تأثیر مهار سلول‌های گلیا بر روند ایجاد تشنجات القاشده به‌وسیلهٔ مدل کیندلینگ شیمیایی در موش صحرایی نر

زهره توسلی[1]، نرگس حسین‌مردی[2*]، مهیار جان‌احمدی[3]، مهدی گلپایگانی[4]، فرهاد سالاری[4]، دلارام جعفرزاده[4]

۱. دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. استاد، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. دانشجوی پزشکی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۸ اسفند ۱۳۹۴
تاریخ پذیرش: ۲۴ تیر ۱۳۹۵

چکیده

اهداف با توجه به نقش سلول‌های گلیا در انتقال سیناپسی، تنظیم غلظت میانجی‌های عصبی در شکاف سیناپسی، تعدیل غلظت پتاسیم در فضای سیناپسی و آزادسازی گلیوترانسمیترها، در این مطالعه به بررسی نقش این سلول‌ها بر روند ایجاد تشنجات القاشده به‌وسیلهٔ مدل کیندلینگ شیمیایی در موش صحرایی پرداختیم.

مواد و روش‌ها در مدل کیندلینگ شیمیایی، پس از تزریق داخل صفاقی ۳۵ mg/kg پنتیلن تترازول هر ۴۸ ساعت، مراحل مختلف تشنج (مرحلهٔ ۱ تا ۵) به‌تدریج ظاهر شد. شاخص‌های تشنج شامل حداکثر مرحلهٔ تشنج، مدت‌زمان تأخیر تا بروز مرحلهٔ ۴، مدت‌زمان مرحله‌های ۴ و ۵ تشنج و نیز کل تشنج در طول ۲۰ دقیقه پس از تزریق ثبت می‌شد. سپس، شاخص‌های تشنج در حیواناتی که سلول‌های گلیای آن‌ها با تزریق داخل بطن مغزی داروی فلوئوروسیترات (۱ نانومول در ۱ میکرولیتر)، هر ۲۴ ساعت یک‌بار، ۳۰ دقیقه قبل از هر تزریق پنتیلن تترازول (PTZ) مهار شده است نیز بررسی و با حیوانات صرعی‌شده مقایسه شد.

یافته‌ها نتایج نشان داد که مهار سلول‌های گلیا با تزریق داخل بطن مغزی داروی فلوئوروسیترات، سبب کاهش معنادار مرحلهٔ تشنج (SS)، مدت‌زمان مرحلهٔ پنج تشنج (S5D)، مدت‌زمان کل تشنج (SD) و افزایش معنادار مدت زمان تأخیر تا مرحلهٔ چهار تشنج (S4L) می‌شود ($P<0/05$، $P<0/01$ و $P<0/001$).

نتیجه‌گیری بر اساس نتایج به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً با مهار سلول‌های گلیا گسترش فعالیت صرعی در سیستم عصبی به تعویق می‌افتاد، دورهٔ فعالیت بیش‌ازحد نورون‌ها کاهش می‌یابد و از پیشرفت تشنج به مراحل پایانی جلوگیری می‌شود.

کلیدواژه‌ها:
پنتیلن تترازول، صرع، کیندلینگ، نوروگلیا.

مقدمه

صرع یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عصبی است و بیش از ۵۰ میلیون نفر در دنیا به این بیماری مبتلایند [۱]. این بیماری اختلال نورولوژیکی مزمن با مجموعه‌ای از علایم ناهمگون است که مشخصهٔ آن حملات تشنجی عودکننده است. این حملات با تخلیهٔ غیرطبیعی سلول‌های عصبی و به‌دلیل اختلال در تعادل طبیعی بین تحریک و مهار در مغز ایجاد می‌شود [۲]. فرضیه‌هایی برای ایجاد و انتشار تشنج مطرح شده است که همهٔ آن‌ها منجر به افزایش هم‌زمانی تخلیه‌های نورونی می‌شود [۳]. در کانون تشنج، نورون‌های منطقهٔ کوچکی از قشر مغز برای مدتی کوتاه (۵۰-۱۰۰ هزارم ثانیه) به‌صورت هم‌زمان فعال می‌شود. اگر تخلیهٔ هم‌زمان نورونی به حد کفایت برسد، منجر

* **نویسندهٔ مسئول: نرگس حسین‌مردی**
نشانی: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی
تلفن: ۰۲۱ ۲۲۴۳۹۹۷۱
رایانه: nhosseinmardi@sbmu.ac.ir

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۴، شمارهٔ ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۶، ص ۷۱-۷۷.
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

به حملهٔ تشنجی موضعی حاد می‌شود. در صورتی که این فرایند در سراسر مغز پخش شود و به‌مدت چند ثانیه یا چند دقیقه به طول انجامد، حملهٔ تشنجی ژنرالیزه (عمومی) ظاهر می‌شود [۴].

