

# ارتباط متقابل مهار منتشر قشری و تخلیه های انفجاری تشنجی در ناحیه آمیگدال جانبی

پرویز شهابی<sup>۱</sup>، علی گرجی<sup>۲</sup>، یعقوب فتح الهی<sup>۱</sup>، مهیار جان احمدی<sup>۳</sup>، جواد میر نجفی زاده<sup>۱</sup>، هادی کاظمی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> استادیار گروه فیزیولوژی، مرکز علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

<sup>۲</sup> استاد فیزیولوژی، انستیتو فیزیولوژی، مرکز علوم اعصاب شفا، دانشگاه مونسر آلمان

<sup>۳</sup> استاد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات اعصاب و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی

<sup>۴</sup> استاد طب کودکان، مرکز علوم اعصاب شفا، تهران

نشانی نویسنده مسؤول: تبریز، مرکز علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دکتر پرویز شهابی

E-mail: parvizshahabi@gmail.com

وصول: ۹۰/۱/۲۱، اصلاح: ۹۰/۳/۱۷، پذیرش: ۹۰/۵/۱۰

## چکیده

**زمینه و هدف:** مهار گسترش یابنده (Spreading depression; SD) یک دیپولاریزاسیون نورونی-گلیالی است که در بروز اختلالات نورولوژیک همچون صرع و میگرن همراه با اورا نقش مهمی دارد. شروع و گسترش SD تحریک پذیری شبکه عصبی را تعدیل می کند. هدف مطالعه حاضر بررسی خصایص الکتروفیزیولوژیک سلول های عصبی ناحیه آمیگدال جانبی در دوره تحریک پذیری ثانویه بود.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی، از ۶ رأس موش صحرایی نر استفاده شد. بعد از خارج کردن مغز حیوانات تحت بیهوشی عمیق، در برش هیپوکمپ - بادامه - قشر نو موش صحرایی با KCl، مهار منتشر شونده ایجاد می گردید. در این برش، با کاربرد آنتاگونیست گیرنده  $GABA_A$  (بیوکولین) در غلظت زیر آستانه تشنج ( $1/25 \mu\text{mol/L}$ ) به مدت ۴۵ دقیقه، SD در ثبت خارج سلولی منجر به ایجاد پتانسیل های میدانی Ictal و Interictal و در ثبت داخل سلولی، منجر به القاء انحراف دیپولاریزاسیون متناقض (Paroxysmal Depolarization Shift; PDS) می شود. در تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون های تی زوجی و آنالیز واریانس یک طرفه توسط نرم افزار Sigma Stat 3 استفاده گردید.

**یافته ها:** بعد از ایجاد مهار منتشر در ناحیه آمیگدال جانبی، پتانسیل استراحت غشاء قبل ( $-60/3 \pm 0/5$ ) و بعد ( $-52/8 \pm 0/78$ ) از ایجاد مهار منتشر در راستای دیپولاریزاسیون بود ( $P < 0/001$ )، آستانه پتانسیل عمل قبل ( $5/0 \pm 0/2$ ) و بعد ( $3/3 \pm 0/1$ ) از ایجاد مهار منتشر کاهش ( $P < 0/001$ ) و بسامد فعالیت خود به خودی نیز قبل ( $164/1 \pm 40/2$ ) و بعد ( $227/2 \pm 45/1$ ) از ایجاد مهار منتشر به طور معناداری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ) و بیشتر یاخته های عصبی از سریع به آهسته سازش تبدیل شدند.

**نتیجه گیری:** نتایج بر نقش احتمالی مهار منتشر به عنوان ساز و کاری برای وقوع صرع در بافت های عصبی مستعد با افزایش تحریک یا کاهش مهار دلالت دارد. (مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۸، شماره ۳، صص ۱۵۷-۱۴۸).

**واژه های کلیدی:** صرع؛ مهار گسترش یابنده؛ فعالیت انفجاری تشنجی؛ بیوکولین.

## مقدمه

صرع اختلالی نورولوژیک در نتیجه تخلیه های هماهنگ، ناگهانی و با ولتاژ بالا، در تعدادی از نوروهای تحریک پذیر می باشد. تقریباً ۰/۵ الی ۳ درصد مردم جهان از صرع رنج می برند و بیشتر بیماران صرعی پیش آگهی خوبی برای کنترل صرع دارند. با وجود این، در حدود ۳۰-۲۰ درصد بیماران مبتلا به صرع (یعنی ۱۵-۱۰ میلیون نفر در سراسر جهان، صرع غیر قابل درمان یا مقاوم به درمان، علیرغم پیشرفت داروهای ضد تشنجی دارند (۱). همچنین بررسی ها نشان داده است که منشأ صرع لوب گیجگاهی (Temporal Lobe Epilepsy; TLE) ممکن است به علت صدمه یک طرفه یا دو طرفه آمیگدال باشد (۲). مطالعات هیستوشیمی از بافت صرعی انسانی نشان داده است که هسته های جانبی و قاعده ای نقش مهمی در ایجاد صرع دارند (۳). بررسی ها نشان می دهد که در این هسته ها علاوه بر کاهش تعداد نورو و گلیوزیس، تغییرات سیناپسی نیز به شکل کاهش شاخه های دندریتی سلول های زنده مشاهده می شود (۴). علاوه بر کاهش سلول های اصلی، کاهش دانسیته جمعیت اینترنورونی مشخصی هم اثبات شده است و هسته قاعده ای- جانبی کانون عمده ارزیابی های الکتروفیزیولوژیک در TLE بوده است (۵). این مطالعات نشان می دهند که مکانیسم های متعددی مسؤول تحریک پذیری فوق العاده شبکه های نورونی هسته قاعده ای جانبی می باشند. فقدان وقوع خود به خودی پتانسیل های پس سیناپسی مهاری، مهار پس گستر و افزایش گیرنده های NMDA از جمله این مکانیسم ها می باشد (۶). مطالعات اندکی راجع به تغییرات عملکردی در هسته جانبی آمیگدال (Lateral Amygdala; LA)، جایی که فقدان نورو و گلیوزیس در اشخاصی که صرع مقاوم به درمان دارند، صورت گرفته است (۳). تحقیقات نشان می دهد که SD فعالیت آمیگدال را تحت تأثیر قرار می دهد. بیش از ۷۵ درصد امواج SD از میان قشر گیجگاهی به آمیگدال می رسد (۷).

