مقاله پژوهشی

تأثیر اعمال مزمن تحریک مغناطیسی با فرکانس پایین بر تقویّت سیناپسی ناشی از تحریکات الکتریکی در ناحیه شکنج دندانه ای موش صحرایی

فاطمه رستمی[۱]، اعظم عسگری[۲]، امیر شجاعی[۳]، یعقوب فتح الهی[۴]، سید جواد میرنجفی زاده[۵]*

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[۲] دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[۳] دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[۴] استاد گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[۵] استاد گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

نشانی نویسنده مسئول: سید جواد میرنجفی زاده، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی

E-mail: mirnajaf@modares.ac.ir

وصول:۹۳/۵/۱۵، اصلاح:۹۳/۶/۲۰، پذیرش:۹۳/۷/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: امروزه تحریک مغناطیسی از طریق جمجمه (rTMS) در درمان بعضی از اختلالات عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرد؛امّا، تأثیرآن بر فعّالیّت نورونی و شکل‌پذیری سیناپسی به خوبی مشخص نشده است. هدف از این تحقیق بررسی اثر اعمال مزمن rTMS بر توانایی شکل‌پذیری سیناپسی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: rTMS به مدّت ۱۴ روز به ناحیه هیپوکمپ اعمال شد. یک هفته پس از پایان اعمال rTMS میزان تقویّت سیناپسی طولانی مدّت (LTP) در حیوانات بررسی و با گروه کنترل مقایسه گردید. برای القای LTP، تحریک با فرکانس بالا (HFS) در مسیر پرفورنتاعمال شد و از لایه گرانولار شکنج دندانه‌دار پتانسیل‌های میدانی ثبت شد. در هر حیوان ثبت پتانسیل‌های میدانی پایه به مدّت ۱۰ دقیقه قبل از اعمال HFS انجام شد. دامنه اسپایک تقویّت به عنوان شاخص قدرت سیناپسی اندازه‌گیری گردید. افزایش این کمیّت پس از اعمال HFSبه میزان حدّاقل ۲۰ درصد به عنوان شاخص تقویّت سیناپسی در نظر گرفته شد. برای مقایسه اثرات rTMS بر کمیّت‌های اندازه گیری شده از آزمون‌تی و یا آزمونآنوا دو طرفه و آزمون متعاقب بونفرونی(Bonferroni) (نرم افزار پریزم ۸) استفاده کردیم.

یافته‌ها: داده‌های به دست آمده نشان داد که اعمال rTMS به مدّت ۱۴ روز باعث کاهش دامنه اسپایک تقویّت در مقایسه با گروه کنترل می‌شود ($p<۰/۰۵$). علاوه بر این، توانایی نورون‌ها در ایجاد LTP نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد ($p<۰/۰۰۱$). اندازه‌گیری شاخص زوج پالس نیز نشان داد که به دنبال ایجاد تقویّت سیناپسی میزان تسهیل زوج پالس در حیواناتی که rTMS دریافت کردند تفاوت معنی‌داری با حالت قبل از آن (ثبت پایه) ندارد؛امّا، در گروه کنترل این شاخص کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند.

نتیجه‌گیری: اعمال rTMSبه صورت مزمن باعث کاهش میزان تقویّت سیناپسی می‌شود. با در نظر گرفتن نقش مهم LTP در وقوع فرآیندهای شناختی، باید به دنبال یافتن الگوهایی از rTMS بود که تأثیرکمتری بر توانایی شکل‌پذیری سیناپسی باشند.

واژه های کلیدی: *تحریک مغناطیسی از طریق جمجمه، شکل‌پذیری سیناپسی، تقویّت طولانی مدّت، پتانسیل‌های میدانی، شکنج دندانه ای.*

مقدمه

شکل‌پذیری سیناپسی به عنوان پایه ذخیره اطّلاعات در مغز مطرح گردیده است؛ که با یکسری مکانیسم‌های پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی میانجی‌گری می‌شود (۱, ۲). اختلال در عملکرد سیناپس‌ها یکی از مهمترین خصوصیّات بیماری‌هایی نظیر آلزایمر، پارکینسون، افسردگی و صرع است. این نارسایی‌ها بخش شکنج دندانه‌دار هیپوکمپ مغز را درگیر می کند. انتقال بین نورونی پیام‌ها و ایجاد تقویّت طولانی مدّت یا LTP که معیاری از شکل‌پذیری سیناپسیاست و در تشکیل حافظه نقش دارد را تحت تأثیرقرار می‌دهند(۳). با توجّه به شیوع این بیماری‌ها، دستیابی به روش‌هایی که بتوانند جلوی این اختلالات را بگیرند؛ احساس می‌شود.

