به ایجاد امواج تخلیه متعاقب به مدت حداقل ۵ ثانیه بود، استفاده می‌شد. برای ایجاد موج تحریک از نرم‌افزار ساخت شرکت پرتو دانش (ScienceBeam، تهران) و ایزولاتور و واحد ثابت کننده جریان (WPI، ساخت آمریکا) استفاده گردید. تحریکات کیندلینگ به صورت امواج مربعی تک فازی با مدت پالس ۱ میلی ثانیه، فرکانس ۶۰ هرتز و به مدت ۲ ثانیه اعمال

یافته ها

میانگین شدت تحریکات آستانه برای ایجاد امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان امواج تخلیه متعاقب پس از اولین تحریک در دو گروه، تفاوت معنی داری نداشت. به عبارت دیگر استعداد ابتلا به حملات تشنجی در ابتدای آزمایش‌ها در هر دو گروه یکسان بود (جدول ۱). میانگین تعداد روزهای لازم برای رسیدن به مرحله ۵ تشنج در حیوانات گروه کیندل $LFS+LFS$ ، حیوانات فقط ۱۲ روز تحریکات کیندلینگ را دریافت کردند.

در بررسی تأثیر LFS بر مراحل رفتاری تشنج مشاهده گردید که اعمال تحریکات با فرکانس پایین به ناحیه شکنج دنداندار (در گروه کیندل $LFS+$)، پیشرفت مراحل رفتاری تشنج را در طی روند کیندلینگ به تعویق می‌اندازد؛ به طوری که در همه روزهای آزمایش (به غیر از روز اول) در مقایسه با گروه کیندل اختلاف معناداری مشاهده شد (شکل ۱). اعمال LFS هم از پیشرفت مراحل ۱ تا ۳ تشنج و هم از وقوع تشنجات عمومی (مراحل ۴ و ۵ تشنج) جلوگیری کرد. میانگین مراحل رفتاری تشنج در روز آخر در گروه کیندل $LFS+LFS$ $0/43 \pm 0/43$ بود. علاوه بر آن در روز آخر آزمایش (روز ۱۲)، همه حیوانات گروه کیندل تشنجات عمومی را نشان دادند اما در هیچ یک از حیوانات گروه کیندل $LFS+$ پس از ۱۲ روز اعمال تحریکات کیندلینگ، تشنجات عمومی مشاهده نگردید.

علاوه بر این، آزمون ANOVA دوطرفه نشان داد که اعمال تحریکات با فرکانس پایین به ناحیه شکنج دنداندار از افزایش مدت زمان ایجاد امواج تخلیه متعاقب در طی روند کیندلینگ نیز جلوگیری می‌کند، به طوری که در روزهای ۷ تا ۱۲ آزمایش اختلاف معناداری در این کمیت در مقایسه با گروه کیندل مشاهده شد (شکل ۲). درصد افزایش مدت زمان ایجاد امواج تخلیه متعاقب پس از ۱۲ روز در گروه کیندل $LFS+LFS$ $34/46 \pm 0/87$ و در گروه

