

مقایسه تأثیرات ضد تشنجی تجویز کاربامازپین (CBZ) و تحریک الکتریکی یک طرفه با فرکانس پایین (LFS) طی کیندلینگ ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی، در موش‌های صحرایی نر بالغ

رضا مقدسی^۱، احمدعلی معاضدی^{۲*}، زهره قطب‌الدین^۳، محمدرضا آخوند^۴

۱. دکترای فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲. استاد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۳. دانشیار فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۴. استادیار گروه آمار، دانشکده آمار، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۸

زمینه و هدف صرع، نوعی بیماری مزمن و چندعاملی همراه با تشنج‌های ناگهانی تکراری است. کاربامازپین، معمول‌ترین دارو برای درمان صرع می‌باشد. امروزه، استفاده از LFS نیز، به عنوان درمان جایگزین، در بیماران مقاوم به دارو مورد توجه می‌باشد؛ لذا در این کار تحقیقاتی، به مقایسه اثر LFS و کاربامازپین، طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی با روش کیندلینگ الکتریکی، بر شاخص‌های تشنجی در موش صحرایی نر بالغ پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها در این مطالعه، تعداد پنجاه سر موش صحرایی نر بالغ، به طور تصادفی، به پنج گروه تقسیم شدند: کیندل (KND)، KLFS، MCK، CBZ20K و CBZ40K. گروه کیندل، تحریک روزانه کیندلینگ را به روش سریع، در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی دریافت می‌کردند. در سایر گروه‌ها نیز تحریکات روزانه کیندلینگ، مشابه گروه کیندل اعمال می‌شد. در گروه کیندل+LFS (KLFS)، بلافاصله پس از پایان تحریکات کیندلینگ، تحریکات LFS اجرا می‌شد. در گروه متیل‌سلولز+کیندلینگ (MCK)، قبل از دریافت تحریکات کیندلینگ، مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر محلول ۵٪ درصد متیل‌سلولز به صورت درون صفاقی دریافت می‌شد. گروه‌های دارو+کیندلینگ (CBZ20K و CBZ40K) قبل از دریافت تحریکات کیندلینگ، به ترتیب مقادیر ۲۰ mg/kg یا ۴۰ mg/kg داروی کاربامازپین، به صورت درون صفاقی، دریافت می‌کردند.

یافته‌ها نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهند که استفاده از LFS یا کاربامازپین، باعث کاهش معنی‌دار میانگین شدت تشنج، مدت‌زمان کل تشنج و مدت‌زمان امواج تخلیه متعاقب در گروه‌های KLFS و CBZ40K نسبت به گروه KND می‌شود ($p < 0.05$). نکته حائز اهمیت این است که مقدار مؤثر CBZ نسبت به LFS اثر کاهشی بیشتری بر شاخص‌های تشنجی دارد.

نتیجه‌گیری با توجه به نتایج حاصل به‌دست آمده، به نظر می‌رسد مقدار مؤثر CBZ نسبت به اعمال LFS به دنبال کیندلینگ هیپوکامپ، در کاهش شاخص‌های تشنجی، مؤثرتر است.

کلیدواژه‌ها:

کیندلینگ هیپوکامپ، تحریک الکتریکی با فرکانس پایین، کاربامازپین، تخلیه متعاقب، شدت تشنج، مدت تشنج.

* نویسنده مسئول: احمدعلی معاضدی

نشانی: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تلفن: ۰۹۱۶۳۰۸۸۰۱۹۸

رایانامه: moazedi.a@gmail.com

شناسه ORCID: 0000-0003-1346-2426

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-00020192-2600

مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۷، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۹، ص ۵۹۳-۶۰۳

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

۱. مقدمه

یک طرفه، مؤثرتر است. تحریک الکتریکی کانون‌های تشنج، روشی منعطف و برگشت‌پذیر است که برای بیماران صرع موضعی، مناسب می‌باشد (۲).

کاربامازپین^۵، یکی از پرمصرف‌ترین و قدیمی‌ترین داروهای ضد تشنجی بیماران صرعی است. این دارو برای درمان صرع لوب گیجگاهی و پیشگیری از تشنج‌های موضعی ساده و پیچیده استفاده می‌شود (۱۰ و ۱۱). کاربامازپین، از طریق افزایش زمان غیرفعالی کانال‌های وابسته به ولتاژ سدیم در نورون‌های پیش‌سیناپسی، توانایی آنها را برای فرکانس زیاد پتانسیل‌های عمل تکراری، کاهش و تشنج را متوقف می‌کند. همچنین، آزادسازی میانجی عصبی از نورون پیش‌سیناپسی را مهار می‌کند (۱۲). کاربامازپین، اثر بازدارندگی قوی بر تشنج حرکتی خودبه‌خودی در موش‌های صحرایی کیندلی دارد (۱۱). کاربامازپین، در مدل کیندلینگ آمیگدال موش صحرایی، آستانه تشنج را به طور معنی‌داری افزایش، ولی مدت زمان تخلیه متعاقب و شدت تشنج را کاهش می‌دهد (۱۳). متأسفانه، استفاده از داروهای ضد صرع عوارض شناختی و رفتاری متعددی دارد. برای مثال، کاربامازپین باعث کندی حرکت، کاهش چالاکی و آسیب به حافظه می‌شود (۱۴).

امروزه، کیندلینگ الکتریکی به عنوان گسترده‌ترین مدل آزمایشگاهی برای مطالعه صرع لوب گیجگاهی استفاده می‌شود (۱۵). کیندلینگ الکتریکی به دو روش معمولی و سریع اجرا می‌شود. در روش معمولی، روزانه یک یا دو بار کانون صرع، تحریک می‌شود ولی در روش کیندلینگ سریع با استفاده از تحریکات مداوم روزانه، حیوان زودتر از روش قبلی به طور کامل کیندل می‌شود (۱۶).

اثر مهار نسبی تحریک الکتریکی با فرکانس پایین^۶ بر فرایندهای کسب کیندلینگ و گسترش تشنج در مدل‌های حیوانی صرع موضعی پیچیده تا حدودی به اثبات رسیده است (۱۷). با وجود، گزارش‌های متعدد درباره اثربخشی LFS در روش کیندلینگ سریع، دوره مطلوب ماندگاری و پروتکل اجرایی LFS (انتخاب هسته‌های مختلف مغز، شدت، مدت و دوره اجرای LFS) هنوز به درستی مشخص نیست (۱۸ و ۱۹). از طرفی، با وجود تلاش جهانی در راستای تولید داروهای نسل جدید برای درمان صرع و گسترش روش‌های گیردارویی، گزارشی مبنی بر استفاده هم‌زمان دارودرمانی صرع و الکتروتراپی ارائه نشده است.