تحقیقات آزمایشگاهی در صرع کانونی به این مسأله معطوف شده است که فعالیت الکتریکی در یک نورو یا گروهی از نوروها منجر به تولید تشنج می گردد. هر نورو داخل کانون تشنج پاسخ الکتریکی هماهنگ و کلیشه ای دارد که PDS نامیده می شوند. PDS وابسته به وقایع شبکه ای بسیار هماهنگ شونده می باشد که از یک EPSP بزرگ ناشی می شود. EPSP بزرگ احتمالاً در نتیجه فعالیت همزمان مسیرهای تحریکی راجعه می باشد (۸). در روی PDS یک سری پتانسیل های عمل با فرکانس بالا سوار می شوند و اواخر PDS همراه با هیپریپلاریزاسیون است (۹). PDS مشابه SD بین نوروها گسترش پیدا می کند اما سرعت گسترش آن به طور معناداری بیشتر از گسترش SD است (۱۰).

در مطالعه حاضر نیز فرض شده است که SD ممکن است هماهنگی کانون های مختلف پتانسیل های میدانی شارپ ریتمیک را تسهیل کند و باعث افزایش تحریک پذیری در ناحیه آمیگدال جانبی موش های صحرائی گردد. با توجه به این که SD یکی از راه های ایجاد وقایع شبه تشنجی می باشد در مدل بیکوکولین با غلظت پایین این سؤال مطرح می شود که SD با چه مکانیسم هایی باعث هم زمانی فعالیت کانون های مختلف پتانسیل های میدانی شارپ ریتمیک و افزایش تحریک پذیری در آمیگدال جانبی می گردد؟ و این وقایع شبه تشنجی چه اثری بر ویژگی های الکتروفیزیولوژیک آمیگدال جانبی دارد؟

## مواد و روش ها

در این تحقیق تجربی، از ۶ رأس موش صحرائی نر و از نژاد ویستار با وزنی بین ۲۵۰-۳۵۰ گرم استفاده گردید. بیهوشی حیوانات در یک دیسکاتور با ایزوفلوران (۱- کلرو- ۲ و ۲ و ۲- تری فلورو اتیل- دی فلورو متیل اتر) انجام می گرفت. در حدود ۰/۸ ml ایزوفلوران بر روی یک پد گازی در دیسکاتور خالی ریخته می شد و بعد از

آزمایش باید مطمئن شد که جهت تزریق KCl برخلاف جهت جریان محفظه ثبت است.

برای ثبت پتانسیل غشاء سلول، یک الکتروود شیشه‌ای و یک الکتروود رفرانس مورد استفاده قرار گرفت. الکتروود شیشه‌ای از فیلامان‌های بروسلیکات با قطر خارجی 1/5 mm و قطر داخلی 0/87 mm بود و توسط یک میکرو الکتروود پولر sutter مدل P-87 افقی الکترودهایی با مقاومت بین 160-70 مگا اهم تهیه می‌شد. محلول مورد استفاده برای پرکردن الکترودها، پتاسیم متیل سولفات 2 مولار بود که بعد از عبور از یک صافی برای پرکردن الکترودها مورد استفاده قرار می‌گرفت. این الکتروود توسط یک سیم AgAgCl به آمپلی فایر متصل می‌شد. آمپلی فایر مورد استفاده دارای مد Bridge بود که برای تزریق جریان مورد استفاده قرار می‌گرفت. بعد از قرار گرفتن بافت در محفظه ثبت و سوپرفیوژن با محلول Y-II الکتروود داخلی سلولی بر روی سطح ناحیه مورد مطالعه قرار می‌گرفت. سپس با استفاده از میکرومانیپولاتور با کنترل الکترونیکی با حرکت‌های 2/5 میکرونی در یک زاویه 60° نسبت به برش افقی از میان بافت عبور می‌کرد. کاهش اختلاف پتانسیل اندازه‌گیری شده نسبت به الکتروود رفرانس به مقداری در حدود 60 mV- و ثبت پتانسیل عمل به صورت خود به خودی یا با تزریق جریان مثبت، نشان دهنده محل نوک الکتروود بود.

پارامترهای اندازه‌گیری شده در ثبت داخل سلولی

شامل:

- 1) پتانسیل استراحت غشاء (Resting Membrane Potential; RMP) نسبت به خط پایه،
- 2) آستانه پتانسیل عمل (Threshold of AP) اختلاف بین خط پایه و شلیک پتانسیل عمل،
- 3) دامنه (Amp): به صورت اختلاف بین آستانه و ماکزیمم قسمت مثبت منحنی،
- 4) طول مدت پتانسیل عمل در Half Amplitude Width (dur of APHAW)،

حدود 2 دقیقه حیوان به داخل آن منتقل و در آن بسته می‌شد. بعد از اطمینان از بیهوشی عمیق حیوان، سر آن جدا گردیده و مغز حیوان خارج می‌گردید و سپس در محلول (Yamamoto-I; Y-I) (اعداد به mmol/L هستند؛ 124: NaCl، 4: KCl، 1/24: NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>، 1/3: MgSO<sub>4</sub>، 26: NaHCO<sub>3</sub>، 1: CaCl<sub>2</sub>، 10: C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) سرد دمای 3°C که کربوژنه (CO<sub>2</sub> 5 درصد و O<sub>2</sub> 95 درصد) می‌شد قرار می‌گرفت و با یک میکروتوم مقاطع مغزی ترکیبی حاوی قشر- هیپوکمپ- بادامه به ضخامت 500 μm تهیه می‌گردید. نمونه‌ها در دمای 28°C در Y-I نگهداری می‌شدند و بعد از 30 دقیقه CaCl<sub>2</sub> با غلظت 1 mmol/L اضافه می‌شد. pH محلول نگهداری بافت بین 7/45-7/35 بود. تنظیم pH با مقدار کربوژن صورت می‌گرفت.