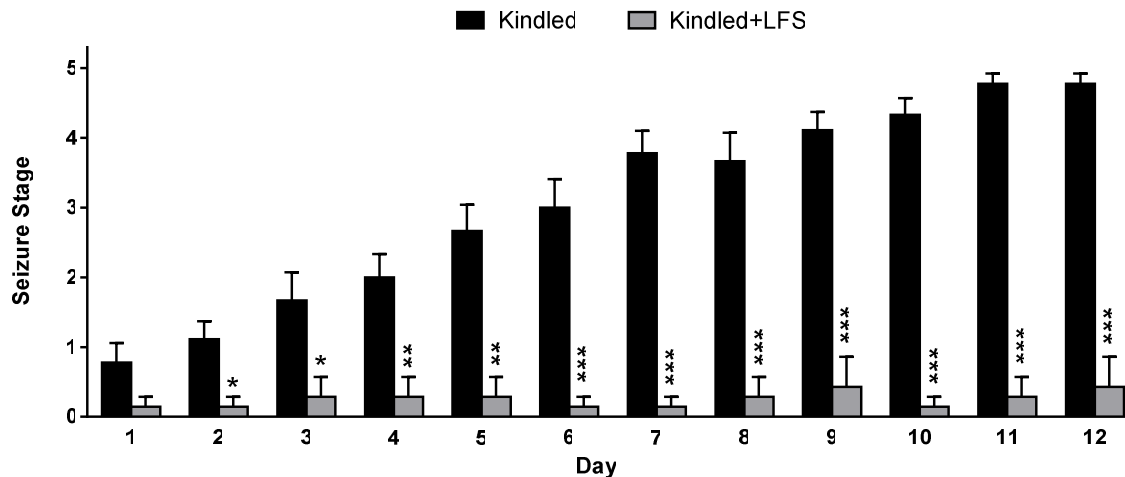
می‌شد. پس از تعیین آستانه ایجاد امواج تخلیه متعاقب، حیوانات در دو گروه ۶ تایی عبارتند از: گروه کیندل و گروه کیندل $LFS+$. قرار گرفتند. تحریکات کیندلینگ با شدت جریان آستانه، هر ۲۴ ساعت یک بار به ناحیه قاعده‌ای - جانبی آمیگدال اعمال می‌شد. در گروه کیندل این تحریکات تا زمان کیندل شدن حیوانات ادامه پیدا می‌کرد. در گروه کیندل $LFS+$ ، روزانه یک دقیقه بعد از اعمال تحریکات کیندلینگ به ناحیه قاعده‌ای - جانبی آمیگدال، تحریکات با فرکانس پایین نیز به صورت ۸ بسته تحریکی (هر بسته شامل ۲۰۰ پالس مربعی با فرکانس ۱ هرتز، مدت پالس ۰/۱ میلی ثانیه و شدتی برابر با شدت آستانه ایجاد امواج تخلیه متعاقب) هر ۵ دقیقه یک بار به ناحیه شکنج دنداندار اعمال می‌شد. در هر دو گروه پس از هر تحریک کیندلینگ، حداکثر مرحله تشنج (Seizure stage) و مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (Afterdischarge duration; ADD) مورد ارزیابی قرار گرفت. مراحل رفتاری تشنج بر اساس روش ریسین به صورت زیر تفهیم‌بندی می‌شوند (۱۳): مرحله یک، انقباضات عضلانی صورت؛ مرحله دوم، حرکت دادن سر به طرف بالا و پایین؛ مرحله سوم، کلونوس اندام جلویی؛ مرحله چهارم، ایستادن روی هر دو پا توام با کلونوس اندام جلویی و مرحله پنجم، ایستادن روی هر دو پا همراه با از دست دادن تعادل و زمین خوردن.

برای مقایسه شدت آستانه ایجاد امواج تخلیه متعاقب از آزمون t مستقل، برای مقایسه تأثیر LFS بر مرحله رفتاری تشنج‌ها از آزمون ناپارامتری Kruskal Wallis و آزمون متعاقب Dunns و برای مقایسه مدت زمان امواج تخلیه متعاقب از آزمون ANOVA دو طرفه از نوع Repeated Measures و آزمون متعاقب Bonferroni استفاده گردید. داده‌ها به صورت (میانگین \pm خطای معیار میانگین) ارائه و $p < 0/05$ به عنوان حداقل سطح معنادار بودن در نظر گرفته شد.

جدول ۱: میانگین شدت جریان آستانه برای ایجاد امواج تخلیه متعاقب در گروه‌های آزمایشی

مقدار p	گروه کیندل+LFS	گروه کیندل	آستانه ایجاد امواج تخلیه متعاقب (میکرو آمپر)
۰/۴۸	۱۴۴/۴±۳۱/۱۲	۱۶۷/۵±۲۸/۸۸	
۰/۲۱	۱۰/۲۹±۰/۷۵	۱۱/۸۷±۱/۴۸	مدت زمان امواج تخلیه متعاقب بعد از اولین تحریک (ثانیه)

آزمون t مستقل نشان داد که اختلاف معنی‌داری در این کمیت میان گروه‌های آزمایشی وجود ندارد.