اگر چه سال‌های زیادی است که برای درمان این بیماری‌ها دارو استفاده می‌شود؛ ولی، بیشتر افرادی که تحت درمان دارویی منظم و طولانی مدّت هستند، از عوارض جانبی داروها رنج می‌برند. درمان با عمل جراحی نیز عوارض برگشت‌ناپذیر زیادی دارد. به عنوان مثال برداشت هیپوکمپ به صورت دو طرفه به منظور درمان بعضی بیماران صرعی، تأثیری بر حافظه ثبت شده قبل ازجراحی ندارد؛ ولی، پساز جراحی، افراد ظرفیّت اندکی برای ثبت حافظه کلامیو انواع سمبولیک آن در حالات مزمن و حتّی کوتاه مدّت (برای گذشت زمانی طولانی‌تر از چند دقیقه) را دارند. بنابراین، این افراد قادر به تثبیت و تشکیل حافظه بلند مدّت در خصوص انواعی از اطّلاعات که بر پایه آگاهی و بینش می‌باشند را نخواهند داشت. این حالت را "فراموشی بعدی" گویند. عمل جراحی بر روی نقاط دیگر مغز نیز می‌تواند تأثیرات نابه جایی را بر روی فرآیندهای شناختی داشته باشد؛ امّا، با توجّه به اینکه درصد قابل توجّهی از بیماران به روش‌های دارو درمانی جواب نمی‌دهند؛ محقّقین به دنبال دستیابی به روش‌های جدیدی برای در مان این بیماری‌ها هستند. بر همین اساس یکی از روش‌های درمانی که اخیراً در درمان این بیماری‌ها استفاده می‌شود، استفاده از تحریک مغناطیسی جمجمه به صورت مکرّر (rTMS) است.

تحریک مغناطیسی جمجمه یک روش بدون درد و غیرتهاجمی برای برانگیختن نورون‌های مغزی است. در آن پالس‌های مغناطیسی از بیرون سر به وسیله یک سیم-پیچ که بر روی جمجمه قرار داده می‌شود، به مغز اعمال می‌گردند (٤). میدان‌های مغناطیسی در اثر برقراری جریان الکتریکی در سیم‌پیچ ایجاد می‌شوند. افزایش و کاهش سریع شدّت این میدان‌ها در مغز سبب ایجاد یک میدان الکتریکی در اطراف نورون‌ها می‌شود که چنان چه شدّت کافی داشته باشد می‌تواند باعث دپلاریزه کردن نورون‌ها در ناحیه کوچکی از مغز گردد (۵). داده‌هایی که با استفاده از تصویربرداری از مغز به دست آمده است، پیشنهاد می-کنند که TMS می‌تواند حتّی نواحی عمقی‌تر شامل مادّه سفید را نیز تحریک نماید (٦). مدّت زمان هر پالس معمولاً ۱۰۰ تا ۳۰۰ میلی ثانیه و شدّت آن ۱/۵ تا ۲ تسلا است (۵). برخی مطالعات پیشنهاد می‌کنند که فرکانس‌های ۰/۳ یا ۰/۵ هرتز ممکن است، اثرات درمانی داشته باشند (۷, ۸). مطالعاتی که بر روی مدل‌های حیوانی مختلف صورت گرفته است پیشنهاد می‌کنند که اعمال rTMS آهسته (rTMS با فرکانس برابر با ۱ هرتز و یا کم تر) می-تواند یک روش جدید برای درمان سندرم‌های ناشی از افزایش تحریک‌پذیری نورون‌های مغزی باشد (۹).

داده‌های قبلی آزمایشگاه ما نشان داده است که اعمال rTMS در یک مدل صرعی می‌تواند از تقویّت سیناپسی ناشی از تشنج جلوگیری کند. این امر می‌تواند به معنای این باشد که اعمال rTMS در بیماران صرعی می‌تواند از اشباع پذیری شکل‌پذیری سیناپسی در طی صرع جلوگیری کند. بنابراین، توانایی شکل‌پذیری مجدّد سیناپسی در سیستم عصبی حفظ شود. از طرف دیگر آزمایش‌های قبلی نشان داده‌اند که شدّت اثر rTMS بستگی به الگو و مدّت زمان اعمال آن دارد (۸, ۹). با توجّه به اثراتی که rTMS در جلوگیری از اختلال در

شکل‌پذیری سیناپسی در این بیماری‌ها دارد ممکن است، این سؤال مطرح شود که آیا اعمال rTMS در شرایط کنترل و طبیعی نیز دارای چنین تأثیراتی می‌باشد یا خیر؟ چنانچه پاسخ به این سؤال مثبت باشد، ممکن است این روش را بتوان در افرادی که دارای جنبه‌های مختلفی از اختلالات شناختی هستند به کار برد. بنابراین، هدف از این تحقیق این است که اثر اعمال مزمن rTMS بر توانایی شکل‌پذیری سیناپسی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۹۰-۲۵۰ گرم (خریداری شده از انیستیتو پاستور کرج) استفاده شد. حیوانات در قفس های مخصوص (٤ سر در هر قفس) نگهداری می‌شدند. محلّ نگهداری حیوانات دارای دوره روشنایی ۱۲ ساعته و دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد بود. در طول دوره تحقیق آب و غذا به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. برای بررسی تأثیرrTMS بر تقویّت سیناپسی، ابتدا به حیوانات rTMS اعمال شد. سپس، ثبت پتانسیل‌های میدانی انجام گردید.