بعد از نیم ساعت از اضافه کردن کلرید کلسیم، بافت مورد مطالعه از محفظه نگهداری بافت توسط یک قطره چکان به یک محفظه Interface بر روی یک غشاء ترانسپرنس منتقل و توسط محلول (Y-II) (اعداد به mmol/L هستند؛ 124: NaCl، 4: KCl، 1/24: NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>، 1/3: MgSO<sub>4</sub>، 26: NaHCO<sub>3</sub>، 2: CaCl<sub>2</sub>، 10: C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) سوپرفیوژ می‌شد. دمای محلول Y-II به طور مداوم توسط یک پروب اندازه‌گیری می‌شد و در دمای 30/8°C به طور ثابت نگهداری می‌شد. سرعت محلول سوپرفیوژ به طور دقیق کنترل می‌شد و تقریباً 2ml در دقیقه بود. کربوژن مرطوب و گرم به روی نمونه هدایت می‌شد تا از خشک شدن آن جلوگیری شود.

یک الکتروود شیشه‌ای با KCl، 2 مولار پر شده و در یک نگهدارنده ویژه ثابت می‌گردید و با یک لوله پلاستیکی به یک تزریق کننده فشار متصل شده و در حالی که نوک الکتروود در تماس با قشر انتورینال (لایه II-I) بود، یک پالس با فشار بالا جهت تزریق پتاسیم کافی برای ایجاد SD اعمال می‌شد. قطر نوک الکتروود 2 μm، فشار تزریق 0/1 بار به مدت 200 میلی ثانیه بود. در این

شد. مقادیر  $P < 0/05$  معنادار در نظر گرفته شدند.

## یافته‌ها

نتایج حاصله بر پایه اندازه‌گیری از شش نورون می‌باشد که تحت شرایط کنترل، داده‌های حاصل از آن‌ها جمع‌آوری شده است. پتانسیل استراحت غشاء سلول‌ها بین  $-50/2$  mV و  $-65/2$  mV، مقادیر آستانه پتانسیل عمل (Thr of AP) بین  $3/8$  mV و  $7/9$  mV، دامنه (Amp) بین  $50/3$  mV و  $83$  mV، طول مدت پتانسیل عمل (dur of AP<sub>HAW</sub>) بین  $28/2$  ms و  $13/3$  ms، دامنه AHP بین  $3/7$  mV و  $6/8$  mV و طول مدت AHP نیز بین  $48$  ms تا  $200$  ms قرار داشتند. فرکانس اندازه‌گیری شده نیز در محدوده  $24/min$  و  $240/min$  بود (جدول ۱، شکل ۱).

به علاوه، موج مربعی مثبت با شدت جریان nA  $0/2$ ،  $0/3$  nA،  $0/4$  nA به داخل همه نورون‌ها تزریق شد. تزریق جریان nA  $0/2$  منجر به دپولاریزاسیون پتانسیل غشاء (AD) از  $6/5$  mV به  $16/3$  mV، دامنه از  $38/7$  mV تا  $47/5$  mV، مقادیر ISI بین  $62/6$  ms تا  $231/3$  ms شد (جدول ۲). تعداد سه تا از نورون‌ها FA نشان دادند و سه تا پتانسیل عملی نشان ندادند. تزریق جریان  $0/3$  nA منتهی به دپولاریزاسیون غشاء (AD) بین  $4/9$  mV و  $23/3$  mV، دامنه از  $82/4$  mV تا  $53/3$  mV، فواصل بین اسپایک (ISI) بین  $33/7$  mV و  $56/5$  mV شد (جدول ۲). تعداد چهار عدد از نورون‌ها FA نشان دادند و دو تا پتانسیل عملی نشان ندادند.

در تزریق جریان nA  $0/4$  دامنه دپولاریزاسیون بین  $12/6$  mV و  $28/5$  mV، دامنه مقادیری بین  $56/7$  mV و  $83/3$  mV، فاصله بین اسپایک‌ها بین  $48/1$  ms و  $101/4$  ms قرار گرفتند (جدول ۲). تعداد چهار تا از سلول‌ها سریع سازش (FA) بودند و فقط دو تا الگوی SA را نشان دادند.

بعد از القاء SD، شش نورون در آمیگدال آزمایش شدند. پتانسیل استراحت غشاء (RMP) بین  $-44/3$  mV و

دامنه AHP (AHP Amp) و طول مدت AHP (AHP dur)،

فرکانس پتانسیل عمل در دقیقه می‌باشند.

پارامترهای اندازه‌گیری شده بعد از تزریق جریان مثبت:

(۱) دامنه دپولاریزاسیون پتانسیل غشاء (AD)،

(۲) دامنه تخلیه (Amp)،

(۳) فاصله بین دو تا اسپایک در زمان تخلیه (ISI) بودند.

همچنین الگوی تخلیه نورون‌ها:

(۱) نورون‌هایی با سازش پذیری سریع (FA)،

(۲) نورون‌هایی با سازش پذیری آهسته (SA)،

(۳) نورون‌هایی با خاصیت ذاتی انفجاری (Intrinsically Bursting) بود.

پارامترهای اندازه‌گیری فعالیت صرعی:

(۱) طول مدت PDS (PDS dur)،

(۲) دامنه دپولاریزاسیون (AD)،

(۳) فاصله بین اسپایک‌ها (ISI) بودند.

ثبت خارج سلولی، توسط یک میکروالکتروود شیشه‌ای و الکتروود رفرانس صورت می‌گرفت. در ثبت خارج سلولی میکرو الکتروود با محلول Y-II پر می‌شد و مقاومت الکتروود بین  $2/5 - 0/5$  مگا اهم بود که توسط یک پیل  $AgAgCl-KCl$  به آمپلی فایر متصل می‌شد. برای ثبت پتانسیل‌های میدانی صرعی (EFP)، الکتروود ثبت در ناحیه CA1 قرار می‌گرفت و دامنه پتانسیل‌های میدانی صرعی (EFP Amp) بین ماکزیمم نقاط مثبت و منفی و طول مدت (EFP dur)، بین خطوط دور شدن و برگشتن به پتانسیل استراحت غشاء اندازه‌گیری می‌گردید.

