

The Possible Role of Cortical Spreading Depression on Seizure Induction in Rat Lateral Amygdale

Ghamkharnejad Gh¹; Shahabi P^{*1}; Sadighi M¹; Sadeghzadeh B²

¹Neuroscience Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Department of Anatomy and biology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding Author. Tel/Fax: +984113364664 E-mail: parvizshahabi@gmail.com

Received: 1 May 2013

Accepted: 31 Oct 2013

ABSTRACT

Background & Objectives: Cortical spreading depression (SD), a self-propagating depolarization of neuroglial cells, is believed to play a role in different neurological disorders including epilepsy and migraine aura. A brief period of excitation heralds SD which is immediately followed by nerve cell depression and later by prolonged excitation. The aim of the present study was to investigate relationship between SD and late phase of excitability and seizure burst activity in lateral amygdale of rat.

Methods: Male Wistar rats with 250-350 gram body weight were used. We used amygdale slices taken from Wistar rats. SD was induced by KCl. After superfusion of these slices with sub-epileptic concentration of bicuculline for 45 min, the induction of SD in the lateral amygdale resulted in presence of interictal and ictal epileptiform field potentials.

Results: After initiation of SD in lateral amygdale, glutamate receptors (NMDA, AMPA) antagonists as well as K⁺ and Ca⁺⁺ channels blockers were able to decrease the amplitude of excitatory postsynaptic potentials.

Conclusion: The results imply a possible role for SD in temporal lobe epilepsy in predisposed neural tissue with increased excitation or decreased inhibition. The study of the late phase of SD excitability may help us to understand the mechanism of SD action in associated neurological disorders. This finding may improve the therapeutic strategies for treatment of epilepsy.

Key words: Epilepsy; Horizontal Slices; Spreading Depression; Ictal Burst Activity

نقش احتمالی موج مهار منتشر قشری بر القاء تشنج در آمیگدال جانبی موش صحرایی

غزاله غم خوار نژاد^۱، پرویز شهابی*^۱، مینا صدیقی^۱، بهناز صادق زاده^۲

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

^۲گروه علوم تشریح و بیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول. تلفن / فاکس: ۰۴۱۱۳۳۶۴۶۶۴ - پست الکترونیک: parvizshahabi@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: مهار منتشر قشری دپولاریزاسیون خود انتشار یابنده نورونی-گلیایی است که معتقدند نقش مهمی در اختلالات نورولوژیک مختلف همچون صرع و میگرن همراه با حمله ناگهانی دارد. ابتدا یک دوره تحریک پذیری کوتاه مدت وجود دارد که بلافاصله با مهار یاخته‌های عصبی دنبال می‌شود و سپس با یک فاز تحریک پذیری ثانویه طولانی مدت ادامه پیدا می‌کند. هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط بین فاز ثانویه مهار منتشر SD و تخلیه‌های انفجاری تشنجی آمیگدال جانبی در موش صحرایی می‌باشد.

روش کار: موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار، در محدوده وزنی ۳۵۰-۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. این مطالعه روی مقاطع زنده آمیگدال موش صحرایی انجام شد که در آن با KCl، مهار منتشر شونده ایجاد گردید. با کاربرد بیکوکولین در غلظت زیر آستانه تشنج به مدت ۴۵ دقیقه، مهار منتشر در ثبت برون یاخته‌ای منجر به ایجاد پتانسیل‌های میدانی حمله ای و بین حمله ای شد.

یافته‌ها: بعد از ایجاد مهار منتشر در آمیگدال جانبی، استفاده از آنتاگونیست گیرنده‌های گلوتمات (AMPA, NMDA) و مهار کننده کانال‌های پتاسیم و کلسیم همچون TEA, CNQX, AP5 و وراپامیل به طور معنی داری دامنه پتانسیل‌های میدانی پس سیناپسی تحریکی بعد از مهار منتشر را کاهش داد.

نتیجه گیری: نتایج بر نقش احتمالی مهار منتشر به عنوان سازوکاری برای وقوع صرع لوب گیجگاهی در بافت‌های عصبی مستعد با افزایش تحریک یا کاهش مهار دلالت دارد. مطالعه فاز تحریک پذیری ثانویه، فهم ما از ساز و کار عملکرد مهار منتشر در اختلالات نورولوژیک را زیاد می‌کند. این یافته‌ها ممکن است راههای درمان صرع را بهبود بخشند.

کلمات کلیدی: صرع؛ برش افقی؛ مهار منتشر؛ فعالیت انفجاری تشنجی

دریافت: ۹۲/۲/۱۱ پذیرش: ۹۲/۸/۹

مقدمه

صرع یکی از شایع‌ترین اختلالات عصبی می‌باشد که تقریباً ۱٪ جمعیت جهان به آن مبتلا هستند [۱]. در حال حاضر ۱/۸٪ از جمعیت ایران نیز دچار این بیماری هستند [۲]. صرع از جنبه‌های مختلفی می‌تواند زندگی فرد مبتلا و حتی خانواده وی را تحت تاثیر قرار دهد. این بیماران اغلب دچار مشکلات روحی-روانی، اجتماعی و اقتصادی هستند [۳]. با توجه به این که ۴۰٪ بیماران صرعی، به دارو درمانی مقاوم

می‌باشند، تحقیقات زیادی برای دستیابی به شیوه‌های

جدید درمان صرع در حال بررسی است.