اعمال rTMS

برای اعمال rTMS (فرکانس Hz ۱، به مدّت ٤ دقیقه و با شدّت ۹۰ درصد آستانه حرکتی) از دستگاه Magstim باکویل پروانه ایاستفاده می‌شد. در هنگام اعمال تحریک rTMS سر حیوان باید کاملاً ثابت باشد. برای ثابت کردن سر حیوان به هنگام اعمال تحریک rTMS از یک مهار کننده (restrainer) استفاده شد. کویل به صورت مایل از سمت راست سرحیوان طوری قرار می-گرفت.بنابراین، بیشترین شدّت میدان در هیپوکمپ سمت راست اعمال می شد. برای حدّاقل کردن اثر، فاصله کویل به سر حیوان مماس می‌شد. میدان الکتریکی القایی برای کویل پروانه ای شکل به گونه‌ای است که بیشترین میدان الکتریکی در مرکز کویل اعمال می‌شود.

جراحی حیوانات

برای ثبت پتانسیل‌های میدانی از حیوان بی هوش، حیوان توسّط اورتان (mg/kg ۱/۲، داخل صفاقی) بیهوش می‌گردید و در دستگاه استریوتاکس قرار می‌گرفت. با استفاده از اطلس پاکسینوز و واتسون (۱۰) در نیمکره راست موقعیّت مسیر پرفورنت (بر حسب میلی متر: ٦/۹- =AP، ٤/۱ =L نسبت به برگما و ۲/۷ تا ۱/۵=V نسبت به سخت شامه) و لایه گرانولار شکنج دندانه‌دار (بر حسب میلی متر: ۳/۱-=AP، ۱/۹=L نسبت به برگما و۲/۷ تا ۲ =V نسبت به سخت شامه) در سطح جمجمه علامت-گذاری گردید. سپس با استفاده از مته دندانپزشکی، جمجمه در آن نقاط سوراخ شده، الکترود دوقطبی در مسیر پرفورنت و الکترود تک‌قطبی در شکنج دندانه‌دار قرار داده می‌شد. الکترود مرجع نیز توسّط پیچ روی استخوان آهیانه سمت چپ جمجمه قرار می‌گرفت. الکترودها از سیم الکترود (با قطر ۱۲۷ میکرون) از جنس فولاد ضدّ زنگ (Stainless steel) با پوشش تفلونی تهیه می‌شدند. پس از کارگذاری الکترودها، با استفاده از استیمولاتور، تحریک الکتریکی با شدّت ۲۰۰ میکروآمپر تا۲۰۰۰ میکروآمپر از طریق الکترود تحریک به مسیر پرفورنت اعمال می‌شد. در صورت قرار داشتن الکترودها در محلّ مناسب، به دنبال اعمال تحریک با یک زوج پالس پتانسیل پس‌سیناپسی تحریکی میدانی (fEPSP) که منجر به بروز اسپایک می‌شد، توسّط نرم افزار ثبت می‌گردید. عمـق الکترودهای تحریک و ثبت به گونه‌ای تنظیم می شد که بهتـرین پاسخ دارای اسپایک از شکنج دندانه‌دار گرفته شـود. در غیر این صورت موقعیّت الکترودهای تحریک و ثبت آنقدر تغییر داده می‌شد تا یکپتانسیل پس-سیناپسی تحریکی میدانی با اسپایک کاملاً مشخص ثبت شود. همچنین با اعمال تحریکات زوج پالس با فاصله بین پالسی ۷۰ میلی‌ثانیه و مشاهده پدیده تسهیل زوج پالس که مشخصه بارز ناحیه شکنج دندانه‌دار می‌باشد؛ محلّ الکترود از نظر الکتروفیزیولوژیک نیز مورد تأیید قرار می-

گرفت.

تحریک برای ثبت پتانسیل‌های برانگیخته میدانی

برای ثبت پتانسیل‌های میدانی مسیر پرفورنت تحریک شده و از سلول‌های گرانولی شکنج دندانه‌دار ثبت گرفته شد. مسیر پرفورنت توسّط الکترودی که در آن کار گذاشته شده است، تحریک می‌شد. الگوی تحریک به صورت پالس‌های مربعی با فرکانس۰/۱ هرتز، مدّت زمان هر پالس ۱۰۰ میکروثانیه و شدّت جریان پالس آزمون (شدّتی که در آن ۵۰٪ حداکثر پاسخ به دست آید) بود. برای به دست آوردن شدّت جریان پالس آزمون منحنی شدّت – پاسخ باید ترسیم می‌شد . برای این کار، پالس-های تک فازی مربعی۰/۱ میلی‌ثانیه‌ای که توسّط استیمولاتور تولید می‌شد، هر ۱۰ ثانیه در شدّت‌های مختلف (۱۰۰ تا ۲۰۰۰ میکروآمپر) به مسیر پرفورنت اعمال و پتانسیل‌های سیناپسی برانگیخته میدانی از شکنج دندانه دار ثبت می‌شدند. سپس، ٦ پاسخ برانگیخته سیناپسی میانگین‌گیری می‌گردید و دامنه اسپایک‌های تقویّت اندازه‌گیری می‌شد. برای هر حیوان منحنی شدّت پاسخ تعیین و شدّتی را که ۵۰ درصد پاسخ ماکزیمم تولید می‌کرد، به عنوان شدّت آزمون (test pulse intensity) مشخص می‌شد.