ثبت درون یاخته‌ای با Axoscope (Axon Inst.)

نسخه ۱۰ صورت گرفت. همه مقادیر به صورت میانگین  $(M) \pm$  انحراف معیار میانگین (SEM) ذکر شده‌اند. آنالیز آماری با نرم‌افزار Sigma Plot 8 و Sigma Stat 3 انجام شد. برای تعیین اختلاف معنادار آماری از آزمون‌های تی زوجی و آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی استفاده

جدول ۱: اندازه‌گیری متغیرهای پتانسیل عمل قبل و بعد از SD در ناحیه LA

RMP (mV)	Thr of AP (mV)	Amp (mV)	dur of AP <sub>HAW</sub> (ms)	AHP <sub>amp</sub> (mV)	AHP <sub>dur</sub> (ms)	Freq (min <sup>-1</sup> )	
-۶۰/۳±۰/۵	۵/۵±۰/۲	۶۳/۷±۲	۲۴/۹±۰/۴	۵/۶±۰/۱	۹۸/۴±۵	۱۶۴/۱±۴۰/۲	قبل از ایجاد SD
-۵۲/۸±۰/۷۸	۳/۳±۰/۱	۵۳/۹±۱/۱	۸/۶±۱/۲	۲/۸±۰/۲	۳۷/۲±۳/۳	۲۲۷/۲±۴۵/۱	بعد از ایجاد SD
<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۵	P-Value

میانگین (S.E.M) ± (M) برای پتانسیل استراحت غشاء (RMP)، آستانه پتانسیل غشاء (Thr of AP)، دامنه (Amp)، طول مدت پتانسیل عمل در Half Amplitude With (dur of AP<sub>HAW</sub>)، دامنه (AHP<sub>amp</sub>) و طول مدت AHP (AHP<sub>dur</sub>) و فرکانس پتانسیل عمل (Freq) در آمیگدال جانبی قبل و بعد از SD. P-Value: نشان دهنده معناداری بر حسب اختلاف بین دو اندازه با استفاده از آزمون تی زوجی می‌باشد.

جدول ۲: اندازه‌گیری متغیرهای پتانسیل عمل بعد از تزریق جریان قبل و بعد از SD در ناحیه LA

P-Value	بعد از ایجاد SD	قبل از ایجاد SD	پارامترهای ثبت شده	شدت تحریک
۰/۰۴۱	۲/۱±۱۴/۸	۲±۱۰/۹	AD (mV)	
۰/۷۷۱	۲/۲±۵۱/۸	۱±۴۱/۹	Amp (mV)	۰/۲ nA
۰/۰۸	۸/۹±۵۸/۸	۲۹/۶±۱۲۹/۹	ISI (ms)	
۰/۰۳۵	۲/۳±۲۲/۸	۳/۱±۱۲/۸	AD (mV)	
۰/۵۸	۳/۹±۵۴	۷/۷±۶۸/۳	Amp (mV)	nA ۰/۳
۰/۰۱	۳/۲±۲۶/۴	۲/۲±۴۳/۷	ISI (ms)	
۰/۰۳۸	۳/۶±۲۵/۴	۵/۲±۲۲/۴	AD (mV)	
۰/۳۴	۱۲/۸±۶۰/۷	۴/۳±۷۱/۱	Amp (mV)	nA ۰/۴
۰/۰۰۴	۳/۳±۲۸/۳	۱۰/۸±۵۹/۷	ISI (ms)	

میانگین (S.E.M) ± (M) برای دامنه دپولاریزاسیون (AD)، دامنه پتانسیل عمل (Amp) و فواصل بین اسپایک (ISI). تخلیه‌های یاخته‌های عصبی در بادامه جانبی با تزریق جریان مثبت با شدت‌های مختلف توسط الکتروود درون یاخته‌ای قبل و بعد از ایجاد SD. P-Value: نشان‌دهنده سطح معناداری بر حسب اختلاف بین دو اندازه با استفاده از آزمون تی زوجی می‌باشد.

مقادیر بین ۱/۳ ms و ۲۵/۴ ms بودند (جدول ۱). دامنه AHP مقادیری از ۱/۲ mV تا ۵/۳ mV را نشان داد (جدول ۱) (P<۰/۰۰۰۱). طول مدت AHP بین ۲/۱ ms و ۵۸/۴ ms (جدول ۱) (P<۰/۰۰۰۱). فرکانس به‌طور معناداری به مقادیری بین ۱۳۵/min و ۳۵۰/min تغییر کرد (جدول ۱) (P<۰/۰۰۴). بعد از ایجاد SD شدت جریان‌های ۰/۲ nA، ۰/۳ nA و ۰/۴ nA به داخل نوروون تزریق شدند. بعد از تزریق یک جریان ۰/۲ nA دامنه دپولاریزاسیون (AD) در محدوده بین ۳/۵ mV و ۱۲/۸ mV بود (جدول ۲). این نتایج به‌طور معناداری

mV ۶۵/۲- (جدول ۱) بود و اختلاف معناداری بین مقادیر گروه کنترل در RMP وجود داشت (P=۰/۰۰۱). آستانه پتانسیل عمل (Thr of AP) مقادیر ۳/۹ mV و ۸ mV را نشان داد (جدول ۱). کاهش دامنه آستانه پتانسیل عمل بعد از SD همچنین معنادار بود (P<۰/۰۰۱). برای دامنه پتانسیل عمل Amp مقادیر بین ۴۹/۲ mV و ۷۰/۱ mV آشکار شدند (جدول ۱). اختلاف معناداری برای دامنه پتانسیل عمل قبل از SD وجود داشت (P<۰/۰۰۱). همچنین طول مدت پتانسیل عمل (dur of AP<sub>HAW</sub>) تغییرات معناداری نشان دادند (P<۰/۰۰۱) و