شایع‌ترین صرع بالغین، صرع لوب گیجگاهی (TLE)^۱ است. در بیشتر بیماران مبتلا به صرع لوب گیجگاهی، ناحیه مولد تشنجات، هیپوکامپ و آمیگدال می‌باشند [۴]. صرع TLE ممکن است نتیجه صدمه یک طرفه یا دو طرفه آمیگدال باشد. هسته‌های جانبی و قاعده‌ای آمیگدال نقش مهمی در ایجاد صرع در آدمی

¹Temporal lobe Epilepsy

روشن کار

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار، در محدوده وزنی بین ۳۵۰-۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات در یک دسیکاتور توسط ایزوفلوران (۱-کلرو-۲ و ۲ و ۲-تری فلورو اتیل-دی فلورو متیل اتر) بیهوش شدند. بعد از اطمینان از بیهوشی عمیق حیوان، سر آنها جدا گردیده و مغز حیوانات خارج گردید و سپس در محلول (اعداد به صورت mmol/L) هستند: NaCl: ۱۲۴، KCl: ۴، ۱/۳ MgSO₄: ۱/۲۴، NaH₂PO₄: ۲۶، NaHCO₃: ۱، CaCl₂: ۱۰، C₆H₁₂O₆ سرد (دمای ۳ درجه سانتی گراد) که کربوژنه (۵٪ CO₂ و ۹۵٪ O₂) می‌شد قرار می‌گرفتند. برش‌ها در محفظه نگهداری بافت حاوی Y-T^۵ در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. اسلایس‌های حاوی آمیگدال با یک میکروتوم (سری 3000 plus) به ضخامت ۵۰۰ ~m برش داده شدند و بعد از ۳۰ دقیقه با CaCl₂ با غلظت ۱ mmol در لیتر اضافه می‌شد. با تغییر مقدار کربوژن، pH محلول در محدوده ۷/۴۵-۷/۳۵ تنظیم شد.

بعد از نیم ساعت از اضافه کردن کلرید کلسیم، بافت مورد مطالعه، از محفظه نگهداری بافت، با یک قطره چکان به یک محفظه ثبت Interface روی یک غشاء ترانسپرننت منتقل و توسط محلول ACSF^۶ کربوژنه با دمای ۳۲ درجه سانتی گراد مشروب می‌شد. دمای محلول ACSF به طور مداوم توسط یک پروب اندازه‌گیری می‌شد و در دمای ۳۰/۸ درجه سانتی گراد به طور ثابت نگهداری می‌شد. سرعت محلول مشروب به طور دقیق کنترل می‌شد و تقریباً ۲ ml در دقیقه بود. کربوژن مرطوب و گرم به روی نمونه هدایت می‌شد تا از خشک شدن آن جلوگیری شود.

یک الکتروود شیشه‌ای با کلرور پتاسیم ۲ مولار پر و در یک نگهدارنده ویژه ثابت می‌گردید و با یک لوله

دارند [۵]. مطالعات انجام یافته نشان داده‌اند که ارتباط نزدیکی بین مهار منتشر و فعالیت صرعی وجود دارد. SD می‌تواند تخلیه‌های تشنجی را در مدل‌های حیوانی مختلف برانگیزد [۶].

مهار منتشر، یک پدیده پاتوفیزیولوژیک است که به صورت موج دپولاریزاسیون خود انتشار یابنده نوروگلیالی، با توزیع مجدد حجم عظیمی از یون‌ها به طور موقت، بین بخش‌های درون و برون یاخته‌ای مشخص می‌شود. SD با یک دوره کوتاه مدت تحریک پذیری شروع و بلافاصله با یک دوره مهار و تحریک پذیری ثانویه طولانی مدت دنبال می‌شود [۷]. بیش از ۷۵٪ امواج SD از میان قشر گیجگاهی به آمیگدال می‌رسد. بر پایه مطالعات جدید SD منتشره به LA^۱، LTP^۲ در ناحیه آمیگدال جانبی را زیاد می‌کند [۹].

فعالیت تشنجی ممکن است توسط SD مکرر زیاد شود و این احتمالاً توسط مهار انتخابی عملکرد گاباژیک صورت می‌گیرد. گسترش SD های غیر طبیعی به صورت الکتریکی یا فارماکولوژیکی منجر به ایجاد کانون های فعالیت صرعی می‌گردد [۱۰]. الگوی گسترش پتانسیل‌های میدانی صرعی و تأخیر در شروع و نیز شکل تخلیه‌های انفجاری بر پایه محل شروع SD تغییر می‌یابد. با توجه به این که SD یکی از راه‌های ایجاد وقایع شبه تشنجی می‌باشد بنابراین این سؤال مطرح می‌شود که نقش وقایع شبه تشنجی بر ویژگی‌های الکتروفیزیولوژیک آمیگدال جانبی چیست؟ علاوه بر این گیرنده های گلوتاماترژیک AMPA^۳، NMDA و کانال های K⁺، Ca²⁺ و وقایع شبه تشنجی چه اثری بر شکل پذیری سیناپسی ناحیه آمیگدال جانبی دارد؟

¹Lateral Amygdala

²Long Term Potentiation

³-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid

⁴N-Methyl-D-aspartic acid

⁵Yamamoto-I

⁶Artificial Cerebrospinal Fluid

حاوی ACSF، بیوکولین و غلظت مورد نیاز از داروها^۱ CNQX (۱۰ μmol/L)،^۲ AP5 (۵۰ μmol/L)،^۳ TEA (۱۰ μmol/L)، Verapamil (۴۰ μmol/L) بود. در دقیقه ۸۵ LTP ایجاد گردید و دامنه پتانسیل های میدانی مورد مطالعه قرار گرفت. ثبت برون یاخته‌ای با برنامه LTP (ساخت کشور انگلیس) نسخه ۰/۹۵ صورت گرفت. همه مقادیر به صورت میانگین (Mean) ± انحراف معیار میانگین (SEM) ذکر شده‌اند. آنالیز آماری با نرم افزار Sigma Plot 8 و Sigma Stat 3 انجام شد. برای تعیین اختلاف معنی دار آماری از آزمونهای t-زوج و Mann Whitney U test استفاده شد. مقادیر P < ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شدند.