تحریک برای اندازه‌گیری شاخص زوج پالس

به منظور بررسی اثر مزمن rTMS بر تقویّت سیناپسی کوتاه مدّت از تحریک زوج پالس استفاده شد. منحنی‌های زوج پالس با فاصله زمانی ۷۰ میلی ثانیه بین دو تحریک، با فرکانس ۰/۱ هرتز به مسیر پرفورنت اعمال می‌شد. در این آزمایش زوج پالس ها با فاصله بین پالسی ۷۰ میلی ثانیه دامنه اسپایک تقویّت حاصل از هر یک از زوج‌پالس محاسبه می‌شد.

شاخص زوج پالس = نسبت دامنه اسپایک تقویّت دوم به دامنه اسپایک تقویّت اوّل ضرب در۱۰۰

القای LTP

پس از ۱۰ دقیقه ثبت پایه، به منظور القای LTP از تحریک با فرکانس بالا (High frequency stimulation; HFS) با فرکانس ۱۰۰ Hz، شدّت پالس آزمون، مدّت زمان هر پالس ۰/۱ میلی ثانیه و به مدّت یک ثانیه استفاده می‌شد. پس ازاعمال HFS به مدّت ٦۰ دقیقه پتانسیل‌های میدانی ثبت شدند. افزایش حداقل ۲۰ درصد در دامنه اسپایک تقویّت به عنوان شاخص ایجاد LTP در نظر گرفته شد.

گروه‌های آزمایشی

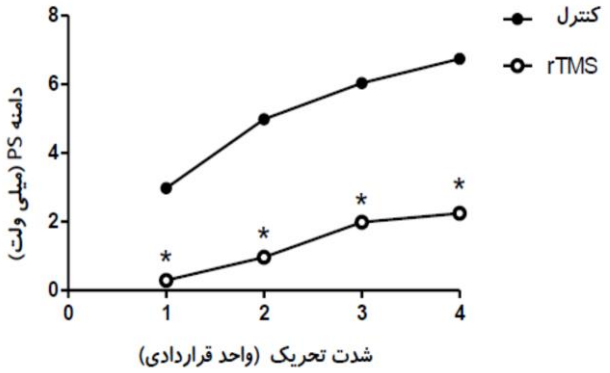
حیوانات به دو گروه کنترل و rTMS تقسیم شدند. در گروه کنترل، حیوانات فقط جراحی شده و القای LTP (با اعمال HFS) در آنها بررسی شد. در گروهrTMS به مدّت چهارده روز rTMS به حیواناتاعمال می‌شد. یک هفته پس از آخرین تحریک، حیوانات بی هوش شده و عمل جراحی برای ثبت پتانسیل‌های میدانی در آن‌ها صورت می‌گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

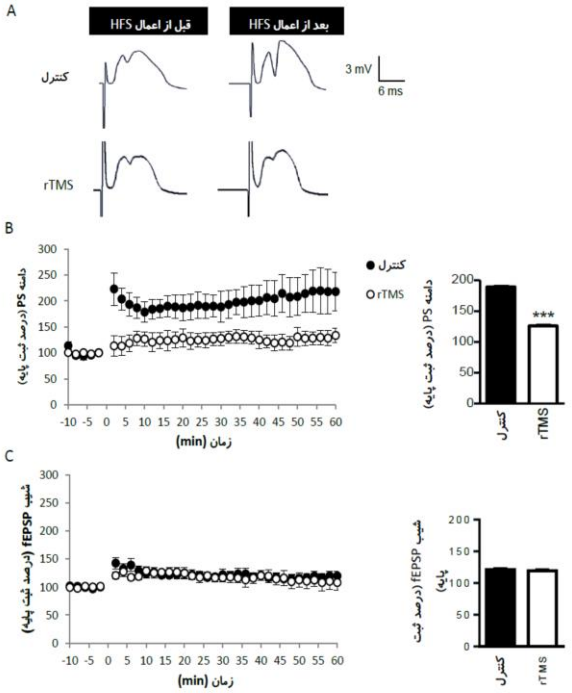
داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار میانگین نشان داده شد. برای مقایسه تأثیرrTMS بر کمیّت های اندازه‌گیری شده از آزمون تی استفاده شد. سطح معنی‌دار بودن داده‌ها $p<0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که بعد از اعمال rTMS به مدّت ١٤ روز، میزان تحریک پذیری سیناپسی کاهش می‌یابد. رسم منحنی ورودی-خروجی (I/O curve) بر اساس دامنه اسپایک‌های تقویّت تفاوت معنی‌داری ($P<0.05$) را بین دو گروه کنترل و rTMS نشان داد(شکل-۱). بر همین اساس، شدّت پالس آزمون برای گروه‌های کنترل و rTMS به ترتیب (بر حسب میکروآمپر) ۸۹± ٤۷۷ و ۲۳۰±۱۰٤۷ بود. تفاوت بین این دو گروه از نظر امّاری معنی‌داراست($P<0.05$) . به عبارتی دیگر در گروه rTMS تحریک‌پذیری سیناپسی کاهش یافته است.