شکل ۱. اثر تحریک با فرکانس پایین ناحیه شکنج دنداندار بر مرحله رفتاری تشنج‌ها در طی روند کیندلینگ آمیگدال. اعمال تحریکات کیندلینگ سبب پیشرفت مراحل رفتاری تشنجی می‌گردد اما اعمال تحریکات با فرکانس پایین در طی روند کیندلینگ به ناحیه شکنج دنداندار از پیشرفت مراحل رفتاری تشنج‌ها جلوگیری می‌کند. به طوری که در روزهای ۲ تا ۱۲ اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه کیندل مشاهده شد. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شده‌اند. * نشان دهنده $p < 0.05$ ، ** نشان دهنده $p < 0.01$ و *** نشان دهنده $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کیندل است (n=6).

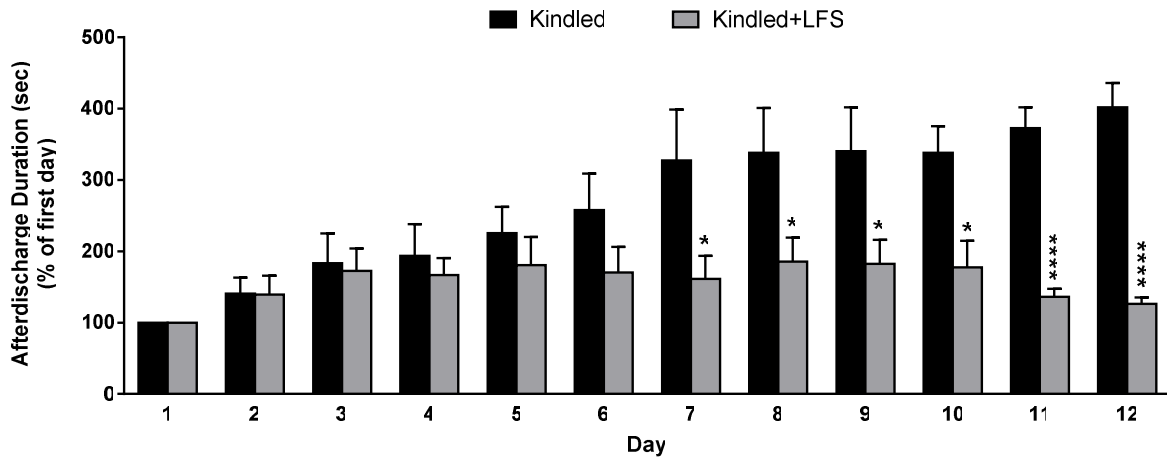
کیندل+LFS $126/44 \pm 8/71$ بود.

کاهش می‌دهد (۱۴). علاوه بر این با استفاده از مدل کیندلینگ نشان داده شده که اعمال LFS تعداد تحریکات لازم برای رسیدن به هر مرحله از تشنجات رفتاری را افزایش می‌دهد، آستانه ایجاد امواج تخلیه متعاقب را فزونی می‌بخشد و از افزایش مدت زمان ایجاد امواج تخلیه متعاقب در طی روند کیندلینگ جلوگیری می‌کند (۱۴، ۱۵). در اکثر مطالعات بالینی و آزمایشگاهی گذشته، ناحیه مغزی مورد هدف برای اعمال LFS همان ناحیه کانون تشنج بوده است. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که در طی پیشرفت تشنجات سیستم لیمبیک علاوه بر نورون‌های موجود در کانون تشنج (۱۶)، نورون‌های دیگری که دور از این ناحیه هستند و از لحاظ اتصالات سیناپسی در فرودست آن محسوب می‌شوند، فعالیتشان نقش مهمی در انتشار و عمومی شدن امواج تشنجی دارد (۵، ۱۳، ۱۷). یکی از نواحی مهمی که مشاهده شده در

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که اعمال LFS به شکنج دنداندار، روند کیندلینگ آمیگدال را به تعویق می‌اندازد. همچنین در ارزیابی مراحل رفتاری اعمال LFS از پیشرفت مراحل رفتاری تشنج جلوگیری می‌کند. LFS ناحیه شکنج دنداندار همچنین از افزایش مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (که ناشی از فعالیت همزمان نورون‌های ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال می‌باشند) در طی روند کیندلینگ ممانعت کرد.