جدول ۳: اندازه‌گیری متغیرهای پتانسیل‌های میدانی صرعی بعد از ایجاد SD در LA

P-value	+ ۳۰ min	+ ۲۰ min	+ ۱۲ min	
<۰/۰۵	۰/۹ ± ۰/۲	۰/۸ ± ۰/۲	۰/۴ ± ۰/۱	EFP <sub>amp</sub> (mV) M ± SE
<۰/۰۵	۱۸۹۹/۴ ± ۴۸۹/۱	۸۸۹ ± ۱۱۱	۵۳۳/۸ ± ۵۲	EFP <sub>dur</sub> (ms) M ± SE
۰/۴۵۵	۸/۸ ± ۱/۷	۹/۲ ± ۱/۸	۷/۲ ± ۰/۸	EFP <sub>Freq</sub> (1/min) M ± SE

میانگین (M) ± انحراف معیار میانگین (SEM) برای دامنه پتانسیل‌های میدانی صرعی (EFP<sub>amp</sub>)، طول مدت پتانسیل‌های میدانی صرعی (EFP<sub>dur</sub>) و فرکانس پتانسیل‌های میدانی صرعی در آمیگدال جانبی، ۱۲، ۲۰ و ۳۰ دقیقه بعد از SD. P-Value: نشان‌دهنده معناداری بر حسب اختلاف بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه می‌باشد.

جدول ۴: اندازه‌گیری متغیرهای پتانسیل عمل صرعی بعد از ایجاد SD در LA

P-value	+ ۳۰ min	+ ۲۰ min	+ ۱۲ min	
<۰/۰۵	۱۶۱۸/۳ ± ۴۷۶/۵	۵۲۹/۹ ± ۲۷	۴۲۱/۸ ± ۳۹/۴	PDS <sub>dur</sub> (ms) M ± SE
<۰/۰۵	۴/۶ ± ۲/۴	۱۰/۱ ± ۰/۶	۸ ± ۰/۶	AD (mV) M ± SE
۰/۴۱۴	۵۴/۲ ± ۱۰/۷	۳۸/۴ ± ۴/۳	۴۵/۶ ± ۶/۸	ISI (ms) M ± SE

میانگین (M) ± انحراف معیار میانگین (SEM) برای طول مدت فعالیت پاروکسیمال نورو (PDS<sub>dur</sub>)، دامنه دپولاریزاسیون (AD)، فواصل بین اسپایک (ISI) در آمیگدال جانبی، ۱۲، ۲۰ و ۳۰ دقیقه بعد از SD. P-Value: نشان‌دهنده معناداری بر حسب اختلاف بین دو اندازه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه می‌باشد.

(جدول ۲) و تغییر معناداری نشان داد (P=۰/۰۰۴). همه

سلول‌ها از نوع SA بودند.

بعد از گذشت ۸/۶ ± ۲/۹ دقیقه از SD فعالیت

صرعی در برش مغزی مشاهده شد (شکل ۱). پتانسیل‌های

میدانی به‌طور معناداری (P<۰/۰۵) بعد از ۱۲ دقیقه

دامنه‌ای بین ۰/۱ mV و ۰/۷ mV، بعد از ۲۰ دقیقه دامنه‌ای

(EFP<sub>amp</sub>) بین ۰/۲ mV تا ۳/۴ mV و بعد از ۳۰ دقیقه

مقادیر دامنه بین ۰/۲ mV و ۲/۶ mV قرار داشتند (جدول

۳). طول مدت فعالیت صرعی (EFP<sub>dur</sub>) بعد از ۱۲ دقیقه

از ۱۹۰ ms تا ۱۳۱۰ ms، به‌طور میانگین بعد از ۲۰ دقیقه،

مقادیر در محدوده بین ۱۴۰ ms و ۲۳۰۰ ms و بعد از ۳۰

دقیقه مقادیر بین ۵۷۷ ms و ۹۲۵۰ ms تعیین گردید

(جدول ۳). فرکانس فعالیت صرعی ۱۲ دقیقه بعد از SD

بین ۵/min و ۱۰/min، بعد از ۲۰ دقیقه بین ۵/min و

۱۶/min و بعد از ۳۰ دقیقه از ۶/min تا ۱۷/min بود

(جدول ۳).

فعالیت صرعی به‌صورت داخل سلولی نیز ثبت و

اندازه‌گیری شد. پتانسیل‌های عمل صرعی به صورت

(P=۰/۰۴۱) با مقادیر قبل از SD تفاوت داشتند. دامنه

پتانسیل عمل (Amp) بین ۴۳/۳ mV و ۶۳/۶ mV بود

(P<۰/۷۷۱) (جدول ۲) و فواصل بین اسپایک‌ها (ISI)

مقادیری بین ۳۵/۹ ms و ۷۷/۳ ms نشان دادند (جدول ۲)