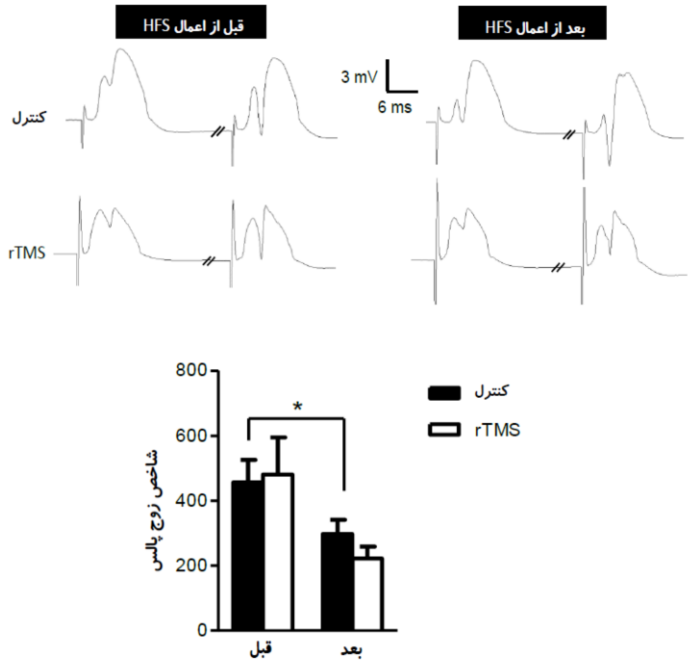
شکل ۱: تأثیراعمال rTMS بر منحنی ورودی- خروجی (I/O curve) . همان طور که شکل نشان می‌دهد بعد از اعمال ۱۴ روز rTMS میزان تحریک‌پذیری سیناپسی کاهش می‌یابد. منحنی بر اساس دامنه اسپایک‌های تقویّت ترسیم شده است. درمحور افقی عدد ۱ محدوده شدّت ۵-۱۰، عدد ۲ محدوده شدّت ۱۰-۱۰۰، عدد ۳ محدوده شدّت ۲۰۰-۳۰۰ و عدد ٤ محدوده شدّت ٤۰۰-٦۰۰ میکرو آمپر می‌باشد. * نشان دهنده p<۰/۰۵در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.



شکل۲: تأثیراعمال rTMS بر تقویّت پاسخ‌های سیناپسی. A: نمایش نمونه ثبت پتانسیل‌های میدانی در دو گروه کنترل و rTMS . B: اندازه‌گیری تغییر در دامنه اسپایک تقویّت به منظور ارزیابی میزان تقویّت سیناپسی نشان داد که میزان این تقویّت در گروهی که ۱٤ روز rTMS دریافت کرده بودند به طور معنی‌داری کم تر از گروه کنترل بود. نمودار ستونی نشان دهنده میانگین دامنه اسپایک تقویّت در فاصله زمانی ۲۰ تا ۳۰ دقیقه پس از اعمال HFS می‌باشد. C: میزان تقویّت شیب پتانسیل های‌میدانی در گروهی که rTMS دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت. *** نشان دهنده p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

اعمال rTMS در این تحقیق باعث جلوگیری از تقویّت پاسخ‌های سیناپسی شد (شکل -۲). ارزیابی میزان تقویّت سیناپسی از طریق اندازه‌گیری تغییر در دامنه اسپا یک نشان داد که میزان این تقویّت در گروهی که rTMS دریافت کرده بودند به طور معنی‌داری (P<0.01) کم تر از گروه کنترل بود (شکل -۲). میزان تقویّت شیب پتانسیل های میدانی در گروهی که rTMS دریافت کرده بودند؛ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت. با توجّه به این نکته که ثبت از ناحیه جسم سلولی صورت می‌گرفت نمی توان این کمیّت را به عنوان کمیّتی دقیق در نظر گرفت (شکل -۲).