اولین صرع، نوعی بیماری مزمن و چندعاملی است که با تشنج‌های ناگهانی و تکراری، متمایز می‌شود. حدود ۱-۲ درصد مردم جهان از این بیماری رنج می‌برند. با وجود کشف داروهای جدید ضد صرع^۱، یک‌سوم بیماران مصروع، نسبت به درمان‌های دارویی رایج، مقاوم هستند. در بیماران مقاوم به دارو^۲، درمان‌های غیردارویی مانند جراحی، درمان تغذیه‌ای (کتوژنیک) و الکتروتراپی (تحریک عصبی یا تحریک الکتریکی مغز) نقش حیاتی دارند (۱). روش تحریک عصبی، شامل تحریک دستگاه عصبی محیطی، تحریک نخاعی، تحریک زیرپوستی مغز و تحریک عمقی مغز^۳ می‌باشد (۲). روش تحریک عمقی مغز، به عنوان روش جایگزین و مؤثر، در بیماران صرعی مقاوم به دارو استفاده می‌شود (۳). این روش به اشکال گوناگون، در مناطق آناتومیکی مختلف مغز مانند هسته‌های تالاموسی، هسته دم‌دار و هیپوکامپ با استفاده از روش‌های بالینی و مدل‌های حیوانی مطالعه می‌شود (۴). در این روش درمانی، با تغییر مستقیم تخلیه‌های الکتریکی مغز، فرکانس تشنج بیماران مقاوم به درمان، کاهش می‌یابد (۵). در سال‌های اخیر، بیشتر مطالعات روی مناطقی از مغز که اثر مهاری دارند، متمرکز شده است ولی سازوکار آن هنوز به درستی مشخص نیست (۶). امروزه، از تحریک هیپوکامپ، به عنوان روش درمانی جایگزین در بیماران مبتلا به صرع مقاوم لوب گیجگاهی^۴ استفاده می‌شود. چون این روش، عوارض جراحی کانون‌های تشنجی مغز؛ از قبیل از بین رفتن حافظه را ندارد (۴).

هیپوکامپ و ساختارهای اطراف آن، مستعدترین نواحی مغز برای ایجاد و گسترش تشنج، به ویژه تشنج‌های موضعی پیچیده هستند؛ بنابراین، مهار هیپوکامپ از طریق DBS برای بیماران مبتلا به تشنج‌های موضعی پیچیده، مفید می‌باشد (۲). فعالیت انفجاری صرعی شکل در برش‌های هیپوکامپ با استفاده از تحریک فیبرهای مسیر شافر با فرکانس ۱-۱۰۰ هرتز کاهش می‌یابد (۷). تحریک الکتریکی مناسب مسیر پرفورانت در موش‌های صحرایی، باعث کاهش فرکانس تشنج القایی ناشی از تجویز کاینیک اسید به هیپوکامپ می‌شود (۸) ولی تحریکات زیرآستانه‌ای هیپوکامپ با فرکانس ۲۰۰ هرتز، بر اسپایک‌های بین‌حمله‌ای و تشنج، تأثیری ندارد (۹). به نظر می‌رسد در مطالعات انسانی، تحریک دوطرفه هیپوکامپ نسبت به تحریک

4. Temporal Lobe Epilepsy (TLE)
5. Carbamazepine (CBZ)
6. Low frequency stimulation (LFS)

1. Antiepileptic Drug (AED)
2. Drug resistance
3. Deep Brain Stimulation (DBS)

به آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا به شرایط آزمایشگاه عادت کنند. به منظور یکسان‌سازی اثر تغییرات شبانه‌روزی و کاهش استرس، تمام آزمایش‌ها در دوره زمانی مشخص (بین ساعت ۸ صبح تا ۱۸ بعدازظهر) انجام می‌شد.

ب- پروتکل جراحی، آستانه‌گیری و اعمال تحریکات: اعمال تحریکات کیندلینگ و ثبت نوار مغزی حیوانات آزمایشگاهی، فرایندی بسیار حساس و دقیق است. این روش، معمولاً نیازمند ساخت الکترودهای خاص و استقرار صحیح آنها در هسته‌های معین مغز می‌باشد. برای ساخت الکترودهای سه قطبی از الکترودهای استیل ضدزنگ با روکش تفلونی ۱ به قطر ۰/۰۸ اینچ ساخت شرکت A-M SYSTEMS USA استفاده شد. الکترودهای یک قطبی، با استفاده از مفتول مسی نازک ساخته می‌شد.

جراحی حیوانات: برای کاشت الکترودهای سه قطبی و یک قطبی در هیپوکامپ پستی موش صحرایی، پس از توزین و بی‌هوشی با تزریق درون صفاقی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) (۲۰)، سر حیوان در دستگاه استرنوتاکسی (ساخت شرکت STOELTING) ثابت شد. سپس با ایجاد برش و کنار زدن پوست ناحیه سر، مختصات برگما و لامبدا خوانش و بر اساس اطلس پاکسینوس-واتسون (۲۱)، منطقه هیپوکامپ پستی یا CA1 (۲/۵ mm) به سمت عقب و ۱/۸ mm به سمت راست برگما و ۲/۸ mm زیر سخت شامه) در سطح جمجمه علامت‌گذاری شد. در مرحله بعد، با استفاده از مته دندانپزشکی (مدل FOREDOM ساخت شرکت Fordom Electric) جمجمه سوراخ شد و الکترودهای سه قطبی به آرامی وارد هیپوکامپ پستی شد. الکترودهای تک‌قطبی نیز به استخوان پیشانی جمجمه متصل شد. برای افزایش استحکام مجموعه، ۳ عدد پیچ عینک ۴ میلی‌متری، به نقاط دیگری از جمجمه در محل استخوان‌های پیشانی و آهیانه متصل شدند. پس از آن، الکترودها از طریق پین‌های مخابراتی به سوکت مخابراتی دوگانه متصل شدند. در پایان، سوکت مخابراتی با استفاده از سیمان دندانپزشکی روی جمجمه تثبیت گردید. بعد از پایان جراحی و الکتروگذاری، حیوانات به مدت ۷ روز، دوره بهبودی و دست‌آموز شدن را در خانه حیوانات گذراند (۲۲).

تعیین آستانه: پس از دوره بهبودی برای به دست آوردن حداقل شدت تحریک، حیوان با جریانی به شدت ۳۰ میکروآمپر تحریک می‌شد. اگر امواج تخلیه متعاقب (حداقل به مدت ۸ ثانیه) ثبت می‌شد، این شدت جریان به عنوان

با توجه به نقش کلیدی هیپوکامپ در صرع زایی، وجود گزارش‌های متناقض درباره اثربخشی LFS و عوارض متعدد داروهای ضدصرع (۴)، ضرورت پژوهش‌های کاربردی درباره اثرات شناختی، تعیین پروتکل درمانی و سازوکار LFS احساس می‌شود؛ لذا در این کار تحقیقاتی، تأثیر درمانی تحریک یک‌طرفه LFS در ناحیه CA1 هیپوکامپ با داروی کاربامازپین مقایسه شده است. به نظر می‌رسد استفاده از LFS ضمن کاهش عوارض جانبی دارودرمانی (مقاومت و سمیت دارویی)، به کاهش شدت تشنج در مدل کیندلینگ الکتریکی صرع منجر می‌شود.