تا کنون اثر ضد تشنجی LFS در مطالعات بالینی و آزمایشگاهی به خوبی نشان داده شده است. به عنوان مثال، اعمال LFS به طور مستقیم به کانون صرع در انسان اثرات ضد تشنجی دارد و تعداد اسپایک‌های بین حمله‌ای را



شکل ۲. اثر تحریک با فرکانس پایین ناحیه شکنج دنداندار بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در طی روند کیندلینگ آمیگدال. اعمال تحریکات کیندلینگ سبب افزایش مدت زمان ایجاد امواج تخلیه متعاقب می‌گردد. اعمال تحریکات با فرکانس پایین به ناحیه شکنج دنداندار از افزایش مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در طی روند کیندلینگ جلوگیری می‌کند به طوری که در روزهای ۷ تا ۱۲ اختلاف معناداری در مقایسه با گروه کیندل مشاهده شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند. * نشان دهنده $p < 0.05$, ** نشان دهنده $p < 0.01$, *** نشان دهنده $p < 0.001$ و **** نشان دهنده $p < 0.0001$ در مقایسه با گروه کیندل است ($n = 6$).

نشان دهنده ی آن است که علاوه بر ناحیه کانون تشنج، نواحی دیگری که دارای ارتباطات آناتومیک و فیزیولوژیک مستقیم یا غیر مستقیم با آن هستند نیز در فرآیند صعزایی دخالت دارند و اعمال LFS به این نواحی می‌تواند اثر ضد تشنجی داشته باشد. در مطالعه ما نیز LFS شکنج دنداندار بر پیشرفت تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال اثر مهاري بارزی داشت. این اثر مهاري هم در وقوع مراحل تشنجی ۱ تا ۳ و هم در مراحل تشنجی ۴ و ۵ و هم در جلوگیری از افزایش مدت زمان امواج تخلیه متعاقب به طور بارزی دیده شد. از لحاظ آناتومیکی امروزه به خوبی مشخص شده است که قشر انتورینال که دارای ارتباط تشریحی با آمیگدال است، بخش عمده خروجی‌های خود را به هیپوکمپ می‌فرستد (۲۰)، بنابراین هیپوکمپ می‌تواند در توسعه امواج تشنجی آمیگدال به سایر نقاط مغز نقش مهمی داشته باشد. نتایج مطالعات پیشین نیز گواه این مسأله است. که فعالیت صرع‌ی شکلی که در آمیگدال شروع می‌شود به هیپوکمپ پشتی نیز منتشر می‌شود (۲۱). تمایل نسبتاً بالای هیپوکمپ در ایجاد تقویت سیناپسی طولانی مدت (LTP) این ناحیه را مستعد فعالیت تشنجی کرده، به طوری که