اعمال تحریکات زوج پالس با فاصله بین پالسی



شکل ۳: تأثیر اعمال rTMS بر تسهیل زوج پالس. اعمال زوج تحریک با فاصله بین پالسی ۷۰ میلی ثانیه قبل یا بعد از HFS باعث تسهیل زوج پالس در هر دو گروه کنترل و rTMS شد. فقط در گروه کنترل به دنبال ایجاد تقویّت سیناپسی کاهش معنی‌داری در میزان تسهیل زوج پالس مشاهده شد. * نشان دهنده p<۰/۰۵در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

۷۰ میلی ثانیه، باعث تسهیل زوج پالس گردید (که مشخصه بارز سیناپس‌های مسیر پرفورنت و سلول‌های گرانولی شکنج دندانه‌دار می‌باشد). در این مطالعه منحنی-های زوج پالس با فاصله بین پالسی ۷۰ میلی‌ثانیه در دو گروه بر اساس دامنه اسپایک‌های تقویّت ثبت شد (شکل-۳). نتایج نشان داد که میزان تسهیل زوج پالس در حالت پایه بین گروه rTMS و کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. به دنبال اعمالHFSو ایجاد LTP، میزان تسهیل زوج پالس در هر دو گروه کاهش می‌یابد؛امّا، این کاهش فقط در گروه کنترل معنی‌دار بود.

بحث

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که اعمال تحریکات rTMS به مدّت طولانی توانایی شکل‌پذیری سیناپسی مغز را تحت تأثیرقرار داده و از میزان تقویّت طولانی مدّت می‌کاهد. به عبارت دیگر، نتایج مطالعه ما نشان داد که اعمال تحریکات rTMS باعث جلوگیری از تقویّت پاسخ‌های سیناپسی می‌شود. در همین راستا در مطالعات قبلی نیز اثرات مهاری ناشی از اعمال rTMS با فرکانس پایین گزارش شده است. با توجّه به مشابهت اثرات ضدّ تشنجی rTMS با پدیده تضعیف پس از تقویّت، پیشنهاد شده است که rTMS از طریق مکانیسم‌هایی مشابه با تضعیف پس از تقویّت اثرات خود را اعمال می‌کند (۵). در این تحقیق rTMS با فرکانس Hz ۱ به حیوانات اعمال گردید. اعمال rTMS در فرکانس پایین باعث کاهش تحریک‌پذیری قشر می‌شود و باعث طولانی شدن دوره کاهش فعّالیّت قشر (۱۱) و کاهش دامنه پتانسیل تحریک می‌شود (۱۲). کاهش دامنه اسپایک-های تقویّت در نتیجه کاهش رهایش کلسیم داخل سلول در برش‌های زنده هیپوکمپ موش به دنبال اعمال میدان مغناطیسی ۲-۳ میلی تسلا نیز مشاهده شده است (۱۳). نتایج قبلی آزمایشگاه ما نیز نشان داده بود که اعمال rTMS با فرکانس Hz ۱ از تقویّت سیناپسی ناشی از ایجاد تشنج جلوگیری می‌کند(۱٤). جالب این که به دنبال اعمال rTMS با فرکانس بالا افزایش جایگاه‌های اتّصال گلوتامّات روی گیرنده‌های NMDA(۱۵)، افزایش بیان پروتیین c-fos(۱٦) در هیپوکمپ و همچنین کاهش محتوی سروتونین در این ناحیه (۱۷) را گزارش کرده‌اند.

اندازه‌گیری منحنی ورودی- خروجی نشان داد که میزان پاسخ سیناپسی در گروهی از حیوانات که rTMS دریافت کردند، به صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده بود. این نشان می‌دهد که اعمال rTMS تحریک‌پذیری سیناپسی را کاهش می دهد و از دامنه پتانسیل تحریکی پس‌سیناپسی تقویّت می‌کاهد. این یافته با نتایج آزمایشی که نشان دادتحریکات با فرکانس پایینباعث کاهش گیرندهNMDA و در نتیجه کاهش تحریک‌پذیری نورون شده و اثرات ضدّ صرعیاز خود نشان می‌دهد (۱۸)، همخوانی دارد.

در همین راستا مشاهده شد که rTMS می‌تواند تقویّت سیناپسی را نیز متأثر کرده و میزان تقویّت طولانی مدّت در ناحیه شکنج دندانه‌دار را کاهش دهد. با توجّه به نقش مهم گیرنده‌های NMDA در تقویّت سیناپسی در این ناحیه (۱۹) و تأثیرمنفی rTMS بر این گیرنده، می‌توان انتظار داشت که اعمال rTMS به مدّت طولانی (۱٤ روز) کارآیی گیرنده‌های NMDA را کاهش داده و توانایی شکل‌پذیری سیناپسی را می‌کاهد. کاهش در میزان تقویّت طولانی مدّت در گروه rTMS فقط در حالتی از نظر آماری معنی‌دار بود که دامنه اسپایک‌های تقویّت اندازه-گیری شود. در واقع اختلاف معنی‌داری در میزان تقویّت شیب پتانسیل‌های تحریکی پس سیناپسی تقویّت بین گروهی که rTMSدریافت کردند و گروه کنترل مشاهده نشد. علّت این است، که در آزمایش‌های صورت گرفته ثبت از ناحیه جسم سلولی گرفته می‌شد. در این ناحیه تغییرات اسپایک را به خوبی می‌توان اندازه‌گیری کرد؛امّا، به دلیل دور بودن از ناحیه دندریتی که محلّ سیناپس می‌باشد (ناحیه sink) نمی‌توان تغییرات شیب پتانسیل پس‌سیناپسی را با دقّت اندازه‌گیری نمود و به همین دلیل ممکن است تغییرات دامنه و شیب با هم سازگار نباشند. قطعاً در شرایطی مانند شرایط آزمایش ما، باید بر داده‌های حاصل از تغییرات دامنه تکیه کرد.