۲. مواد و روش‌ها

الف- حیوانات: برای انجام این پژوهش، از موش‌های صحرایی نر بالغ، نژاد ویستار (25±225 گرم) استفاده شد. تمام مراحل آزمایش بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید چمران اهواز، با کد «ج ۹ الف/Q180/1390» طراحی و اجرا شد. حیوانات، تحت شرایط مناسب، با دوره روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ثابت (۵۵±۵ درصد) در قفس‌های پلکسی‌گلاس نگاه‌داری شدند و در تمام مراحل آزمایش، آزادانه به آب و غذای مناسب و کافی دسترسی داشتند. موش‌ها از غذای کنسانتره پلت (شرکت خوراک دام پارس تهران) تغذیه می‌شدند. یک هفته پس از سازش با شرایط محیطی، حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه عبارتند از:

۱) گروه کیندل (KND): این گروه روزانه تحریکات کیندلینگ را به روش سریع دریافت می‌کردند. (۲) گروه کیندل+LFS (KLFS): این گروه، علاوه بر تحریکات کیندلینگ روزانه، همانند گروه کیندل، بلافاصله، تحریکات LFS نیز دریافت می‌کردند. (۳) گروه شاهد دارو یا دریافت‌کننده متیل سلولوز+کیندلینگ (MCK): این گروه نیم ساعت قبل از دریافت تحریکات کیندلینگ روزانه، همانند گروه کیندل، مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد متیل سلولوز را به صورت درون صفاقی دریافت می‌کردند. (۴) گروه‌های دریافت‌کننده دارو+کیندلینگ (CBZ20K و CBZ40K): این گروه نیم ساعت پیش از دریافت تحریکات کیندلینگ روزانه، همانند گروه کیندل، به ترتیب مقادیر ۲۰ mg/kg و ۴۰ mg/kg کاربامازپین به صورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند. حیوانات، یک ساعت پیش از شروع آزمون

حیوان تا خاتمه علائم تشنج بر حسب ثانیه (۲۲).
تحریک برای اعمال LFS: تحریک الکتریکی با فرکانس پایین، بلافاصله پس از تحریکات کیندلینگ، به صورت چهار بسته در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای به مدت ۶ روز به حیوان اعمال می‌شد. هر بسته شامل ۲۰۰ موج مربعی دوفازی، هر پالس آن ۰/۱ میلی‌ثانیه و فرکانس آن ۱ هرتز می‌باشد (۱۸).
 ج- تزریق کاربامازپین: داروی کاربامازپین و کمک‌حلال متیل سلولز به ترتیب از شرکت‌های سیگما-آلدزیچ و مرک تهیه شدند. با توجه به نامحلول بودن کاربامازپین در آب، از محلول نیم درصد متیل سلولز به عنوان کمک‌حلال استفاده شد. کمک‌حلال به صورت هفتگی تهیه و در یخچال نگهداری می‌شد. در این آزمایش داروی کاربامازپین با مقادیر mg/kg ۲۰ و ۴۰ mg/kg برای هر موش صحرایی به صورت درون صفاقی تزریق می‌شد. با توجه به نیمه عمر کاربامازپین، نیم تا یک ساعت بعد از تزریق دارو، آزمایش‌های لازم اجرا می‌شوند (۱۱ و ۱۳).

ه- تجزیه و تحلیل آماری: تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام و مقدار خطای نوع اول (آلفا) در کل تحقیق، ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

۳. یافته‌های پژوهش

مقایسه اثر کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخص‌های شدت و مدت تشنج و مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در موش صحرایی در صورت وجود همگونی واریانس‌ها توسط آزمون پارامتری آنالیز واریانس و در غیر این صورت توسط آزمون ناپارامتری کروسیکال-والیس در سطح ۵ درصد گزارش می‌شود (جدول ۱).

شدت جریان آستانه شناخته می‌شد. در غیر این صورت، هر بار شدت جریان ۱۰ میکروآمپر به فواصل ۱۰ دقیقه افزایش داده می‌شد تا وقتی که امواج تخلیه متعاقب ثبت گردد (۲۳).
تحریک برای ایجاد کیندلینگ: برای ایجاد تشنج از روش کیندلینگ سریع استفاده شده است. در این روش، حیوانات پس از تعیین آستانه، با موج مربع تک‌فازی (فرکانس ۵۰ هرتز، با شدت تولید امواج تخلیه متعاقب، مدت پالس ۱/ میلی‌ثانیه و به مدت ۳ ثانیه) تحریک شدند. این تحریکات به صورت روزانه (۱۲ مرتبه، با فاصله ۱۰ دقیقه)، طی ۶ روز اعمال شدند (۲۳). پس از اعمال تحریکات کیندلینگ، امواج الکتریکی مغزی توسط الکتروود ثابت به دستگاه الکتروماحول (شرکت SCIENCE BEAM) منتقل و توسط برنامه کامپیوتری eprobe اندازه‌گیری می‌شوند. کمیت‌های ثبت شده عبارتند از:

الف- شدت تشنج^۱: بر اساس معیارهای ریسین (Ron Racine, 1972) روند رفتار تشنجی طی کیندلینگ به پنج مرحله تقسیم می‌شود: ۱- حرکات غیرارادی، همراه انقباض عضلات صورت^۲، ۲- حرکت نوسانی سر به طرف بالا و پایین^۳، ۳- کلونوس متناوب یکی از اندام‌های حرکتی جلویی جلویی^۴، ۴- ایستادن روی هر دو پای عقبی توام با کلونوس هر دو اندام جلویی^۵، ۵- ایستادن روی هر دو پای عقبی، عدم تعادل و افتادن^۶.

ب- مدت زمان امواج تخلیه متعاقب^۷ میانگین مدت زمان تخلیه امواج متعاقب از روز اول تا روز آخر تحریکات الکتریکی بر حسب ثانیه.

ج- مدت زمان کل تشنج^۸ زمان بین اعمال تحریک به

جدول ۱. میانگین و انحراف استاندارد میانگین متغیرهای شدت تشنج، مدت تشنج و مدت زمان امواج تخلیه

میانگین	انحراف معیار	شدت تشنج (شاخص ریسین)		مدت زمان امواج تخلیه متعاقب	
		میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
KND	1.13	0.066	19.09	1.409	63.71
KLFS	0.88	0.060	15.22	1.145	53.93
MCK	0.89	0.053	13.29	1.139	67.31
CBZ40K	0.56	0.043	9.55	0.839	42.16
CBZ20K	1.45	0.074	26.41	1.519	114.65

5. Rearing

6. Rearing and falling

7. Afterdischarge duration (ADD)

8. Seizure duration (SD)

1. Seizure Severity (SS)

2. Facial clonus

3. Head nodding

4. Forelimb clonus

فرصیه همگونی واریانس‌ها برای هر سه متغیر شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج رد می‌شود ($p=0.000 < 0.05$). در نتیجه با توجه به مقدار احتمال آزمون کروسکیال-والیس می‌توان دریافت که تجویز کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخصهای تشنجی موش صحرایی (شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج) تأثیرگذار است ($p=0.000 < 0.05$).