یافته ها

در ۸۰٪ موارد SD به ناحیه LA رسید و در همه موارد قادر به ایجاد فعالیت انفجاری تشنجی در LA بود. مقایسه دامنه پتانسیل‌های برانگیخته شده با استفاده از t-زوج‌ها افزایش معنی‌داری (p < ۰/۰۰۱) در قدرت سیناپسی بعد از إلقاء LTP نشان داد (شکل ۱).

اثر CNQX و فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده توسط SD بر قدرت سیناپسی ناحیه LA

نقش گیرنده‌های AMPA با کاربرد آنتاگونیست آن یعنی CNQX (۱۰ میکرو مولار) مورد مطالعه قرار گرفت. تجویز CNQX بعد از ایجاد SD صورت می‌گرفت تا بر إلقاء آن تأثیری نداشته باشد. بلافاصله بعد از تثبیت دامنه، تحریکات تتانیک به کپسول خارجی اعمال شدند و ۱۵ دقیقه قبل (به عنوان ثبت پایه) و ۴۰ دقیقه بعد از إلقاء LTP، دامنه برانگیخته شده اندازه‌گیری گردید. استفاده از CNQX نشان داد که درصد تقویت دامنه بعد از

پلاستیکی به یک تزریق کننده فشاری متصل می‌شد و نوک الکتروود در تماس با قشر انتورینال (لایه II-I) بود. یک پالس با فشار بالا، برای تزریق پتاسیم کافی برای ایجاد SD اعمال می‌شد. قطر نوک الکتروود ۲ μm، فشار تزریق ۰/۱ بار در مدت ۲۰۰ میلی ثانیه بود. در این آزمایش باید مطمئن شد که جهت تزریق KCl بر خلاف جهت جریان محفظه ثبت است. برای کاهش تأثیر میدان‌های مغناطیسی از قفس فارادی و نیز کم کردن اثر ارتعاشات از میز ضد لرزش استفاده می‌شد.

برای ثبت برون یاخته‌ای میکروالکتروود شیشه‌ای از جنس بروسیلیکات و الکتروود فرانس از جنس نقره استفاده شد. میکروالکتروود ثبت با محلول ACSF پر و مقاومت الکتروود بین ۲/۵-۰/۵ مگا اهم بود که توسط یک پل Ag/AgCl-KCl به آمپلی فایر متصل می‌شد.

برای اندازه‌گیری تغییرات پتانسیل سیناپسی، الکتروود ثبت در ناحیه LA قرار می‌گرفت، پتانسیل‌های برانگیخته شده از لایه‌های دندریتی و جسم یاخته‌ای یاخته‌های عصبی در ناحیه LA ثبت می‌شد. برای ایجاد پتانسیل‌های برانگیخته کپسول خارجی تحریک می‌شد. برای تحریک کپسول خارجی از پالس‌های مربعی به پهنای ۲۰۰ میکروثانیه با شدت جریان‌های مختلف (۵۰ μA تا ۷۰۰ μA) استفاده شد و بعد نصف شدت جریانی که پاسخ ماکزیمم ایجاد می‌کرد با بسامد ۰/۰۲ Hz برای تحریک مورد استفاده قرار گرفت.

در این مطالعه بعد از انکوباسیون مقاطع مغزی به مدت ۱۵ دقیقه با ACSF و به مدت ۴۰ دقیقه با ACSF حاوی بیوکولین با غلظت ۱/۲۵ میکرومول در لیتر مشروب می شدند. در دقیقه ۵۵ کلرور پتاسیم ۲ مولار تزریق، SD و فعالیت انفجاری تشنجی ظاهر می گردید. در این مدت با بسامد ۰/۰۲ هرتز کپسول خارجی برای ایجاد پاسخ در LA برای ثبت پایه تحریک شدند. بعد از ایجاد SD محلول مشروب

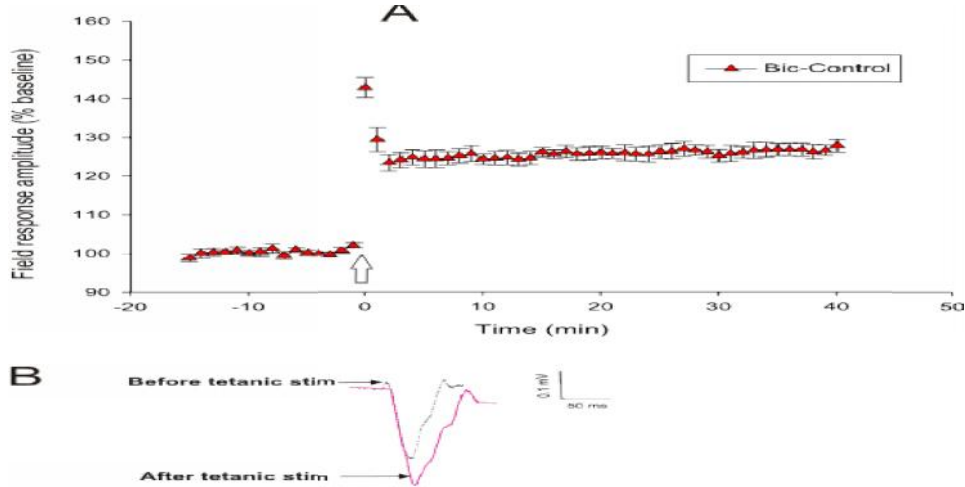
¹6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione

²(2R)-amino-5-phosphonovaleric acid

³Tetraethylammonium

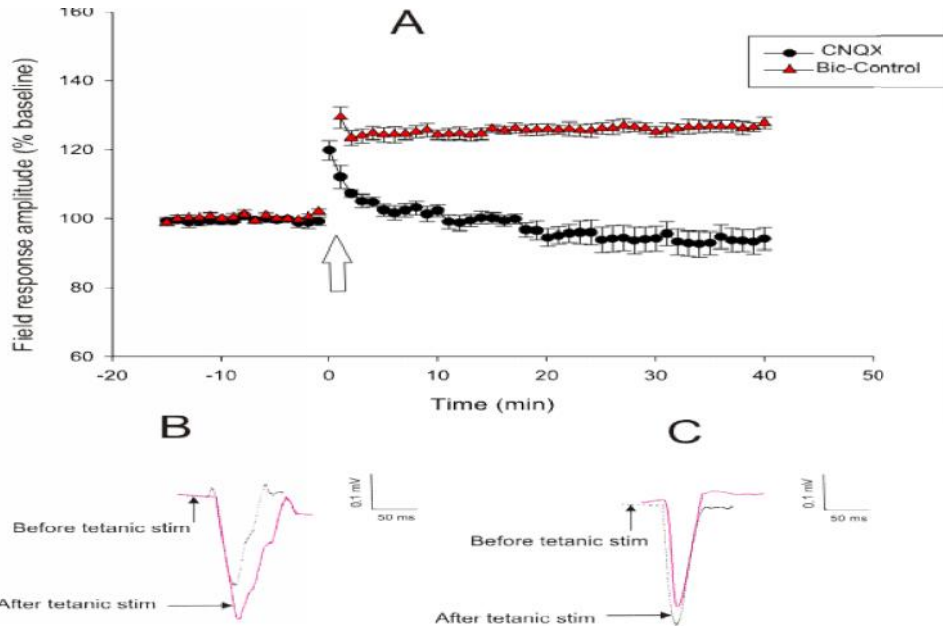
اثر AP5 و فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده توسط SD بر قدرت سیناپسی ناحیه LA
 پس از ایجاد SD، آنتاگونیست گیرنده NMDA یعنی AP5 با غلظت ۴۰ میکرو مولار تجویز گردید.
 LTP در گروه CNQX (میانگین \pm انحراف معیار: ۹۸/۹۸ \pm ۱/۷) نسبت به گروه کنترل (میانگین \pm انحراف معیار: ۱۲۵/۷۴ \pm ۱/۴۷) کاهش معنی‌داری دارد ($P < 0.001$, $N = 6$ و Mann Whitney U-test) (شکل ۲).

شکل ۱. اثر فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده با SD بر LTP ناحیه LA.



A: زمان صفر نشان دهنده زمان إلقاء LTP و نقاط قبل از صفر یک دوره تثبیت قبل از LTP را نشان می‌دهند. این منحنی افزایش معنی‌داری در دامنه fEPSP بعد از LTP را نشان می‌دهد ($P < 0.001$, $N = 6$). B: نمایش نمونه‌ای از ثبت، قبل و بعد از إلقاء LTP. علامت پیکان نشان دهنده محل تحریک تتانیک می‌باشد.

شکل ۲. اثر CNQX و فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده با SD بر LTP ناحیه LA.



A: زمان صفر نشان دهنده زمان إلقاء LTP و نقاط قبل از صفر یک دوره تثبیت قبل از LTP را نشان می‌دهند. این منحنی کاهش معنی‌داری در دامنه fEPSP بعد از LTP در گروه دریافت کننده CNQX نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($P < 0.001$, $N = 6$, Mann Whitney U-test). B: نمایش نمونه‌ای از ثبت، قبل و بعد از إلقاء LTP در گروه کنترل و C: در گروه دریافت کننده CNQX. علامت پیکان نشان دهنده محل تحریک تتانیک می‌باشد.

اندازه‌گیری گردید. استفاده از TEA نشان داد که درصد تقویت دامنه در گروه TEA (میانگین \pm انحراف معیار؛ $107/49 \pm 1/48$) نسبت به گروه کنترل (میانگین \pm انحراف معیار؛ $125/74 \pm 1/47$) کاهش معنی‌داری دارد ($P < 0/001$, $N=6$ و Mann Whitney U-test) (شکل ۴).

اثر وراپامیل و فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده توسط SD بر قدرت سیناپسی LA