(P=۰/۰۸). تعداد چهار تا سلول الگوی تخلیه FA و دو تا

سلول الگوی SA نشان دادند. تزریق جریان ۰/۳ nA دامنه

دپولاریزاسیون را از ۱۰/۵ mV تا ۳۲/۲ mV بالا برد

(جدول ۲) (P=۰/۰۳۵). دامنه (Amp) مقادیر ۴۳/۷ mV تا

۷۲/۵ mV را نشان داد (جدول ۲) (P=۰/۰۵۸). برای

فواصل بین اسپایک (ISI) مقادیر بین ۱۸/۷ ms و

۳۸/۹ ms تعیین شدند (جدول ۲) که تفاوت معناداری

(P=۰/۰۱) با قبل از SD داشتند. همه سلول‌ها تخلیه نوع

SA نشان دادند. تزریق جریان ۰/۴ nA دامنه،

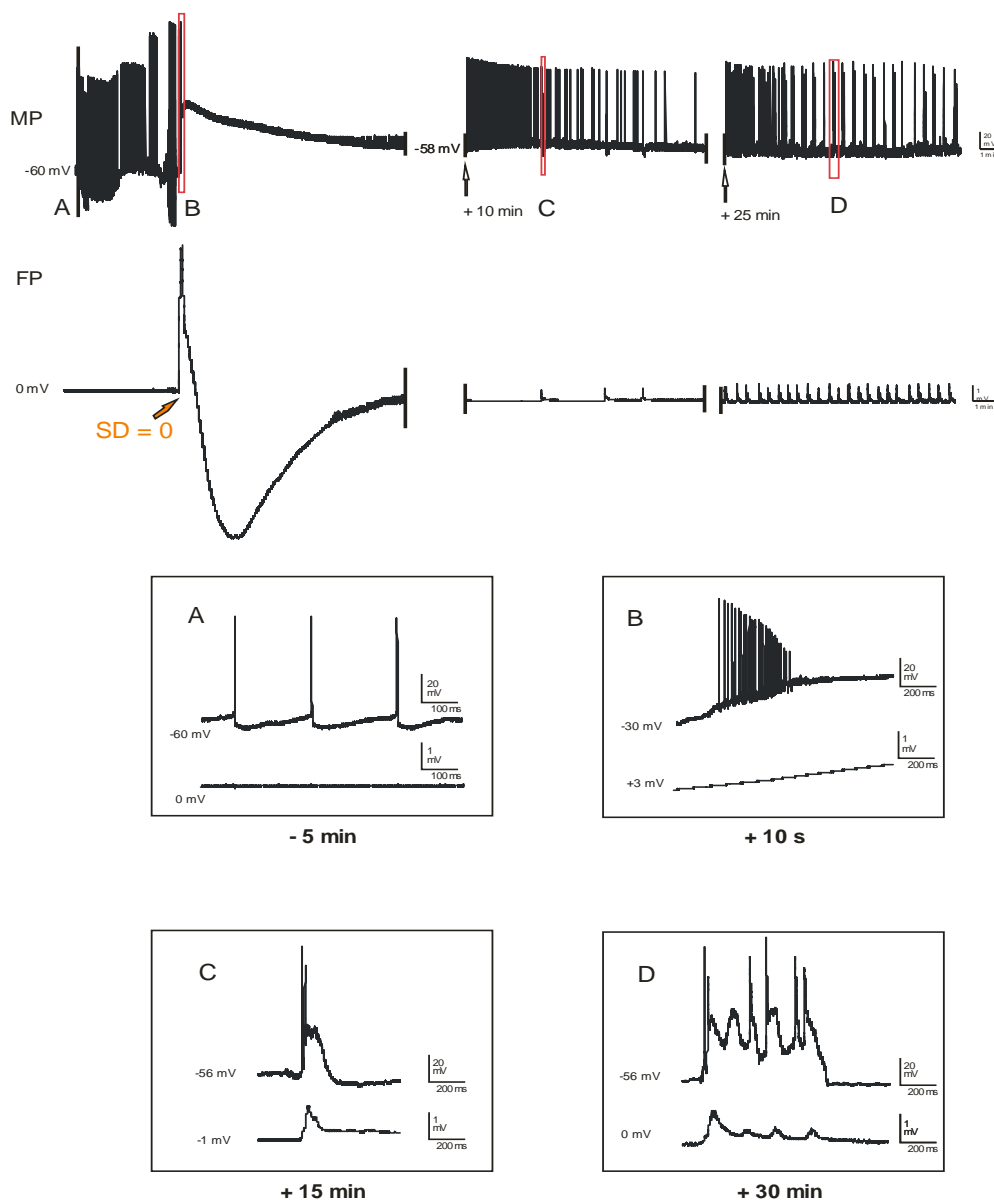
دپولاریزاسیون (AD) را از ۱۰/۶ mV به ۳۴/۸ mV تغییر

داد (جدول ۲). بنابراین به‌طور معناداری بعد از SD

افزایش نشان دادند (P=۰/۰۳۸). دامنه بین ۳۴/۴ mV و

۷۲/۵ mV بود (جدول ۲) (P=۰/۰۶۰). حتی فواصل بین

اسپایک (ISI) مقادیری بین ۱۸/۶ ms تا ۴۲/۹ ms داشت



شکل ۱: نمونه‌ای از ثبت در آمیگدال جانبی علامت پیکان: نشان دهنده القاء SD. A: فعالیت خود به خودی به مدت ۵ دقیقه قبل از SD. B: مرحله اولیه تحریک‌پذیری ۱۰ ثانیه بعد از SD. C|D: فعالیت صرعی ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از SD.

همان‌گونه با فعالیت شبه صرعی (epileptiform) خارج سلولی ثبت و اندازه‌گیری شدند. دامنه دپولاریزاسیون (AD)، ۱۲ دقیقه بعد از SD بین ۳/۵ mV و ۱۳/۹ mV، بعد از ۲۰ دقیقه مقادیر بین ۶/۱ mV و ۱۷/۸ mV و بعد از ۳۰ دقیقه در مقادیر بین ۷/۵ mV و ۲۶/۸ mV بود (جدول ۴)، بنابراین افزایش معناداری در بین زمان‌های مختلف وجود داشت ( $P < 0/05$ ).  
 طول مدت PDS همچنین به‌طور معناداری افزایش یافت ( $P < 0/05$ )؛ یعنی؛ مقادیر بعد از ۱۲ دقیقه بین ۱۶۱/۷ و ۷۱۴ ms، بعد از ۲۰ دقیقه طول مدت PDS بین ۲۱۰ ms و ۷۲۵ ms و بعد از ۳۰ دقیقه در مقادیر ۴۳۰ تا ۱۰۲۰۰ ms قرار داشت (جدول ۴). فاصله بین اسپایک‌ها (ISI) تغییر معناداری نداشت ( $P < 0/05$ ) زیرا بعد از ۱۲ دقیقه مقادیر از ۳۲/۵ ms تا ۶۹/۳ ms، بعد از ۲۰ دقیقه آن‌ها بین ۱۴/۳ ms و ۵۶/۳ ms و ۳۰ دقیقه بعد از SD، فواصل بین اسپایک‌ها (ISI) مقادیری بین ۱۰/۹ ms و ۱۵۷/۳ ms داشت (جدول ۴).