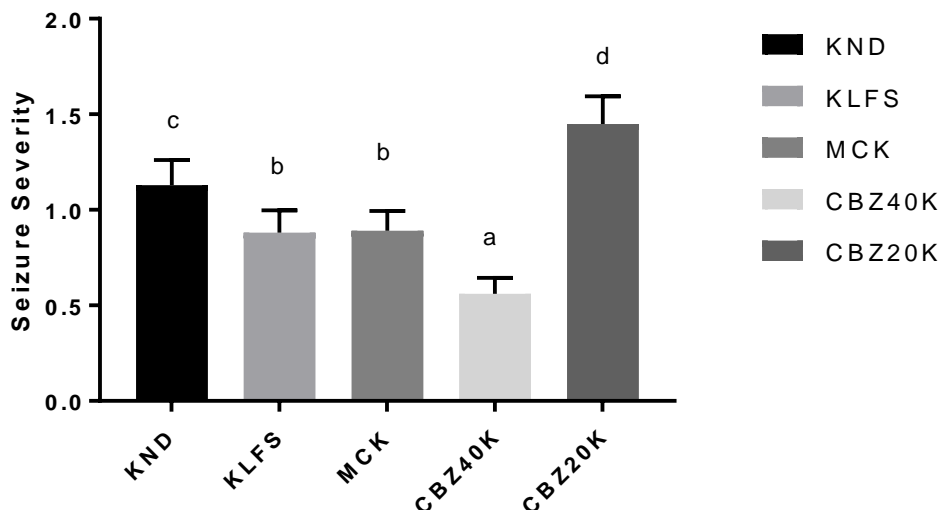
الف) مقایسه تأثیر کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخص شدت تشنج در موش صحرایی: نتایج آزمون کروسکیال-والیس و آزمون توکی نشان می‌دهد که بین میانگین شدت تشنج (شاخص ریسین) در گروه KND (1.33 ± 0.066) با گروه‌های KLFS (0.06)

فرصیه همگونی واریانس‌ها برای هر سه متغیر شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج رد می‌شود ($p=0.000 < 0.05$). در نتیجه با توجه به مقدار احتمال آزمون کروسکیال-والیس می‌توان دریافت که تجویز کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخصهای تشنجی موش صحرایی (شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج) تأثیرگذار است ($p=0.000 < 0.05$).

الف) مقایسه تأثیر کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخص شدت تشنج در موش صحرایی: نتایج آزمون کروسکیال-والیس و آزمون توکی نشان می‌دهد که بین میانگین شدت تشنج (شاخص ریسین) در گروه KND (1.33 ± 0.066) با گروه‌های KLFS (0.06)

فرصیه همگونی واریانس‌ها برای هر سه متغیر شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج رد می‌شود ($p=0.000 < 0.05$). در نتیجه با توجه به مقدار احتمال آزمون کروسکیال-والیس می‌توان دریافت که تجویز کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخصهای تشنجی موش صحرایی (شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج) تأثیرگذار است ($p=0.000 < 0.05$).

الف) مقایسه تأثیر کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخص شدت تشنج در موش صحرایی: نتایج آزمون کروسکیال-والیس و آزمون توکی نشان می‌دهد که بین میانگین شدت تشنج (شاخص ریسین) در گروه KND (1.33 ± 0.066) با گروه‌های KLFS (0.06)



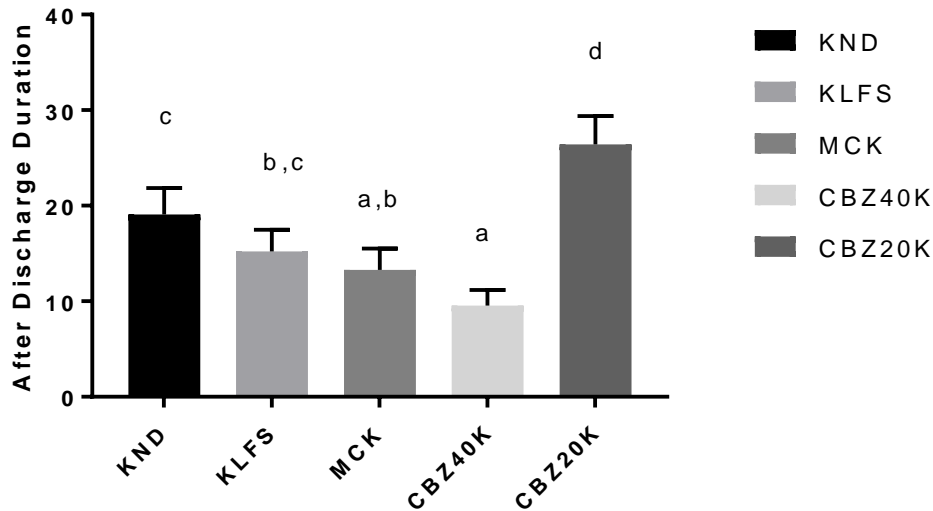
نمودار ۱. مقایسه فاصله زمانی بین تزریق داروی بی‌حسی تا شروع بی‌حسی کامل در دو گروه مورد مطالعه

فرصیه همگونی واریانس‌ها برای هر سه متغیر شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج رد می‌شود ($p=0.000 < 0.05$). در نتیجه با توجه به مقدار احتمال آزمون کروسکیال-والیس می‌توان دریافت که تجویز کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخصهای تشنجی موش صحرایی (شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج) تأثیرگذار است ($p=0.000 < 0.05$).

ب) مقایسه تأثیر کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخص مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در موش صحرایی: نتایج آزمون کروسکیال-والیس و آزمون توکی نشان می‌دهد که میانگین مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در گروه KND (19.09 ± 1.41) با گروه KLFS (15.22 ± 1.15)، با وجود کاهش، اختلاف معنی‌داری ندارد ($p=0.175 > 0.05$). همچنین، میانگین شاخص فوق بین گروه KND با گروه‌های MCK (1.14 ± 1.14) و CBZ40K (9.55 ± 0.839) و CBZ20K (1.52)

فرصیه همگونی واریانس‌ها برای هر سه متغیر شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج رد می‌شود ($p=0.000 < 0.05$). در نتیجه با توجه به مقدار احتمال آزمون کروسکیال-والیس می‌توان دریافت که تجویز کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخصهای تشنجی موش صحرایی (شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان کل تشنج) تأثیرگذار است ($p=0.000 < 0.05$).

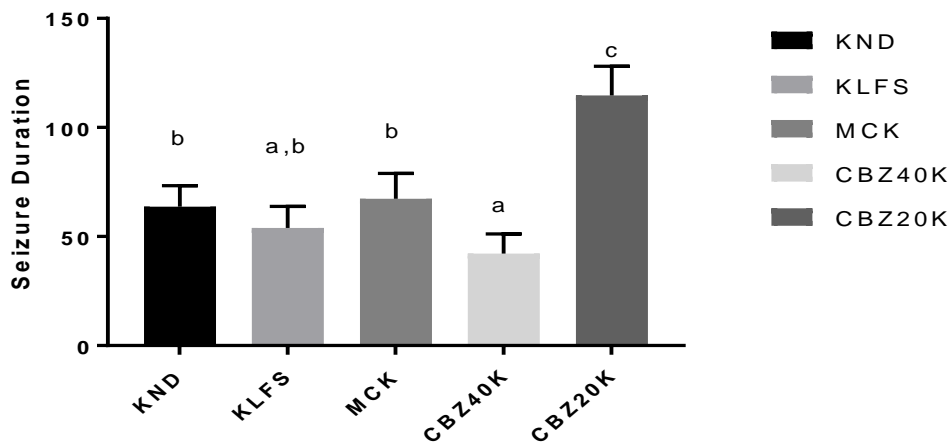
ب) مقایسه تأثیر کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخص مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در موش صحرایی: نتایج آزمون کروسکیال-والیس و آزمون توکی نشان می‌دهد که میانگین مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در گروه KND (19.09 ± 1.41) با گروه KLFS (15.22 ± 1.15)، با وجود کاهش، اختلاف معنی‌داری ندارد ($p=0.175 > 0.05$). همچنین، میانگین شاخص فوق بین گروه KND با گروه‌های MCK (1.14 ± 1.14) و CBZ40K (9.55 ± 0.839) و CBZ20K (1.52)