مشخص‌شده است که علاوه‌بر نورون‌ها، سلول‌های گلیا نقش مهمی در تنظیم تحریک‌پذیری و هم‌زمان‌سازی فعالیت نورون‌ها ایفا می‌کند [۵]. سلول‌های گلیا انواع متعددی دارد که آستروسیت‌ها فراوان‌ترین نوع این سلول‌هاست و با نورون‌ها از طریق رهایش یا جذب میانجی عصبی تعامل دارد. این سلول‌ها محیط شیمیایی بیرونی نورون‌ها را با برداشتن یون‌های اضافی، به‌خصوص پتاسیم تنظیم می‌کند. همچنین، به هومئوستاز در مغز با فراهم‌کردن انرژی برای نورون‌ها و سوبستراهای لازم برای نوروترانسمیترها کمک می‌کند [۶]. این سلول‌ها گیرنده‌های مختلفی مانند گیرنده‌های یونوتروپیکی و گیرنده‌های متابوتروپیکی گلوتامات، همچنین ناقل‌هایی مانند گلوتامات ترانسپورتر و گلوتامات– آسپارتات ترانسپورتر و ناقل‌های مربوط به سایر میانجی‌های عصبی مانند گابا و گلایسین را بیان می‌کند [۷].

آستروسیت‌ها مواد نورواکتیو زیادی مانند آدنوزین تری‌فسفات و دی- سرین ترشح می‌کند. آدنوزین تری‌فسفات جزء مهمی از سیگنالینگ آستروسیتی است و نقش مهمی در تعامل گلیال- نورونی دارد. این ماده انرژی لازم برای فعالیت نورون‌ها را فراهم می‌کند و فعالیت سیناپسی قوی به مدت طولانی حفظ می‌شود؛ بنابراین، آستروسیت‌ها و میکروگلیاها قادرند به سیگنال‌های عصبی پاسخ دهند و می‌توانند عملکرد سیناپسی نورون‌ها و تحریک‌پذیری عصبی را تعدیل کنند [۸].

بر این اساس در مورد نقش آستروسیت‌ها در تنظیم عملکرد سیناپس‌ها شواهدی مبنی بر فرضیهٔ سیناپس سه‌جزیی وجود دارد؛ بدین‌صورت‌که هر سیناپس از سه جزء شامل پایانهٔ پیش‌سیناپسی، پایانهٔ پس‌سیناپسی و پایانهٔ آستروسی تشکیل شده است و از این طریق آستروسیت روی عملکرد سیناپس‌ها اثر مستقیم و فعال دارد [۹].

نقش آستروسیت‌ها در شروع و پایان حملات تشنجی به‌خوبی مشخص نیست، اما پیشنهاد شده است که آستروسیت‌های ناکارآمد در تنظیم فعالیت سیناپسی وظایف خود را به‌درستی انجام نمی‌دهد و درنتیجه از بروز هم‌زمان‌شدن غیرطبیعی و بیش‌ازحد سلول‌های عصبی جلوگیری می‌کند [۱۰].