انتشار تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال به سایر نواحی مغزی دخالت دارد، ناحیه شکنج دنداندار است (۱۰). در یک مطالعه، Dasheiff و همکارش به منظور بررسی نقش شکنج دنداندار در انتشار تشنجات آمیگدال، نورون‌های ناحیه شکنج دنداندار را با تزریق مستقیم نوروکسین کلشی‌سین به این ناحیه تخریب کردند (۱۸). آنها مشاهده کردند که تزریق کلشی‌سین قبل از شروع تحریکات کیندلینگ، به طور معنی‌داری روند کیندلینگ آمیگدال را کند می‌کند، اما تزریق آن پس از تکمیل روند کیندلینگ، تأثیری بر تشنجات ندارد. بنابراین پیشنهاد کردند که شکنج دنداندار در پیشرفت تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال نقش مهمی بازی می‌کند اما در حفظ حالت کیندل احتمالاً نقشی ندارد (۱۸). با توجه به نقشی که سایر نواحی مغزی در انتشار امواج تشنجی دارند و با در نظر گرفتن اثر ضد تشنجی LFS در تعدیل فعالیت مدارهای مغزی، انتظار می‌رود که اعمال LFS به نواحی دخیل در انتشار فعالیت تشنجی، اثر ضد تشنجی داشته باشد. گزارش شده است که اعمال LFS به بخش مرکزی قشر پیریفورم بر افزایش مدت زمان امواج تخلیه متعاقب اثر مهاري دارد (۱۹). روی هم رفته بررسی این مطالعات

گلوتامات در ناحیه شکنج دنداندار و ورود زیاد کلسیم به نورون‌های این ناحیه سبب ایجاد سمیت سلولی و مرگ نورونی در طی فرآیند صرع‌زایی می‌شود که این مرگ نورونی بیشتر در اینترنورون‌های مهارتی اتفاق می‌افتد و سبب از بین رفتن surround inhibition در این ناحیه می‌شود (۲۴). این امر نیز به نوبه خود منجر به گسترش تشنجات به ناحیه هیپوکمپ می‌شود (۲۵). بنابراین، احتمال دارد که LFS با جلوگیری از کاهش فعالیت مهارتی و ممانعت از افزایش تحریک پذیری نورون‌های ناحیه شکنج دنداندار از پیشرفت تشنجات کیندلینگ آمیگدال جلوگیری کند.

به طور خلاصه، مطالعه ما نشان می‌دهد که اعمال LFS به ناحیه شکنج دنداندار، تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال را مهار می‌کند و ناحیه شکنج دنداندار را به عنوان یک جایگاه مؤثر در مهار تشنجات لیمبیک برای اعمال LFS پیشنهاد می‌کند. همچنین نتایج این مطالعه شواهد بیشتری را ارائه می‌کند که نشان می‌دهد غیر از کانون تشنج، نواحی مغزی دیگری نیز در صرع‌زایی دخالت دارند. اما در خصوص مکانیسم‌های دقیق اثرات ضد تشنجی LFS بر کیندلینگ آمیگدال باید مطالعات بیشتری صورت گیرد.

تقدیر و تشکر

از مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان به دلیل تأمین منابع مالی این طرح تشکر و قدردانی می‌گردد.

انتشار امواج تشنجی ناشی از کیندلینگ آمیگدال به این ناحیه می‌تواند مدارات عصبی آن را به مدارات صرعی تبدیل سازد و انتشار امواج تشنجی به نواحی قشری را تسهیل نماید (۲۲). با توجه به اینکه شکنج دنداندار دروازه اصلی ورود اطلاعات به هیپوکمپ محسوب می‌شود بنابراین در مطالعه ما اعمال LFS با تعدیل فعالیت نورون‌های شکنج دنداندار و احتمالاً جلوگیری از صرعی شدن مدارهای هیپوکمپ، اثر مهارتی بر تشنجات کیندلینگ آمیگدال داشت و با توجه به ارتباط متقابل آمیگدال و هیپوکمپ، اعمال LFS می‌تواند از افزایش همزمانی فعالیت نورون‌های ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال نیز جلوگیری کند.