نمودار ۲. تأثیر LFS و CBZ بر شاخص مدت زمان امواج تخلیه متعاقب

می‌باشد. به علاوه، گروه CBZ20K بیشترین و گروه CBZ40K کمترین مقدار میانگین مدت زمان کل تشنج را دارند. با وجود کاهش مدت زمان تشنج در گروه KLFS نسبت به KND، این اختلاف، معنی‌دار نیست ($p=0.718 > 0.05$). در حالی که کاهش مدت زمان کل تشنج بین گروه CBZ40K با KND از نظر آماری معنی‌دار است ($p=0.045 < 0.05$). نمودار ۳، گروه‌هایی که اختلاف معنی‌داری از نظر متغیر مورد بررسی دارند با حروف متفاوت (a,b,c,d) و گروه‌هایی که اختلاف معنی‌دار آماری ندارند، با حروف یکسان نشان داده شده‌اند.

ج) مقایسه اثر کاربامازپین و LFS طی صرع‌زایی هیپوکامپ پستی بر شاخص مدت زمان کل تشنج موش صحرائی: نتایج آزمون کروسکیال-والیس و آزمون توکی نشان می‌دهد که میانگین مدت زمان کل تشنج در گروه KND (63.71 ± 4.89) با گروه‌های KLFS (5.02 ± 5.02) و MCK (53.93 ± 5.9) اختلاف معنی‌داری در سطح خطای ۵ درصد ندارد. همچنین، میانگین مدت زمان کل تشنج در گروه CBZ40K (42.16 ± 4.62) کمتر و در گروه CBZ20K (114.65 ± 6.8) بیشتر از گروه KND



نمودار ۳. تأثیر LFS و CBZ بر شاخص مدت زمان کل تشنج

۴. بحث و نتیجه گیری

در نتایج نشان می‌دهند که استفاده مجزا از LFS یا کاربامازپین، باعث کاهش معنی‌دار میانگین شدت تشنج در گروه‌های KLFS و CBZ40K نسبت به گروه KND می‌شود (نمودار ۱). همچنین، میانگین کلی مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در گروه KLFS و CBZ40K نسبت به گروه KND به طور معنی‌داری، کاهش یافته است (نمودار ۲). علاوه بر این، میانگین مدت زمان کل تشنج نیز در گروه‌های KLFS و CBZ40K نسبت به گروه KND به طور معنی‌داری کاهش یافته است (نمودار ۳). نکته حائز اهمیت این است که مقدار مؤثر CBZ نسبت به LFS تأثیر کاهشی بیشتری، بر شاخص‌های تشنجی دارد اما میانگین شاخص‌های تشنجی در گروه CBZ20K (مقدار غیرمؤثر CBZ) نسبت به همه گروه‌های آزمایشی، بیشتر است. به نظر می‌رسد این نتایج، علاوه بر تفاوت‌های فردی، تأثیر اقلیم و زمان اجرای آزمایش، ممکن است به دلیل اثر تشنج‌زای کاربامازپین در مقدار پایین می‌باشد (۲۴). همچنین، اغلب حیوانات گروه KLFS و CBZ40K برخلاف گروه KND، از تشنج موضعی (مراحل ۱ تا ۳ ریسین) به تشنج عمومی (مرحله ۴ و ۵ ریسین) وارد نمی‌شوند؛ یعنی اعمال LFS یا تزریق CBZ احتمال رسیدن حیوانات به تشنج عمومی را کاهش می‌دهد.

استفاده از LFS به دنبال کیندلینگ سریع در مسیر پرفورانت هیپوکامپ تأثیرات ضد تشنجی شبیه یافته‌های ما دارد (۱۸). در مطالعه دیگری، اعمال LFS در آمیگدال موش‌های بالغ به مدت ۳۰ ثانیه در طی روند کیندلینگ، علاوه بر کاهش مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و رفتار تشنجی، باعث کاهش قابل توجه احتمال بروز تخلیه‌های متعاقب به دنبال تحریک کیندلینگ می‌شود (۲۵). نتایج قبلی آزمایشگاه ما نیز نشان داد که اعمال LFS طی روند کیندلینگ آمیگدال، به طور معنی‌داری باعث کاهش امواج تخلیه متعاقب تجمعی می‌شود و مراحل تشنج عمومی (۵ و ۴ ریسین) را به تأخیر می‌اندازد (۲۶) به طور مشابهی در مطالعه ما نیز اعمال LFS بلافاصله به دنبال کیندلینگ سریع ناحیه CA1 هیپوکامپ، علاوه بر کاهش شدت و مدت تشنج و کاهش مدت زمان امواج تخلیه متعاقب، احتمال بروز مراحل تشنج عمومی را در گروه KLFS کاهش داده است. برخی از پژوهشگران، با مطالعه تأثیر LFS بر قشرپیریفرم، اثرات ضد تشنجی مشاهده نکرده‌اند (۲۷). همچنین، Wychhuys و همکارانش، در مطالعه تأثیر LFS بر

هیپوکامپ تأثیرات ضد تشنجی مشاهده نکرده‌اند (۱۹). به نظر می‌رسد استفاده از پروتکل‌های متفاوت، تأثیرات متفاوتی را به دنبال داشته باشد. بنابراین، گمان می‌رود تأثیرات متناقض ضد تشنجی LFS، در نتیجه استفاده از شاخص‌های متفاوت (هسته‌های مختلف مغز و شاخص‌های LFS) می‌باشد. امروزه، ثابت شده است که شاخص‌های متفاوت LFS نقش مهمی در القای اثر ضد تشنجی آن دارد؛ لذا احتمال می‌رود LFS و حداقل فاصله زمانی بین کیندلینگ و LFS تأثیر ضد تشنجی قوی‌تری داشته باشد (۲۸)؛ بنابراین تأثیر ضد تشنجی LFS، به شاخص‌های مختلف آن (از قبیل شدت، مدت تکانه و دوره توالی‌ها) و پروتکل اجرایی، بستگی دارد (۲۷).

هیپوکامپ، اندام هدف مهمی برای شروع صرع رام‌نشدنی است. شواهد متقنی درباره نقش مهم هیپوکامپ در ایجاد تشنج و صرع لوب گیجگاهی وجود دارد (۲۹). به نظر می‌رسد مهار نقاط مغزی آغازگر تشنج مانند هیپوکامپ، باعث تسهیل مهار تشنج‌های صرعی می‌شود. نتایج این کار پژوهشی نشان می‌دهد که استفاده از LFS بلافاصله به دنبال کیندلینگ سریع هیپوکامپ طی روند صرع‌زایی، اثرات ضد تشنجی و ضد صرع‌زایی دارد. به علاوه، به نظر می‌رسد LFS روند ادامه تشنج را متوقف یا کند می‌کند و مانع ورود حیوان از مراحل تشنج موضعی به تشنج عمومی می‌شود. در همین رابطه، چندین شرکت دارویی- پزشکی اقدام به تولید و توسعه دستگاه‌ها و روش‌های مختلف غیردارویی از قبیل دستگاه‌های تحریک‌کننده عمقی مغز، بر پایه تأثیرات مثبت تحریک الکتریکی برای درمان بیماری‌ها یا کاهش مشکلات بیماران صرعی و درمان بیماران روانی کرده‌اند (۳۰ و ۳۱). به نظر می‌رسد، استفاده از این دستگاه‌ها، با توجه به تأثیرات متناقض و ناشناخته LFS و طیف وسیع تأثیرات آن، با توجه به پروتکل و محل اجرا، خطر بزرگی محسوب می‌شود. بیم آن می‌رود که این روش تغییرات برگشت‌ناپذیری بر سلامتی مغز و فعالیت‌های شناختی انسان داشته باشد (۳۲). بنابراین، نیازمند کارهای پژوهشی بیشتر در این زمینه است.