برای ارزیابی بهتر تأثیرrTMS بر پاسخ های سیناپسی، شاخص زوج پالس نیز اندازه‌گیری گردید. همان گونه که قبلاً ذکر شد، در فاصله بین پالسی ۷۰ms تسهیل زوج پالس در سیناپس مسیر پرفورنت به شکنج دندانه‌دار مشاهده می‌شود (۲۰). قبل از اعمال HFS تفاوت معنی‌داری در این شاخص بین دو گروه کنترل و rTMS وجود نداشت؛امّا، پس از HFS میزان تسهیل زوج پالس فقط در گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. از آن‌جا که کاهش تسهیل زوج پالس نشانه‌ای از افزایش احتمال رهایش نوروترانسمیتر می‌باشد؛ این یافته ممکن است، نشان‌دهنده این موضوع باشد که در گروه rTMS احتمال رهایش مواد میانجی عصبی به دنبال HFS به اندازه گروه کنترل افزایش نمی‌یابد. این امر می‌تواند مکانیسمی در توجیه اثرات کاهندهrTMS بر تقویّت سیناپسی باشد.

علی‌رغم تحقیقات زیادی که انجام گرفته است، هنوز مکانیسم اثرات rTMS و نحوه اثر آن برروی نورون‌ها و شکل‌پذیری سیناپسی به درستی مشخص نشده است؛امّا، احتمال داده می‌شود که rTMS می‌تواند باعث القای تغییرات طولانی مدّت در فعّالیّت‌های نورونی شود. ممکن است که مکانیسم‌های تغییرات طولانی مدّت rTMSمشابه با مکانیسم‌های تضعیف پس از تقویّت (Depotentiation) یا تضعیف طولانی مدّت یا Long) Term Depression) در همان فرکانس باشد(۲۱, ۲۲).

بنابراین، بر اساس نتایج حاصل می توان نتیجه‌گیری کرد که اعمال rTMS به مدّت طولانی می‌تواند اثری کاهنده بر فعّالیّت سیناپسی و متعاقب آن شکل‌پذیری سیناپسی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

هزینه‌های این‌تحقیق‌توسّط معاونت تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرّس تهران و با حمایت ستاد علوم شناختی (کد ۳٤۱) پرداخت شده است. بدین وسیله از این مراکز تشکر وقدردانی به عمل می آید.