از آن جا که خصوصیات LFS به کار رفته در این مطالعه مشابه تحریکاتی بود که نمی‌توانست سبب ایجاد LTD (تضعیف طولانی مدت) در ناحیه شکنج دنداندار شود، اما تقویت‌زدایی (Depotential) را ایجاد می‌کرد (۲۳)، بنابراین پیشنهاد می‌شود که LFS از طریق مکانیسم‌هایی مشابه با تقویت‌زدایی اثر ضد تشنجی خود را اعمال کرده است، به عبارت دیگر پیشنهاد می‌شود که کیندلینگ آمیگدال فعالیت نورون‌های ناحیه شکنج دنداندار را به نحوی تغییر می‌دهد که از فعالیت مهارتی آنها کاسته و بر فعالیت تحریکی آنها می‌افزاید و این امر سبب می‌گردد که ماهیت مهارتی این ناحیه در فیلتر کردن امواج تشنجی ضعیف شده و در عوض تسهیل انتشار امواج تشنجی را سبب شود (نتایج مطالعات پیشین نیز این امر را تأیید می‌کند). مطالعات نشان داده که رهایش بیش از حد

References

- McNamara JO. Emerging insights into the genesis of epilepsy. *Nature*. 1999;399:A15-A22.
- Bell GS, Sander JW. CPD—Education and self-assessment The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure*. 2001;10(4):306-16.
- Nagel SJ, Najm IM. Deep brain stimulation for epilepsy. *Neuromodulation*. 2009;12(4):270-80.
- Liu Y, Wang Y, Xu Z, Xu C, Ying X, Wang S, Zhang S, Xiao B, Chen Z. Consecutive 15min is necessary for focal low frequency stimulation to inhibit amygdaloid-kindling seizures in rats. *Epilepsy Res*. 2013.
- Zhang Q, Wu ZC, Yu JT, Zhong XL, Xing YY, Tian Y, Miao D, Tan L. Anticonvulsant effect of unilateral anterior thalamic high frequency electrical stimulation on amygdala-kindled seizures in rat. *Brain Res Bull*.

- 2012;87(2-3):221-6.
6. Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol*. 1969;25(3):295-330.
 7. Jarvis MF, Freeman FG. The effects of naloxone and interstimulation interval on post-ictal depression in kindled seizures. *Brain Res*. 1983;288(1-2):235-41.
 8. Insausti R, Amaral DG, Cowan WM. The entorhinal cortex of the monkey: III. Subcortical afferents. *J Comp Neurol*. 1987;264(3):396-408.
 9. Mirnajafi-Zadeh J, Mortazavi M, Fathollahi Y, Alasvand Z, Zarasvand M, Reza Palizvan M. Effect of transient hippocampal inhibition on amygdaloid kindled seizures and amygdaloid kindling rate. *Brain Res*. 2002;954(2):220-6.
 10. Gloveli T, Schmitz D, Heinemann U. Interaction between superficial layers of the entorhinal cortex and the hippocampus in normal and epileptic temporal lobe. *Epilepsy Res*. 1998;32(1-2):183-93.
 11. Zhang LX, Smith MA, Li XL, Weiss SR, Post RM. Apoptosis of hippocampal neurons after amygdala kindled seizures. *Brain Res Mol Brain Res*. 1998;55(2):198-208.
 12. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*: Elsevier; 2007.
 13. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1972;32(3):281-94.
 14. Yamamoto J, Ikeda A, Satow T, Takeshita K, Takayama M, Matsuhashi M, Matsumoto R, Ohara S, Mikuni N, Takahashi J, et al. Low-frequency electric cortical stimulation has an inhibitory effect on epileptic focus in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2002;43(5):491-5.
 15. Ullal GR, Ninchoji T, Uemura K. Low frequency stimulation induces an increase in after-discharge thresholds in hippocampal and amygdaloid kindling. *Epilepsy Res*. 1989;3(3):232-5.
 16. Collins RC. Kindling of neuroanatomic pathways during recurrent focal penicillin seizures. *Brain Res*. 1978;150(3):503-17.
 17. Messenheimer JA, Harris EW, Steward O. Sprouting fibers gain access to circuitry transsynaptically altered by kindling. *Exp Neurol*. 1979;64(3):469-81.
 18. Dasheiff RM, McNamara JO. Intradentate colchicine retards the development of amygdala kindling. *Annals of neurology*. 1982;11(4):347-52.
 19. Zhu-Ge ZB, Zhu YY, Wu DC, Wang S, Liu LY, Hu WW, Chen Z. Unilateral low-frequency stimulation of central piriform cortex inhibits amygdaloid-kindled seizures in Sprague-Dawley rats. *Neuroscience*. 2007;146(3):901-6.
 20. Witter MP, Amaral DG. Entorhinal cortex of the monkey: V. Projections to the dentate gyrus, hippocampus, and subicular complex. 1991; 307(3):437-59.
 21. Bertram EH, Zhang DX, Mangan P, Fountain N, Rempe D. Functional anatomy of limbic epilepsy: a proposal for central synchronization of a diffusely hyperexcitable network. *Epilepsy Res*. 1998;32(1-2):194-205.
 22. Sutula TP, Cavazos JE, Woodard AR. Long-term structural and functional alterations induced in the hippocampus by kindling: implications for memory dysfunction and the development of epilepsy. *Hippocampus*. 1994;4(3):254-8.
 23. Abraham WC, Mason-Parker SE, Logan B. Low-frequency stimulation does not readily cause long-term depression or depotentiation in the dentate gyrus of awake rats. *Brain Res*. 1996;722(1-2):217-21.
 24. Sloviter RS. The functional organization of the hippocampal dentate gyrus and its relevance to the pathogenesis of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol*. 1994;35(6):640-54.
 25. Sutula T, Cascino G, Cavazos J, Parada I, Ramirez L. Mossy fiber synaptic reorganization in the epileptic human temporal lobe. *Ann Neurol*. 1989;26(3):321-30.