همان‌گونه با فعالیت شبه صرعی (epileptiform) خارج سلولی ثبت و اندازه‌گیری شدند. دامنه دپولاریزاسیون (AD)، ۱۲ دقیقه بعد از SD بین ۳/۵ mV و ۱۳/۹ mV، بعد از ۲۰ دقیقه مقادیر بین ۶/۱ mV و ۱۷/۸ mV و بعد از ۳۰ دقیقه در مقادیر بین ۷/۵ mV و ۲۶/۸ mV بود (جدول ۴)، بنابراین افزایش معناداری در بین زمان‌های مختلف وجود داشت ( $P < 0/05$ ).  
 طول مدت PDS همچنین به‌طور معناداری افزایش یافت ( $P < 0/05$ )؛ یعنی؛ مقادیر بعد از ۱۲ دقیقه بین ۱۶۱/۷ و ۷۱۴ ms، بعد از ۲۰ دقیقه طول مدت PDS بین ۲۱۰ ms و ۷۲۵ ms و بعد از ۳۰ دقیقه در مقادیر ۴۳۰ تا ۱۰۲۰۰ ms قرار داشت (جدول ۴). فاصله بین اسپایک‌ها (ISI) تغییر معناداری نداشت ( $P < 0/05$ ) زیرا بعد از ۱۲ دقیقه مقادیر از ۳۲/۵ ms تا ۶۹/۳ ms، بعد از ۲۰ دقیقه آن‌ها بین ۱۴/۳ ms و ۵۶/۳ ms و ۳۰ دقیقه بعد از SD، فواصل بین اسپایک‌ها (ISI) مقادیری بین ۱۰/۹ ms و ۱۵۷/۳ ms داشت (جدول ۴).

## بحث

در آمیگدال جانبی (LA)، SD تحریک‌پذیری نورونی را افزایش می‌دهد. پتانسیل استراحت سلول در جهت دپولاریزاسیون بوده و آستانه پتانسیل عمل کاهش می‌یابد. در نتیجه فعالیت خود به خودی نورون افزایش یافته و فرکانس به طور معناداری افزایش می‌یابد. دامنه AHP به طور معناداری کاهش یافت و طول مدت آن کاهش یافت. در طی تزریق جریان، دامنه دپولاریزاسیون افزایش و فواصل بین اسپایک به طور معناداری کاهش یافت. همچنین سلول‌ها از FA به SA تبدیل شدند. یک نوع هماهنگی بین پتانسیل‌های عمل صرعی و پتانسیل‌های میدانی وجود داشت و طول مدت PDS مثل دامنه دپولاریزاسیون به طور پیوسته در حال افزایش بود.

آمیگدال ارتباط عملکردی مهمی با ساختارهای ارتباطی قشر بینایی، قشر گیجگاهی و پس سری دارد. مطالعاتی وجود دارند که گسترش SD در آمیگدال و ساختارهای اطراف را در مدل‌های حیوانی مختلف مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۲). به نظر می‌رسد که شکل‌پذیری سیناپسی در ساختارهای آمیگدال اهمیت اساسی در بیماری‌های نورولوژیک دارد. یک مطالعه حیوانی *in vitro* توسط دهنبدی و همکارانش در سال ۲۰۰۸ و نشان داد که افزایش اثر LTP بعد از SD احتمالاً نتیجه درگیری گیرنده‌های AMPA و NMDA گلوتامات و D2 دوپامین می‌باشد (۱۳). آمیگدال به دلیل ارتباط عملکردی و آناتومیک با دیگر نواحی مغز قادر به پردازش مقدار زیادی از اطلاعات به دست آمده از قشر، سیستم حرکتی، اندوکراین و اتونومیک می‌باشد. بنابراین، اختلال در عملکرد آمیگدال جانبی به علت SD نقش مهمی در علایم نورولوژیک دارد و به‌طور مستقیم خوردن و نوشیدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۴). SD یک طرفه و دوطرفه منتهی به خشم و غذا خوردن کلیشه‌ای، رفتار نوشیدن و خمیازه کشیدن می‌شود و همچنین نعوظ مکرر و سرگیجه در بعضی از آزمایشات حیوانی مشاهده می‌شود (۱۵). مدل آزمایشگاهی ما یک مدل صرع مقاوم به درمان

برای بررسی این که اختلال در توازن تحریک و مهار به بروز صرع منجر می‌شود، آزمایش‌های تحقیق حاضر طراحی شدند. در این آزمایش‌ها چون غلظت بیکوکولین زیر آستانه تشنج ( $1/25 \mu\text{mol/L}$ ) بود وقوع خود به خودی صرع مشاهده نشد، اما استعداد مقاطع مغزی برای تشنج افزایش یافت. بعد از القاء SD فعالیت شبه تشنجی در همه بافت‌های مورد آزمایش ایجاد شد. با ثبت داخل سلولی ثابت شد که این فعالیت‌ها یک فعالیت صرعی واقعی است. همچنین نشان داده شد که تعداد زیادی از پارامترهای پتانسیل عمل بعد از القای SD تغییر می‌یابد، چنان‌که می‌توان فرض نمود که تحریک‌پذیری نورونی پایه افزایش یافته است.

اخیراً برگر و همکاران اثرات تحریکی SD بر تحریک‌پذیری و کارایی سیناپسی بافت قشری انسان را توصیف کردند (۱۱). یکی از نتایج مهم تحقیق آن‌ها این بود که بعد از فاز ابتدایی مهار موقت فعالیت سیناپسی، یک افزایش پایدار و معنادار در دامنه پتانسیل‌های میدانی پس سیناپسی تحریکی وجود دارد. بنابراین کارایی انتقال سیناپسی و نیز القاء LTP افزایش می‌یابد. دوره کوتاه مهار سیناپسی توسط توزیع مجدد حجم عظیمی از یون‌ها و در نتیجه اختلال در هومئوستاز سلولی ایجاد می‌شود. دپولاریزاسیون قوی در جریان SD کانال‌های وابسته به ولتاژ در غشاء سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌عنوان مثال، کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ غیرفعال می‌شوند که به نوبه خود باعث مهار دامنه پتانسیل‌های برانگیخته شده می‌گردد (۱۱). همچنین گرجی در سال ۲۰۰۱ نشان داد که آزادی و انتشار انواع اسیدهای آمینه تحریکی همچون نوروکینین، پپتید مرتبط با ژن کلسیتونین و سروتونین به تحریک‌پذیری کمک می‌کنند؛ فاز نهایی تحریک‌پذیری نورونی می‌تواند در نتیجه اثرات این میانجی‌های شیمیایی باشد (۱۲). پس می‌توان فرض کرد که SD تحریک‌پذیری نورونی را افزایش می‌دهد.