References

1. Bliss TV, Collingridge GL, Morris RG. Synaptic plasticity in health and disease: introduction and overview. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2013; 369(1633): 20130129.
2. Levine DN. Sherrington's "The Integrative action of the nervous system": a centennial appraisal. J Neurol Sci. 2007; 253(1-2): 1-6.
3. Rossini, P.M. and S. Rossi, Transcranial magnetic stimulation: diagnostic, therapeutic, and research potential. Neurology, 2007. 68(7): p. 484-8.
4. Tassinari CA, Cincotta M, Zaccara G, Michelucci R. Transcranial magnetic stimulation and epilepsy. Clin Neurophysiol. 2003. 114(5): 777-98.
5. Hoffman RE, Cavus I. Slow transcranial magnetic stimulation, long-term depotentiation, and brain hyperexcitability disorders. Am J Psychiatry. 2002. 159(7): 1093-102.
6. Fox P, Ingham R, George MS, Mayberg H, Ingham J, Roby J, Martin C, Jerabek P. Imaging human intra-cerebral connectivity by PET during TMS. Neuroreport. 1997. 8(12): 2787-91.
7. Ridding MC, Sheean G, Rothwell JC, Inzelberg R, Kujirai T. Kujirai, Changes in the balance between motor cortical excitation and inhibition in focal, task specific dystonia. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1995. 59(5): 493-8.
8. Mavroudakis N, Caroyer JM , Brunko E, Zegers de Beyl D. Abnormal motor evoked responses to transcranial magnetic stimulation in focal dystonia. Neurology. 1995; 45(9): 1671-7.
9. Chen R, Classen J, Gerloff C, Celnik P, Wassermann EM, Hallett M, Cohen LG. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. Neurology. 1997. 48(5): 1398-403.
10. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. New York: Academic Press. 2007.
11. Cincotta M, Borgheresi A, Gambetti C, Balestrieri F, Rossi L, Zaccara G, Ulivelli M, Rossi S, Civardi C, Cantello R. Suprathreshold 0.3 Hz repetitive TMS prolongs the cortical silent period: potential implications for therapeutic trials in epilepsy. Clin Neurophysiol. 2003; 114(10): 1827-33.
12. Muellbacher W, Ziemann U, Boroojerdi B, Hallett M. Effects of low-frequency transcranial magnetic stimulation on motor excitability and basic motor behavior. Clin Neurophysiol, 2000; 111(6): 1002-7.
13. Wieraszko A. Dantrolene modulates the influence of steady magnetic fields on hippocampal evoked potentials in vitro. Bioelectromagnetics. 2000; 21(3): 175-82.
14. Yadollahpour A, Firouzabadi SM, Shahpari M, Mirnajafi-Zadeh J. Repetitive transcranial magnetic stimulation decreases the kindling induced synaptic potentiation: effects of frequency and coil shape. Epilepsy Res. 2014; 108(2): 190-201.
15. Kole MH, Fuchs E, Ziemann U, Paulus W, Ebert U. Changes in 5-HT1A and NMDA binding sites by a single rapid transcranial magnetic stimulation procedure in rats. Brain Res. 1999; 826(2): 309-12.
16. Hausmann A, Weis C, Marksteiner J, Hinterhuber H, Humpel C. Chronic repetitive transcranial magnetic stimulation enhances c-fos in the parietal cortex and hippocampus. Brain Res Mol Brain Res. 2000. 76(2): 355-62.
17. Ben-Shachar D, Belmaker RH, Grisaru N, Klein E. Transcranial magnetic stimulation induces alterations in brain monoamines. J Neural Transm. 1997; 104(2-3): 191-7.
18. Michael N, Gosling M, Reutemann M, Kersting A, Heindel W, Arolt V, Pfleiderer B. Metabolic changes after repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the left prefrontal cortex: a sham-controlled proton magnetic resonance spectroscopy (1H MRS) study of healthy brain. Eur J Neurosci. 2003; 17(11): 2462-8.
19. Errington ML, Lynch MA, Bliss TVP. Long-term potentiation in the dentate gyrus: induction and increased glutamate release are blocked by D(-)aminophosphonovalerate. Neuroscience. 1987; 20(1): 279-84.
20. Buckmaster PS, Tam E, Schwartzkroin PA. Electrophysiological correlates of seizure sensitivity in the dentate gyrus of epileptic juvenile and adult gerbils. J Neurophysiol. 1996; 76(4): 2169-80.
21. Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses. Science. 2001; 294(5544): 1030-8.
22. Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. The plastic human brain cortex. Annu Rev Neurosci. 2005; 28: 377-401.

The effect of chronic low Frequency magnetic stimulation on synaptic potentiation induced by electrical stimulation in the rat's dentate gyrus

Fatemeh rostami.,
MSc Student, Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

***Azam Asgari*,**
PhD Student, Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Amir Shojaei.,
PhD Student, Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Yaghoub Fathollahi.,
Professor, Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares, Tehran, Iran.

Javad Mirnajafi Zade.,
Professor, Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Received:06/08/2014**, Revised:**11/09/2014**, Accepted:**04/10/2014

Corresponding author:
Javad Mirnajafi Zade.,
Tarbiat Modares University,
Tehran, Iran
E-mail: mirnajaf@modares.ac.ir

Abstract

Background and purpose: Nowadays repeated transcranial magnetic stimulation (rTMS) is being used as a treatment for some neurological disorders, but its effect on neuronal activity and synaptic plasticity has not been completely determined. The purpose of this study was to evaluate the effect of chronic rTMS on the ability of synaptic plasticity.

Materials and Methods: rTMS was applied to the hippocampal region for 14 days. One week following termination of rTMS, the amount of synaptic long-term potentiation (LTP) in animals was investigated and compared with control group. High-frequency stimulation (HFS) was applied to the perforant path for LTP induction, andfield potentials were recorded from granular layer of the dentate gyrus. Baseline field potential was recorded 10 minutes before HFS. An increase of at least 20% in population spike amplitude was measured as an index of synaptic potentiation.To compare the effects of rTMS on measured parameters, we used t-test and two way ANOVA followed by Benferroni test (Prism 8 software).

Results: Obtained data showed that, following 14 days of rTMS application causeda reduction in population spike amplitude compared to the control group ($P<0.05$).In addition, the ability of neurons generating LTP was reduced compared to the control group ($P<0.001$). Paired pulse index measurement also showed thatthe paired-pulse facilitationdid not change following LTP induction in animals whom had received rTMS. However, there was a decrease in paired pulse facilitation in control group.

Conclusion: Chronic rTMS application reducesthe amount of synaptic potentiation. Considering the important role of LTP in the occurrence of cognitive processes, patterns of rTMS that have less effects on the ability of synaptic plasticity should be found.

Keywords: *Transcranial magnetic stimulation, Synaptic plasticity, Long-term potentiation, Field potential, dentate gyrus*