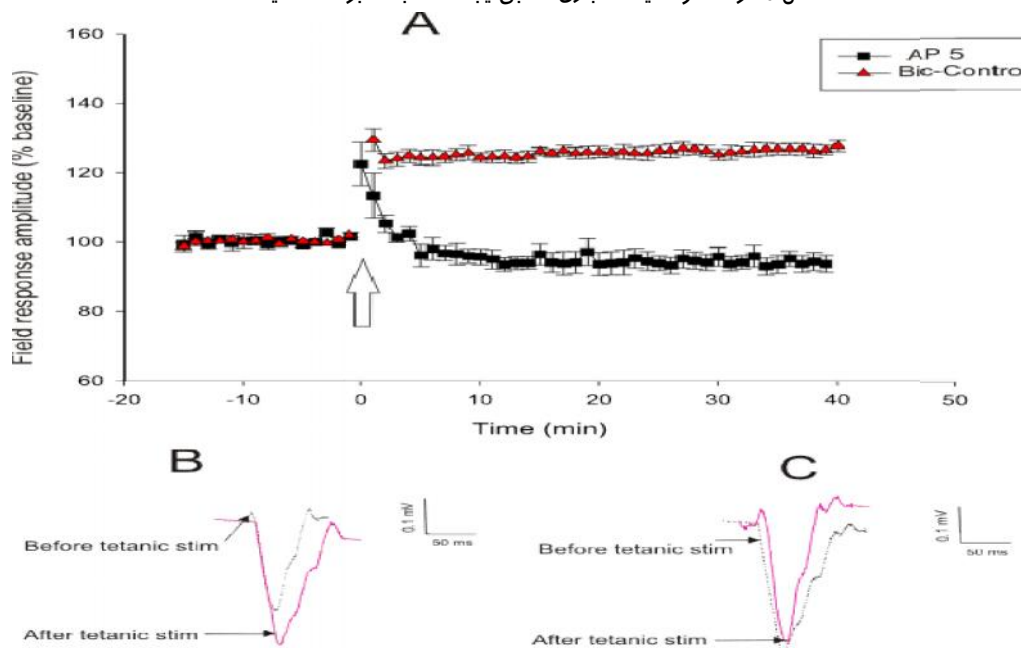
پس از ایجاد SD، مهار کننده کانال‌های کلسیمی یعنی وراپامیل با غلظت ۴۰ میکرومولار حداقل به مدت ۳۰ دقیقه مشروب گردید. بلافاصله بعد از تثبیت دامنه پتانسیل‌های برانگیخته، تحریکات تتانیک به کپسول خارجی داده شد. حداقل ۱۵ دقیقه قبل (به عنوان خط پایه) و ۴۰ دقیقه بعد از ایجاد LTP، دامنه اندازه‌گیری گردید. کاربرد وراپامیل نشان داد که بعد از ایجاد LTP دامنه پتانسیل‌های برانگیخته

بلافاصله بعد از تثبیت دامنه، تحریک تتانیک به کپسول خارجی اعمال شد. ۱۵ دقیقه قبل و ۴۰ دقیقه بعد از اِلْقائِ LTP، دامنه EPSP^۱ اندازه‌گیری گردید. کاربرد AP5 نشان داد که درصد تقویت دامنه در گروه AP5 (میانگین \pm انحراف معیار؛ $96/32 \pm 7/3$) نسبت به گروه کنترل (میانگین \pm انحراف معیار؛ $125/74 \pm 1/47$) کاهش معنی‌داری دارد ($P < 0/001$, $N=6$ و Mann Whitney U-test) (شکل ۳).

اثر TEA و فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده توسط SD بر قدرت سیناپسی LA

نقش کانال‌های پتاسیمی با حضور مهار کننده آن یعنی TEA (۱۰ میکرومولار) مورد مطالعه قرار گرفت. تجویز TEA بعد از ایجاد SD صورت گرفت تا بر اِلْقائِ آن تأثیری نداشته باشد. بلافاصله بعد از تثبیت دامنه، تحریک تتانیک به کپسول خارجی اعمال شد. ۱۵ دقیقه قبل و ۴۰ دقیقه بعد از اِلْقائِ LTP دامنه EP

شکل ۳. اثر AP5 و فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده با SD بر LTP ناحیه LA.



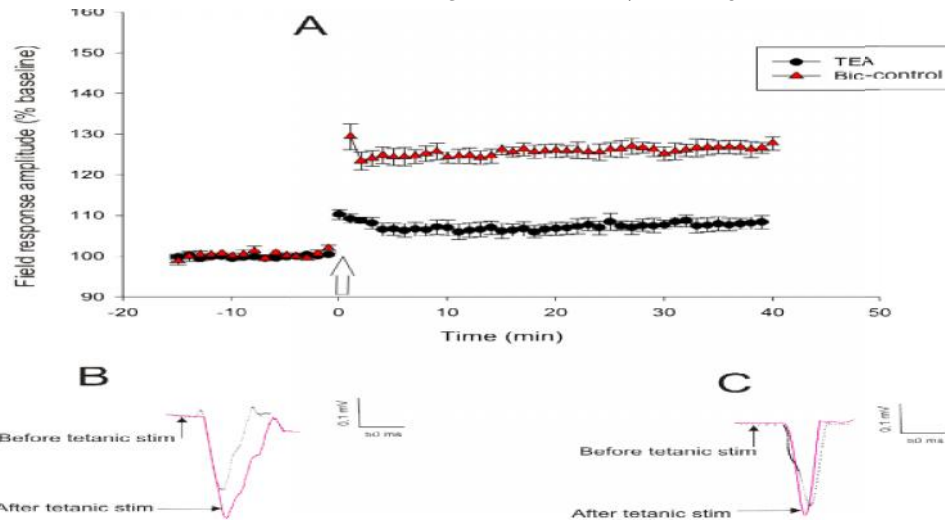
A: زمان صفر نشان دهنده زمان اِلْقائِ LTP و نقاط قبل از صفر یک دوره تثبیت قبل از LTP را نشان می‌دهند. این منحنی کاهش معنی‌داری در دامنه پتانسیل‌های برانگیخته بعد از LTP در گروه دریافت کننده AP5 نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($P < 0/001$, $N=6$ و Mann whitney U-test).
 B: نمایش نمونه ای از ثبت، قبل و بعد از اِلْقائِ LTP در گروه کنترل و C: در گروه دریافت کننده AP5. علامت پیکان نشان دهنده محل تحریک تتانیک می‌باشد.