با وجود اینکه، هنوز سازوکار محافظتی LFS در پیشگیری از تشنج و صرع به طور دقیق مشخص نشده است ولی فرضیه‌های متعددی در این زمینه وجود دارد به نظر می‌رسد تحریک الکتریکی مناطق مختلف مغز توسط LFS، باعث افزایش آستانه تشنج ۱ یا فعال‌سازی شبکه‌های مهارکننده تشنج می‌شود (۲۹). به نظر می‌رسد به دنبال

مکرر با فرکانس بالا را در نورون‌ها مهار می‌کند. همچنین، با اثر بر پایانه پیش‌سیناپسی، انتقال سیناپسی را کاهش می‌دهد. احتمال می‌رود این تأثیرات عامل خاصیت ضد تشنجی کاربامازپین می‌باشد (۱۴). کاربامازپین، در پیشگیری از تشنج‌های موضعی ساده و پیچیده و در ممانعت از عمومی شدن تشنج‌های ساده، مؤثر است. تزریق مقدار مؤثر کاربامازپین در این مطالعه، علاوه بر کاهش شدت و مدت تشنج، احتمال بروز تشنج‌های عمومی را نیز به شدت کاهش داده است. همچنین، تأثیرات مهاري مشاهده شده نسبت به LFS بسیار شدیدتر می‌باشد (نمودار ۳-۱). کاربامازپین، علاوه بر مهار کانال‌های سدیمی، به مقدار کمتر، کانال‌های کلسیمی (نوع L) و گیرنده‌های بنزودیازپین‌ها، مانند GABAA را نیز مهار می‌کند. همچنین بر گیرنده‌های مونوآمین، استیل‌کولین و NMDA نیز مؤثر است (۳۷). امروزه ثابت شده است که کاربامازپین بر فرایند صرع‌زایی هیپوکامپ و کورتکس در مدل‌های آزمایشگاهی و تشنج‌های کیندلی لیمبیک مؤثر است. همچنین، باعث توقف یا کوتاه شدن مدت‌زمان تشنج و تخلیه‌های متعاقب در حیوانات آزمایشگاهی کیندلی، به ویژه در کیندل آمیگدال، می‌شود. کاربامازپین، شدت تشنج ناشی از هیپرکسی و تحریک الکتریکی مستقیم، کورتکس را در رت‌ها کاهش می‌دهد. این دارو، در تشنج‌های ناشی از کیندلینگ آمیگدال در جوندگان نیز مؤثر است. بنابراین، به نظر می‌رسد کاربامازپین، بر صرع موضعی انسانی و در شروع و عمومی شدن تشنج، مؤثر است (۳۸). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مقدار مؤثر کاربامازپین، به صورت معناداری، شدت تشنج و مدت‌زمان امواج تخلیه متعاقب را کاهش داده است. به علاوه، مقدار مؤثر کاربامازپین احتمال عمومی شدن تشنج و ظهور مراحل ۴ و ۵ ریسین را در موش صحرایی کاهش داده است. این دارو با وجود کاهش مدت تشنج، تفاوت معنی‌داری با LFS در این زمینه ندارد (نمودار ۳). با توجه به اینکه در اکثر مطالعات انجام شده بر تغییرات نورونی پس از تشنج، کاهش قابل توجه تعداد و تراکم نورون‌های مناطق مورد بررسی دیده شده است. به نظر می‌رسد این دارو به عنوان ماده محافظ نورونی پس از حمله‌های تشنجی عمل می‌کند (۳۹).

با وجود تأثیرات مثبت کاربامازپین و LFS در کاهش عوارض ناشی از صرع و تشنج، هر یک از این دو روش درمانی، مشکلات جدی را برای بیماران مصروع به همراه دارند. استفاده از داروهای ضدصرع، عوارض مختلفی مانند خستگی

کیندلینگ هیپوکامپ انتقال سیناپسی نورون‌های گلوتاماتی از طریق افزایش رهایش گلوتامات از نورون پیش‌سیناپسی، افزایش می‌یابد (۳۳). اما LFS می‌تواند باعث کاهش انشعابات دندریتی در تعداد زیادی از سیناپس‌های تحریکی شود (۳۴) و به دنبال آن، موجب کاهش فعالیت نورون‌های گلوتاماترژیک و همچنین افزایش فعالیت نورون‌های مهاري شود (۱۰). بنابراین، به طور کلی، چهار مکانیسم عمده برای عملکرد LFS پیشنهاد شده است که شامل کاهش تحریک‌پذیری نورون‌ها، افزایش آستانه تشنج، افزایش سرعت انتقال در سیناپس‌های مهاري و کاهش سرعت انتقال در سیناپس‌های تحریکی می‌باشد. به نظر می‌رسد سازوکار ضد تشنجی LFS مشابه با سازوکارهای دخیل در LTP^۱ و LTD^۲ است (۳۵).

از طرفی، کاربامازپین (Tegretol)، یکی از پر مصرف‌ترین داروهای ضدصرع برای درمان صرع لوب گیجگاهی است که از طریق انسداد کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ، تأثیرات ضد تشنجی خود را اعمال می‌کند. امروزه، تأثیر بازدارندگی قوی کاربامازپین بر تشنج‌های حرکتی خودبه‌خودی در موش‌های صحرایی کیندل، به اثبات رسیده است (۱۱). مطالعه ما نشان می‌دهد که تزریق روزانه مقدار مؤثر (mg/kg ۴۰) این دارو پیش از شروع کیندلینگ هیپوکامپ طی روند صرع‌زایی، علاوه بر کاهش شدید شاخص‌های تشنجی، احتمال ورود موش‌های صحرایی، به مرحله تشنج عمومی را نیز کاهش داده است. کاربامازپین، در مدل کیندلینگ آمیگدال موش صحرایی، آستانه تشنج را افزایش می‌دهد ولی شدت تشنج و مدت‌زمان امواج تخلیه متعاقب را کاهش می‌دهد (۳۶). در این پژوهش نیز مقدار مؤثر کاربامازپین، شدت تشنج و مدت‌زمان امواج تخلیه متعاقب را کاهش داد (۲۰)، باعث افزایش شدید شاخص‌های تشنجی شده است. بنابراین به نظر می‌رسد تأثیرات ضد تشنجی و مقدار مؤثر کاربامازپین، شبیه تأثیرات ضد تشنجی LFS می‌باشد که مورد بحث قرار گرفت. در این پژوهش، استفاده از مقدار مؤثر روزانه کاربامازپین، اثرات مهاري شدیدتری نسبت به LFS بر شاخص‌های تشنجی دارد. البته این احتمال وجود دارد که داروی CBZ و LFS با سازوکارهای متفاوت، تأثیرات یکسانی بر کاهش تشنج و صرع داشته باشند.