اهمیت است و لازم است که مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک آن مورد آنالیز قرار گیرد. به همین دلیل، آنالیز دقیق گیرنده‌ها روش بسیار مناسبی برای فهم عمیق پاتوفیزیولوژی آن خواهد بود.

بنابراین، یافته‌های مطالعه حاضر در سطح داخل سلولی در نواحی مختلف مغز نشان داد که افزایش تحریک‌پذیری معناداری در خصایص الکتروفیزیولوژیک یاخته‌های عصبی وجود دارد. به علاوه، همه بافت‌های مورد مطالعه بعد از القاء SD فعالیت صرعی در سطح داخل سلولی و خارج سلولی، شبیه فعالیت صرعی واقعی بود که حاصل عدم تعادل بین تحریک و مهار می باشد. به‌طور آزمایشگاهی این نوع فعالیت با اضافه کردن بیکوکولین زیر آستانه تشنج ایجاد گردید. به همین دلیل، در بیمارانی که کاهش مهار یا افزایش تحریک‌پذیری دارند SD قادر به شلیک فعالیت صرعی می باشد و شناخت ساز و کارهای تحریک‌پذیری ثانویه ممکن است راه جدیدی در درمان بیماران تشنجی به وجود آورد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و دانشگاه مونسر آلمان برای حمایت مالی از این تحقیق تشکر می نمایند.

می باشد. به همین دلیل، مدلی است که می تواند به طور بالقوه در گسترش تحقیقات داروهای ضد صرع مورد استفاده قرار گیرد.

به‌طور خلاصه، در بعضی از مطالعات فرض شده است که تحریک‌پذیری ثانویه شبکه عصبی نورونی بعد از SD وجود دارد که تحقیقات ما در سطح داخل سلولی می تواند این مسأله را تأیید کند. در منطقه مغزی مورد مطالعه تغییرات معناداری در ویژگی نورون‌ها ثبت شد که همگی نشان‌دهنده افزایش تحریک‌پذیری نورونی بوده و همچنین نشان داده شد که SD بعد از القاء فعالیت شبه صرعی می تواند در سطح نورونی به‌عنوان فعالیت صرعی واقعی مورد بررسی قرار گیرد. پیش نیاز وقوع کلینیکی صرع، عدم تعادل بین مهار و تحریک نورونی می باشد. در آزمایشگاه این مسأله با اضافه کردن بیکوکولین در غلظت زیر آستانه‌ای ایجاد شده است، چنان‌که در موقعی که یک کاهش مهار یا یک افزایش در تحریک‌پذیری وجود دارد، صرع دیده می شود. بر طبق نتایج ما SD منجر به شلیک فعالیت صرعی و نیز بعضی دیگر از بیماری‌ها می شود.

این ارتباط همچنین توسط محققین دیگر نیز فرض شده است. در میان مطالعات روی فاز ابتدایی، تحریک‌پذیری افزایش یافته بعد از SD و مهار متعاقب فعالیت نورونی فهمیدن فاز ثانویه تحریک‌پذیری نورونی بعد از SD در بسیاری از بیماری‌های نورولوژیک با

### References

1. Lowenstein DH. Seizures and epilepsy. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. New York: McGraw-Hill; 1998. pp. 2311–25.
2. Bachevalier J. Medial temporal lobe structures and autism: a review of clinical and experimental findings. *Neuropsychologia*. 1994;32(6):627-48.
3. Back T, Kohno K, Hossmann KA. Cortical negative DC deflections following middle cerebral artery occlusion and KCl-induced spreading depression: effect on blood flow, tissue oxygenation, and electroencephalogram. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1994;14(1):12-9.
4. Balestrino M, Young J, Aitken P. Block of (Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>)ATPase with ouabain induces spreading depression-like depolarization in hippocampal slices. *Brain Res*. 1999;838(1-2):37-44.
5. Bannerman DM, Rawlins JN, McHugh SB, Deacon RM, Yee BK, Bast T, et al. Regional dissociations within the hippocampus--memory and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*. 2004;28(3):273-83.

6. Birbaumer N, Grodd W, Diedrich O, Klose U, Erb M, Lotze M, et al. fMRI reveals amygdala activation to human faces in social phobics. *Neuroreport*. 1998;9(6):1223-6.
7. Avoli M, Drapeau C, Louvel J, Pumain R, Olivier A, Villemure JG. Epileptiform activity induced by low extracellular magnesium in the human cortex maintained in vitro. *Ann Neurol*. 1991;30(4):589-96.
8. Cantor FK. Vestibular-temporal lobe connections demonstrated by induced seizures. *Neurology*. 1971 May;21(5):507-16
9. Caplan LR. Transient global amnesia: Characteristic features and overview. In: Markowitsch HJ, Editor. *Transient Global Amnesia and Related Disorders*. Toronto: Hogrefe & Huber; 1990. pp. 15-27.
10. Cutrer FM, Sorensen AG, Weisskoff RM, Ostergaard L, Sanchez del Rio M, Lee EJ, et al. Perfusion-weighted imaging defects during spontaneous migrainous aura. *Ann Neurol*. 1998;43(1):25-31.
11. Berger M, Speckmann EJ, Pape HC, Gorji A. Spreading depression enhances human neocortical excitability in vitro. *Cephalalgia*. 2008;28(5):558-62.
12. Gorji A. Spreading depression: a review of the clinical relevance. *Brain Res Brain Res Rev*. 2001;38(1-2):33-60.
13. Dehbandi S, Speckmann EJ, Pape HC, Gorji A. Cortical spreading depression modulates synaptic transmission of the rat lateral amygdala. *Eur J Neurosci*. 2008;27(8):2057-65.
14. Shibata M. Role of amygdala in feeding and drinking induced by single cortical spreading depression in the rat. *Physiol Behav*. 1982;29(4):649-56.
15. Huston JP, Bures J. Drinking and eating elicited by cortical spreading depression. *Science*. 1970;169(946):702-4.