¹ Excitatory Postsynaptic Potential

بحث میانگین \pm انحراف معیار؛ $104/76 \pm 0/4$) نسبت به گروه کنترل (میانگین \pm انحراف معیار؛ $125/74 \pm 1/47$) کاهش معنی‌داری دارد ($P < 0/001$). (Mann Whitney U-test و $N=6$) (شکل ۵).

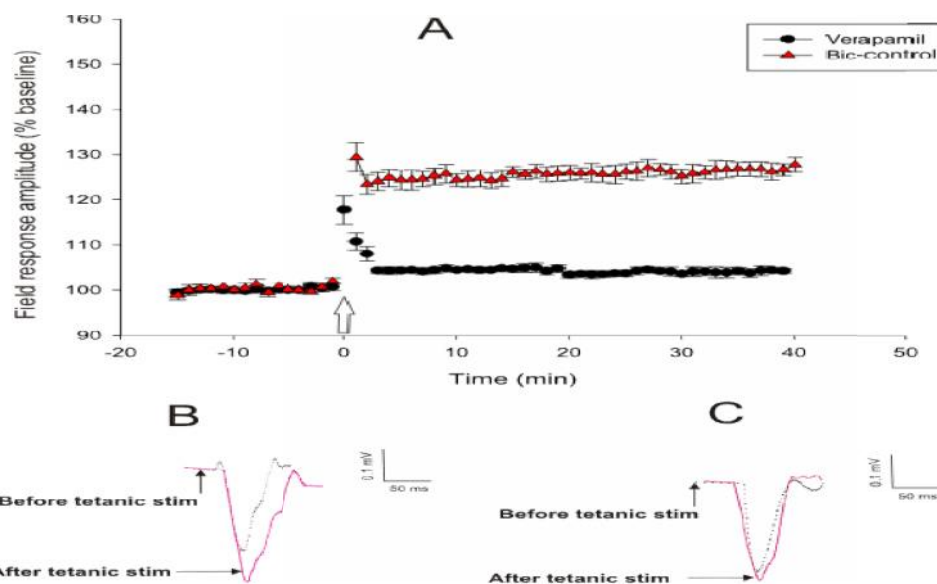
در این مطالعه توجه ویژه‌ای به ارتباط SD با علایم بالینی صرع شده است. تعداد زیادی از علایم بالینی، کم و بیش ارتباط مستقیمی با مهار گسترش یابنده

شکل ۴. اثر TEA و فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده با SD بر LTP ناحیه LA.



A: زمان صفر نشان دهنده زمان إلقاء LTP و نقاط قبل از صفر یک دوره تثبیت قبل از LTP را نشان می‌دهند. این منحنی کاهش معنی‌داری در دامنه پتانسیل‌های برانگیخته بعد از ایجاد LTP در گروه دریافت کننده TEA نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($P < 0/001$, Mann Whitney U-test). B: نمایش نمونه‌ای از ثبت، قبل و بعد از إلقاء LTP در گروه کنترل و C: در گروه دریافت کننده TEA. علامت پیکان نشان دهنده محل تحریک تتانیک می‌باشد.

شکل ۵. اثر وراپامیل و فعالیت انفجاری تشنجی ایجاد شده با SD بر LTP ناحیه LA.



A: زمان صفر نشان دهنده زمان إلقاء LTP و نقاط قبل از صفر یک دوره تثبیت قبل از LTP را نشان می‌دهند. این منحنی کاهش معنی‌داری در دامنه پتانسیل‌های برانگیخته بعد از ایجاد LTP در گروه دریافت کننده وراپامیل نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($P < 0/001$, Mann Whitney U-test). B: نمایش نمونه‌ای از ثبت، قبل و بعد از إلقاء LTP در گروه کنترل و C: در گروه دریافت کننده وراپامیل. علامت پیکان نشان دهنده محل تحریک تتانیک می‌باشد.

دارند. SD دارای سه مرحله می‌باشد: مرحله تحریک پذیری اولیه، مرحله مهار و مرحله تحریک پذیری ثانویه. مرحله سوم یک عامل خطر آسیب شناختی برای ایجاد بعضی از بیماریها از جمله صرع می‌باشد. در سال ۲۰۰۷، برگر^۱ اثرات تحریکی SD بر تحریک پذیری و کارایی سیناپسی بافت قشری انسان را نشان داد [۱۱]. او به ویژه ذکر کرد که بعد از یک فاز ابتدایی مهار موقت فعالیت سیناپسی، یک افزایش پایدار و معنی‌دار در دامنه پتانسیل‌های میدانی پس سیناپسی تحریکی در مرحله تحریک پذیری ثانویه وجود دارد. بنابراین کارایی انتقال سیناپسی و نیز إلقاء LTP افزایش می‌یابد. دپلاریزاسیون قوی در جریان SD، کانال‌های وابسته به ولتاژ در غشاء یاخته‌ای را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به عنوان مثال کانالهای سدیمی وابسته به ولتاژ غیرفعال می‌شوند که به نوبه خود باعث مهار دامنه پتانسیل‌های برانگیخته می‌گردد [۱۲].

همچنین گرجی در سال ۲۰۰۱ نشان داد که آزادی و انتشار انواع میانجی‌های تحریکی همچون نوروکینین، پپتید مرتبط با ژن کلسیتونین و سروتونین به تحریک‌پذیری کمک می‌کنند [۱۳]. فاز نهایی تحریک‌پذیری یاخته‌های عصبی می‌تواند در نتیجه اثرات این مواد شیمیایی باشد [۶]. در مناطق مغزی مورد مطالعه تغییرات معنی‌داری در ویژگی یاخته‌های عصبی ثبت شد که همگی نشان دهنده افزایش تحریک‌پذیری یاخته‌های عصبی بودند. پیش نیاز وقوع بالینی صرع، عدم توازن بین مهار و تحریک یاخته‌های عصبی می‌باشد. در آزمایشگاه این مساله با اضافه کردن بیکوکولین در غلظت زیر آستانه تشنج ایجاد شد. چنان‌که در مواقعی که کاهش مهار یا افزایش در تحریک پذیری وجود دارد، صرع دیده می‌شود [۶، ۱۳].