Effect of low frequency electrical stimulation of dentate gyrus on amygdala kindling acquisition in rats

Amir Shojaei

Neuroscience Research Center- Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
Department of Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Vahid Sheibani

Neuroscience Research Center- Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Khadijeh Esmailpour

Neuroscience Research Center- Kerman University of Medical Sciences- Kerman- Iran

Yaser Masoumi

Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Javad Mirnajafi-Zadeh

Neuroscience Research Center- Kerman University of Medical Sciences- Kerman- Iran
Department of Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received:18/07/2013, **Revised:**01/09/2013, **Accepted:**08/11/2013

Correspondence author:

Department of Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
E-mail:
amir_shojaei61@yahoo.com

Abstract

Background: Low frequency stimulation (LFS) has been recently suggested as an antiepileptic method in treating the drug-resistant epileptic syndromes such as temporal lobe epilepsy. So far, in the most clinical and experimental studies, LFS has been applied to the seizure focus itself. Considering the role of dentate gyrus in spreading of the limbic seizures, in the present study the effect of LFS of dentate gyrus on amygdala kindling-induced seizures was investigated.

Materials and methods: To kindle the animals, using stereotaxic instrument, a tripolar electrode was inserted into right basolateral area of amygdala and a bipolar electrode was ipsilaterally placed in dentate gyrus of male Wistar rats. After a 10 days recovery period, animals divided into two groups. The animals of kindled group were received daily electrical stimulations. In kindled+LFS group, LFS was delivered to dentate gyrus 1 min after cessation of amygdala kindling stimulation. The maximum seizure stage and duration of afterdischarges were evaluated after kindling stimulation. The effect of LFS on behavioral seizure stages and afterdischarges was compared using Kruskal Wallis and repeated measures 2-way AVOVA. A P value less than 0.05 was considered as significant level.

Results: The required time to achieve a stage 5 seizure was 12 days in kindled group animals. However, animals of kindled+LFS group did not show more than stage 2 seizure following 12 days of stimulation. LFS of dentate gyrus significantly prevented the increment of behavioral seizure stages and afterdischarge duration in kindled-LFS group compared with kindled group.

Conclusion: The results of this study demonstrated that application of LFS in the dentate gyrus can be an effective therapeutic method for controlling the amygdala kindling-induced seizures. Furthermore, this study provide further evidences showing LFS of brain areas involved in spreading the seizures, other than seizure focus can have anticonvulsant affect.

Key words: Seizure, Low frequency stimulation, Dentate gyrus, Amygdala