کاربامازپین، در غلظت‌های درمانی و در محیط کشت، ضمن مهار کانال‌های سدیمی، پتانسیل‌های عمل انفجاری

تأثیرات مطلوب مقدار غیرمؤثر همراه با LFS کمک بزرگی به بیماران مصروع در کاهش عوارض طولانی مدت استفاده دارو می‌کند. البته، مشروط به این که LFS نیز هیچ‌گونه عوارض جانبی نداشته باشد.

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهند که استفاده از LFS یا کاربامازپین، باعث کاهش معنی‌دار میانگین شدت تشنج، مدت زمان کل تشنج و مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در گروه‌های KLFS و CBZ40K نسبت به گروه KND می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد استفاده از LFS با وجود کاهش شاخص‌های تشنجی در مقایسه با CBZ تأثیر ضعیف‌تری بر تشنج دارد. لذا، یافتن پروتکل درمانی مؤثر برای LFS، یا استفاده هم‌زمان آن با دارودرمانی، به منظور جایگزینی آن با داروهای ضدصرع مانند CBZ نیاز به مطالعه وسیع شاخص‌های مختلف LFS و تأثیرات ضدصرعی آن دارد.

تشکر و قدردانی

این کار تحقیقاتی با بودجه پژوهشی (گرن: ۹۶/۳/۲/۱۶۶۷۰) دانشگاه شهید چمران اهواز در آزمایشگاه الکتروفیزیولوژی دانشکده علوم به سرانجام رسیده است؛ لذا شایسته است از حمایت‌های بی‌دریغ و همه‌جانبه معاونت پژوهشی دانشگاه در تأمین مالی پروژه، تقدیر و تشکر شود.

و کوفتگی، تاری دید، اختلال در تمرکز، اختلال در هماهنگی حرکات را به دنبال دارد. برای مثال کاربامازپین باعث کندی حرکت، کاهش چالاکی و آسیب به حافظه می‌شود (۱۴و۴). همچنین، در آزمایش‌های رفتاری که به دنبال کیندلینگ هیپوکامپ انجام شد، کاهش تعادل در آزمون میله چرخان مشاهده شده است. لذا به نظر می‌رسد استفاده هم‌زمان از کاربامازپین و LFS، به عنوان روش جدید درمانی ترکیبی، با کاهش عوارض نامطلوب هر یک از آنها، درمان بهتر و مؤثرتری را به همراه داشته باشد. تاکنون مطالعات مقایسه‌ای در این زمینه مشاهده نشده است. در مقام مقایسه، داروی کاربامازپین و تحریک الکتریکی با فرکانس پایین تأثیرات مشابهی بر شاخص‌های تشنجی دارند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که در کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده، تأثیرات مقدار مؤثر کاربامازپین در مهار شاخص‌های تشنجی، بهتر از LFS می‌باشد (نمودار ۱). به نظر می‌رسد اثرات مهاری شدیدتر CBZ بر شاخص‌های مختلف تشنجی، ناشی از دامنه وسیع اثرات آن بر کانال‌های مختلف غشای نورون‌های مغزی است. به نظر می‌رسد در بیمارانی که شدت تشنج بیشتری دارند، داروی کاربامازپین، گزینه مناسب‌تر درمانی نسبت به LFS می‌باشد ولی در بیمارانی که شدت تشنج کمتری دارند، LFS گزینه درمانی مطلوب است؛ زیرا LFS عوارض کمتری نسبت به CBZ دارد. برای حصول نتایج جامع‌تر، بهتر است مقادیر دیگر کاربامازپین نیز بررسی شود. در صورت مشاهده

References

- [1]. Ali A. Global Health: Epilepsy. *Semin Neurol*. 2018;38:191-199.
- [2]. Fisher RS & Velasco AL. Electrical brain stimulation for epilepsy. *Nat Rev Neurol*. 2014;10: 261-270.
- [3]. Jobst BC. Brain Stimulation for Surgical Epilepsy. *Epilepsy Res*. 2010; 89(1): 154-161.
- [4]. Toibaro L, Pereyra M, Pastorino J, Smigliani A, Ocariz F, Ortmann G, Galardi MM, Gori MB, Kochen S. Effect of Unilateral Low-Frequency Stimulation of Hippocampus on Rapid Kindling- Induced Seizure Development in Rats. *Neuro& Med*. 2012; 3(2): 174-180.
- [5]. Widdess-Walsh P, Kellinghaus C, Geller E, Bösebeck F, Schuele S, Loddenkemper T. Efficacy of electrical brain stimulation in epilepsy. *Therapy*. 2010; 7(5): 481-496.
- [6]. Deng J, Luan G. Mechanisms of Deep Brain Stimulation for Epilepsy and Associated Comorbidities. *Neuropsychiatry*. 2017; S(1): 31-37.
- [7]. Albensi BC, Ata G, Schmidt E, Waterman JD, Janigro D. Activation of long-term synaptic plasticity causes suppression of epileptiform activity in rat hippocampal slices. *Brain Res*. 2004; 998(1): 56-64.
- [8]. Bragin A, Wilson CL, Engel JI. Increased afterdischarge threshold during kindling in epileptic rats. *Exp Brain Res*. 2002; 144(1): 30-37.
- [9]. Kandratavicius L. Animal models of epilepsy: use and limitation. *Neuro Dis & Treat*. 2014; 10:1693-705.
- [10]. Teskey Gc, Young NA, Van Rooven F, Larson SE, Flynn C, Monfils MH, et al. Induction of neocortical long-term depression results in smaller movement representations, fewer excitatory perforated synapses, and more inhibitory synapses. *Cereb Cortex*. 2007; 17(2):434-42.
- [11]. Srivastava AK, White HS. Carbamazepine, But Not Valproate, Displays Pharmacoresistance In Lamotrigine-Resistant Amygdala KNDd Rats. *Epilepsy Res*. 2013; 104(1-2): 26-34.
- [12]. Barret GE, Flockerzi V, Frohman MA, Geppetti P, Hofmann FB, Michel MC, et al. *Handbook OF Experimental Pharmacology*. New York. Springer Press, 2009.
- [13]. Srivastava AK, Alex AB, Wilcox KS, White HS. Rapid loss of efficacy to the antiseizure drugs lamotrigine and carbamazepine: a novel experimental model of pharmacoresistant epilepsy. *Epilepsia*. 2013; 54(7): 1186-194.
- [14]. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Basic and Clinical pharmacology*. New York. McGraw-Hill Companies. 2012.
- [15]. Goddard GV. The Kindling Model of Epilepsy. *Trends in Neuro*. 1983; 6: 275-279.
- [16]. Lothman EW, Williamson JM. Rapid Kindling with Recurrent Hippocampal Seizures. *Epilepsy Research*. 1993; 14(3): 209-220.
- [17]. Bertram E. The Relevance of Kindling for Human Epilepsy. *Epilepsia*. 2007; 48(S2): 65-74.
- [18]. Mohammad-Zadeh M, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Javan M, Ghorbani P, Sadegh M, Noorbakhsh SM. Effect of Low Frequency Stimulation of Perforant Path on Kindling Rate and Synaptic Transmission in the Dentate Gyrus