SD دارای یک دوره تحریک‌پذیری ثانویه می‌باشد و اگر همراه با بیکوکولین، آنتاگونیست $GABA_A^2$ باشد منجر به ایجاد مدلی با فعالیت صرعی مقاوم به درمان می‌گردد که مدل بسیار مناسبی برای آزمایش داروهای جدید می‌باشد. در این مطالعه، داروهای مورد استفاده، بعد از ایجاد SD به کاربرده شدند تا از اثر احتمالی آنها بر إلقاء SD جلوگیری شود. به نظر می‌رسد که شکل‌پذیری سیناپسی در ساختارهای آمیگدال اهمیت اساسی در بیماری‌های نورولوژیک دارد. یک مطالعه حیوانی *in vitro* توسط دهبندی و همکارانش در سال ۲۰۰۸ انجام گرفت و نشان داده شد که افزایش اثر LTP بعد از ایجاد SD احتمالاً به دلیل دخالت گیرنده‌های NMDA و AMPA گلوتامات و گیرنده D2 دوپامین می‌باشد [۹].

ارتباطات آناتومیکی آمیگدال نشان می‌دهد که این ناحیه اطلاعات پردازش شده فراوانی از سیستم حرکتی، سیستم اتونوم، سیستم اندوکراین و دیگر نواحی لیمبیک دریافت می‌کند و ورودی‌های قشری به کمپلکس قاعده‌ای جانبی، گلوتاماترژیک هستند و سیناپس‌های حاوی گیرنده‌های NMDA و AMPA تشکیل می‌دهند. فعالیت یاخته‌های قشری ورودی‌های گلوتاماترژیک به یاخته‌های هر می LA را بر می‌انگیزد و سیناپس‌های فعال شده حاوی هر دو نوع گیرنده NMDA و AMPA هستند [۱۴].

نشان داده شده که افزایش LTP ایجاد شده با SD در LA وابسته به مکانیسم‌های مهار و تحریکی می‌باشد و کاهش تون مهار با کاربرد آنتاگونیست گیرنده $GABA_A$ ، إلقاء LTP در برش‌هایی که SD از آنها عبور کرده افزایش بیشتری ایجاد می‌کند [۹]. داده‌ها نشان می‌دهد که SD باعث مهار فعالیت سیناپسی در LA می‌شود و این مهار عمدتاً سبب افزایش میل جنسی، کاهش توجه و کاهش اشتیاق به غذا خوردن می‌گردد [۱۴].

²Gamma-Aminobutyric Acid type A

¹ Berger

قبلی بوده و نقش مهمی در کاهش LTP آمیگدال دارد.

اگر چه تقویت سیناپسی طولانی مدت معمولاً با یک موج تتانیک کوتاه ایجاد می‌شود این پدیده همچنین می‌تواند با کاربرد مهار کننده کانالهای پتاسیمی TEA برانگیخته شود [۱۷]. مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از TEA (۲۰ میلی مولار) به مدت ۱۰ دقیقه منجر به افزایش طولانی مدت دامنه پتانسیل-های پس سیناپسی تحریکی به دو برابر مقدار کنترل می‌گردد. پرفیوژن مقاطع مغزی با نیفیدپین (۱۰ میکرومولار) این تقویت را متوقف می‌کند که پیشنهاد کننده این مساله است که LTP ایجاد شده با TEA در آمیگدال نتیجه ورود کلسیم از میان کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ میباشد. و فعالیت گیرنده های NMDA مورد نیاز نمی‌باشد زیرا AP5 (۵۰ میکرومولار) از LTP ایجاد شده با TEA جلوگیری نمی‌کند [۱۸]. در مطالعه حاضر نشان داده شد که استفاده از TEA با غلظت ۱۰ میکرومولار دامنه EPSP را نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد و این احتمالاً به علت اشباع تقویت سیناپسی حاصل از کاربرد TEA قبل از القاء LTP می‌باشد. یعنی قبل از اعمال تحریک تتانیک قدرت سیناپس به حد اشباع رسیده است.

نتیجه گیری

بنابراین تحقیقات ما در سطح خارج یاخته ای نشان داد که این افزایش به واسطه گیرنده های گلوتامات (AMPA, NMDA) و کانال های Ca^{2+}, K^{+} صورت می‌گیرد. علاوه بر این همه بافت ها بعد از القاء SD فعالیت صرعی نشان دادند که در نتیجه عدم تعادل بین تحریک و مهار بود. این اختلال در تحریک پذیری قادر به شلیک فعالی صرعی می‌باشد که شناخت آن راه جدیدی در درمان بیماران تشنجی بوجود می‌آورد.

گیرنده‌های گلوتامات (NMDA, AMPA) و کانال-های پتاسیمی و کلسیمی نقش مهمی را در شکل‌پذیری سیناپسی بعد از SD دارند و SD تحریک‌پذیری و کارایی سیناپس در بافت آمیگدال جانبی را تسهیل می‌کند، اثری که ممکن است تحریک‌پذیری بالای بافت‌های مذکور در اختلالات مرتبط با SD را توجیه کند. در مطالعه حاضر مهار این گیرنده‌ها توسط AP5 و CNQX، LTP در LA را نسبت به گروه کنترل کاهش داد این مسأله وابسته بودن LTP به NMDA و AMPA را نشان می‌دهد و بیانگر این مسأله است که SD از طریق این گیرنده‌ها تحریک پذیری ثانویه را ایجاد می‌کند و همسو با مطالعه‌ای است که نشان می‌دهد تعداد این گیرنده‌ها با SD افزایش می‌یابد [۷].

به علت این که کلسیم برای ایجاد اشکال مختلفی از شکل پذیری سیناپسی لازم است بنابراین نقش کلسیم در LTP آمیگدال مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از BAPTA¹ (۱۰ میلی مولار) در سلول پس سیناپسی القاء LTP در LA را مهار می‌کند [۱۵]. ورود کلسیم پس سیناپسی از میان کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (VDCC) صورت می‌گیرد، دیپولاریزاسیون و ایجاد پتانسیل عمل احتمالاً در فعال شدن این کانال‌ها موثر هستند. همچنین نشان داده شده است که اشکال دیگری از شکل پذیری که مستقل از NMDA می‌باشند وابسته به کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L می‌باشند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مهار VDCC نوع L با نیفیدپین، LTP آمیگدال را تحت تاثیر قرار می‌دهد ولی بر خط پایه تاثیری ندارد [۱۵]. مطالعات نقش برجسته‌ای را برای VDCC نوع L در القاء در LA در نظر می‌گیرند [۱۶]. داده‌های حاضر نیز نشان داد که نتایج حاصل از کاربرد وراپامیل همسو با یافته‌های

¹1,2-bis(o-aminophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشکده علوم پزشکی تبریز تشکر و قدردانی به عمل می آورند.

References

- 1- Bergin PS, Sadleir LG, Walker EB. Bringing epilepsy out of the shadow in New Zealand. *N Z Med J*. 2008 Jan; 121: 1-4.
- 2- Mohammadi MR, Ghanizadeh A, Davidian H, Mohammadi M, Norouzi M. Prevalence of epilepsy and comorbidity of psychiatric disorders in Iran. *Seizure*. 2006 Aug;15(7): 476-82.
- 3- Acharya MM, Hattiangady B, Shetty AK. Progress in neuroprotective strategies for preventing epilepsy. *Prog Neurobiol*. 2008 Dec; 84(4): 363-404.
- 4- McNamara JO. Cellular and molecular basis of epilepsy. *J Neurosci*. 1994 Jun; 14(6): 3413-25.
- 5- Pitkanen A, Tuunanen J, Kalviainen R, Partanen K, Salmenpera T. Amygdala damage in experimental and human temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 1998 Sep; 32(12): 233-53.
- 6- Yilmazer-Hanke DM, Wolf HK, Schramm J, Elger CE, Wiestler OD, Blumcke I. Subregional pathology of the amygdala complex and entorhinal region in surgical specimens from patients with pharmaco-resistant temporal lobe epilepsy. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2000 Oct; 59(10): 907-20.
- 7- Gorji A. Spreading depression: a review of the clinical relevance. *Brain Res Rev*. 2001 Dec; 38(1-2): 33-60.
- 8- Somjen GG. Aristides Leao's discovery of cortical spreading depression. *J Neurophysiol*. 2005 Aug; 94(1): 2-4.
- 9- Bureš J, Burešová O, Kivánek J. The mechanism and applications of Leao's spreading depression of electroencephalographic activity. In: Carl C, Ed. *International review of neurobiology*. Academic Press. 1974 Oct, P. 300-4.
- 10- Dehbandi S, Speckmann EJ, Pape HC, Gorji A. Cortical spreading depression modulates synaptic transmission of the rat lateral amygdala. *Eur J Neurosci*. 2008 Apr; 27(8): 2057-65.
- 11- Pomper JK, Haack S, Petzold GC, Buchheim K, Gabriel S, Hoffmann U, et al. Repetitive spreading depression-like events result in cell damage in juvenile hippocampal slice cultures maintained in normoxia. *J Neurophysiol*. 2006 Jan; 95(1): 355-68.
- 12- Berger M, Speckmann E. Spreading depression enhances human neocortical excitability in vitro. *Cephalgia*. 2008 May; 28(5): 558-62.
- 13- Gorji A, Speckmann EJ. Spreading depression and epileptic activity in living human neocortical tissues. *Brain Res*. 2004 Aug; 906(1-2): 35-83.
- 14- Ehrlich I, Humeau Y, Grenier F, Ciochi S, Herry C, Lüthi A. Amygdala inhibitory circuits and the control of fear memory. *Neurol*. 2009 June; 62(6): 757-71.
- 15- Weisskopf MG, Bauer EP, LeDoux JE. L-type voltage-gated calcium channels mediate NMDA-independent associative long-term potentiation at thalamic input synapses to the amygdala. *J Neurosci*. 1999 Dec; 19(23): 10512-9.
- 16- Bauer EP, Schafe GE, LeDoux JE. NMDA receptors and L-type voltage-gated calcium channels contribute to long-term potentiation and different components of fear memory formation in the lateral amygdala. *J Neurosci*. 2002 Jun; 22(12): 5239-49.
- 17- Ramakers GM, Pasinelli P, van Beest M, van der Slot A, Gispen WH, De Graan PN. Activation of pre- and postsynaptic protein kinase C during tetraethylammonium-induced long-term potentiation in the CA1 field of the hippocampus. *Neurosci Lett*. 2000 May; 286(1): 53-6.
- 18- Wang SJ, Tsai JJ, Gean PW. Lamotrigine inhibits tetraethylammonium-induced synaptic plasticity in the rat amygdala. *Neuroscience*. 1997 Dec; 81(3): 667-71.