- during Kindling Acquisition in Rats. *Epilepsy Res.* 2007; 75(2): 154-161.
- [19]. Wyckhuys T, Raedt R, Vonck K, Wadman W, Boon P. Comparison of Hippocampal DBS with High (130 Hz) and Low (5 Hz) Frequency on Afterdischarges in Kindled Rats. *Epilepsy Res.* 2010; 88(2-3): 239-246.
- [20]. Mcnamara JO. Pursuit of the mechanisms of kindling. *Trends Neurosci.* 1988; 11(1):33-6.
- [21]. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain*. London. Academic Press. 2005.
- [22]. Durmuller N, Porsolt RD. *Current protocols in Pharmacology*. John Wiley & Sons Inc. 2003; 22(1): 15-33.
- [23]. Rose PA, Burnham WM. Afterdischarge thresholds and kindling rates in dorsal and ventral hippocampus and dentate gyrus. *Can J Neurol Sci.* 1977; 4(4): 273-278.
- [24]. Twele F, Tollner K, Bankstahl M, Loscher W. The effects of carbamazepine in the intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy depend on seizure definition and mouse strain. *Epilepsia Open.* 2016; 1(1):45-60.
- [25]. Goodman IH, Berger RE, Tchong TK. Preemptive Low-Frequency Stimulation Decreases the Incidence of Amygdala-Kindled Seizures. *Epilepsia.* 2005; 46(1):1-7.
- [26]. Jalilifar M, Yadollahpour A, Moazedi AA, Ghotbeddin Z. Quantitative Analysis of the Antiepileptogenic Effects of Low Frequency Stimulation Applied Prior or After Kindling Stimulation in Rats. *Frontiers in Phy.* 2018; 9(711): 1-14.
- [27]. Ghorbani P, Mohammad-Zadeh M, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y. Effect of Different Patterns of Low Frequency Stimulation on Piriform Cortex Kindled Seizures. *Neurosci Letters.* 2007; 425(3):162-166.
- [28]. Shahpari M, Mirnajafi-Zadeh J, Firoozabadi SMP, Yadollahpour A. Effect of Low-Frequency Electrical Stimulation Parameters on Its Anticonvulsant Action during Rapid Perforant Path Kindling in Rat. *Epilepsy Res.* 2011; 99(1-2): 69-77.
- [29]. Schiller Y, Bankirer Y. Cellular mechanisms underlying antiepileptic effects of low and high-frequency electrical stimulation in acute epilepsy in neocortical brain slices in vitro. *J Neurophysiol.* 2007; 97(3):1887-902.
- [30]. Yasam VR, Jakki SL, Senthil V. An Overview of Non-drug Therapies for the Treatment of Epilepsy. *Indian J Pharmaceutical Sci.* 2018; 80(2): 223-34.
- [31]. Walsh PW, Kellinghaus C, Geller E, Loddenkemper T. Efficacy of electrical brain stimulation in epilepsy. *Therapy.* 2010; 7(5): 481-96.
- [32]. DengGuoming J, Luan LG. Mechanisms of Deep Brain Stimulation for Epilepsy and Associated Comorbidities. *Neuropsychiatry.* 2017; 7(s1): 31-37.
- [33]. Zhang Q, Wu ZC, Yu JT, Zhong XL, Xing YY, Miao YTD, Tan L. Anticonvulsant Effect of Unilateral Anterior Thalamic High Frequency Electrical Stimulation on Amygdala-Kindled Seizures in Rat. *Brain Rese Bulletin.* 2012; 87(2-3): 221-26.
- [34]. Geula C, Jarvie PA, Logan TC, Slevin IT. Long-term enhancement of K⁺-evoked release of L-glutamate in entorhinal kindled rats. *Brain Res.* 1988; 442(2):368-72.
- [35]. Monfils MH, Teskev GC. Induction of long-term depression is associated with decreased dendritic length and spine density in layers III and V of sensorimotor neocortex. *Synapse.* 2004; 53(2):114-21.
- [36]. Ozen LI, Young NA, Koshimori Y, Teskev GC. Low-frequency stimulation reverses kindling-induced neocortical motor map expansion. *Neuroscience.* 2008; 153(1):300-7.
- [37]. Shorvon S, Guerrini R, Cook M, Lhatoo S. *Oxford Textbook of Epilepsy and Epileptic Seizures*. London: Oxford University Press: 2013.
- [38]. Born GVR, Cuatrecasas P, Ganten D, Herken H, Starke K, Taylor P. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin: Springer-Verlag: 1999.
- [39]. Eshaghabadi A, Esfahani JH, Malakzadeh H, Esmati Zamani MS, Ghasemi S, Jafarian M. The Effect of Carbamazepine on Neuronal Damage in Pentylentetrazole Model of Seizure. *ShfaeKhatam.* 1393; 3(1): 42-48.
- [40]. Albertson TE, Joy RM, Strak LG. A Pharmacological Study in the Kindling Model of Epilepsy. *Neuropharmacology.* 1984; 23(10): 1117-23.

Comparison of anticonvulsant effects of carbamazepine (CBZ) and unilateral low-frequency electrical stimulation (LFS) during kindling CA1 hippocampal in adult male rats

Moghaddasi R¹, Moazedi A.A*², Ghotbeddin Z³, Akhond MR⁴

1. PhD of physiology, Department of Biology, Faculty of science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Professor of physiology, Department of Biology, Faculty of science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Associate professor of physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
4. Assistant professor, Department of Statistics, Mathematical Sciences and Computer Faculty, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Abstract

Introduction: Epilepsy is a chronic and multifactorial disease characterized by sudden and repeated seizures. Carbamazepine is the most common medicine for treating epilepsy. Today, the use of LFS as an alternative treatment is considered in patients resistant to drugs. Therefore, in this research, the effects of LFS and carbamazepine on epilepsy in dorsal hippocampus by using Kindling method on the seizure indices have been compared in adult male rats.

Materials and Methods: In this study, 50 adult male rats were randomly divided into 5 groups: Kindling (KND), KLFS, MCK, CBZ20K and CBZ40K. Kindling's group received a daily stimulant of Kindling in a fast way, in the CA1 region of the dorsal hippocampus. In other groups, daily Kindling stimuli, similar to the Kindling group, were applied. In the Kindling + LFS (KLFS) group, LFS stimuli were immediately triggered after the kindling. In methylcellulose + kindling (MCK) group, before stimulation, the amount was 0.2ml solution of methylcellulose 0.5% was given intraperitoneally. Drug + Kindling (CBZ20K and CBZ40K) groups received intraperitoneal carbamazepine 20mg / kg or 40mg / kg, respectively, before receiving kindling stimuli.

Results: Findings from this study indicate that the use of LFS or carbamazepine significantly reduced the mean seizure severity, total seizure duration, and the duration of afterdischarge in the KLFS and CBZ40K groups compared to the KND group ($p < 0.05$). The important point is that the effective dose of CBZ has a more reduced effect on seizure indices than LFS.

Conclusion: Regarding the results, it seems that, the effective dose of CBZ to be more effective than LFS stimulation following the hippocampal kindling in reducing seizure indices.

Received: 2018/10/27

Accepted: 2019/01/08

Keywords: Hippocampal Kindling, Low Frequency Electrical Stimulation, Carbamazepine, Afterdischarge, Seizure Severity, Seizure Duration.