آستروگلیوزیس از مهم‌ترین نشانه‌های مرفولوژیکی در صرع است که بیشتر با هایپرتروفی و افزایش آستروسیت‌ها مشخص می‌شود. در مدل کیندلینگ نیز هیپرتروفی آستروسیتی نشان داده‌شده است. بنابراین، علاوه‌بر تغییرات متنوع در سلول‌های عصبی در بیماری صرع، به‌نظر می‌رسد سلول‌های گلیا از جمله آستروسیت‌ها نیز در این بیماری به‌خصوص در اشکال مزمن و برگشت‌پذیر تغییر می‌کند، اما به‌خوبی مشخص نشده است که تغییر در این سلول‌ها عامل شروع تغییر در تحریک‌پذیری سیستم عصبی است یا به‌صورت جبرانی در اثر تحریک‌پذیری بیش‌ازحد به‌وجود آمده است. همان‌طور که در ابتدا ذکر کردیم، آستروسیت‌ها نقش مهم فیزیولوژیکی در سیستم عصبی مرکزی دارد. برخی از این اعمال در جهت کاهش تحریک‌پذیری و برخی در جهت افزایش تحریک‌پذیری در سطح سیناپس نقش دارد [۱۱]. سلول‌های گلیا به‌خصوص آستروسیت‌ها نقش‌های متعددی در تعدیل (کاهش و افزایش) تحریک‌پذیری شبکه‌های عصبی دارد؛ لذا، در تحقیق حاضر به بررسی تأثیر مهار سلول‌های گلیا در بروز رفتارهای تشنجی ناشی از مدل صرعی کیندلینگ القاشده با پنتیلن تترازول پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدودهٔ وزنی ۱۵۰-۱۸۰ گرم در شروع آزمایش استفاده شد. موش‌ها در شرایط مناسب نگهداری شده بودند و آب و غذا به مقدار کافی در دسترس آن‌ها قرارمی‌گرفت. این حیوانات در قفس‌های پلاستیکی در دمای کنترل‌شده (۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد) و چرخهٔ تاریکی- روشنایی دوازده ساعته نگهداری می‌شد. همهٔ آزمایش‌ها بین ساعت ۱۰-۱۳ انجام شد.

جهت القای تشنج در حیوانات، پنتیلن تترازول (سیگما، آمریکا) با دوز ۳۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم در روز اول به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. بعد از آن هر ۴۸ ساعت یک‌بار تزریق پنتیلن تترازول تکرار می‌شد، به‌طوری‌که هر یک دوز در میان (به عبارتی هر چهار روز یک‌بار) ۲ میلی‌گرم/ کیلوگرم به غلظت آن افزوده می‌شد [۱۲، ۱۳]. به‌تدریج حیوانات مراحل مختلف تشنج (مرحلهٔ ۰ تا ۵) را نشان می‌دادند. این مراحل بر اساس درجه‌بندی ریسین، عبارت است از:

مرحلهٔ ۰: بدون پاسخ
مرحلهٔ ۱: انقباض عضلات صورت و گوش‌ها
مرحلهٔ ۲: انتشار موج انقباضی در طول بدن و حرکت سر به‌طرف بالا و پایین
مرحلهٔ ۳: پرش‌های میوکلونیکی
مرحلهٔ ۴: ایستادن روی دو پا و کلونوس اندام‌های جلویی
مرحلهٔ ۵: حملات عمومی تونیک کلونیکی و

ازدست‌رفتن رفلکس ایستادن.

معمولاً حیوانات به‌طور میانگین پس از ۱۱-۱۳ تزریق، مرحلهٔ ۵ تشنج را نشان می‌داد. حیواناتی که سه‌بار متوالی مرحلهٔ ۴ یا ۵ تشنج را نشان دهند، حیوان کامل کیندل‌شده (full kindled) نامیده می‌شود. پس از هر بار تزریق PTZ، حیوانات به مدت ۲۰ دقیقه بررسی شد و فاصلهٔ زمانی بین تزریق دارو تا زمانی که مرحلهٔ ۴ تشنج را نشان می‌داد (S4L: Stage 4 latency)، مدت‌زمان مرحله‌های ۴ و ۵ تشنج (S5D: Stage 5 duration)، همچنین کل زمانی که حیوان در مرحلهٔ ۱ تا ۵ تشنج به‌سر می‌برد (SD: Seizure Duration) با کمک زمان‌سنج اندازه‌گیری و حداکثر مرحلهٔ تشنج (SS: Seizure satge) که حیوان نشان داده نیز ثبت می‌شد.

به‌منظور بررسی تأثیر مهار سلول‌های گلیا بر بروز و پیشرفت مراحل تشنج، از مهارکنندهٔ اختصاصی سلول‌های گلیا [۱۴]، یعنی فلوئوروسیترات (تاکریس، انگلیس) به‌صورت داخل بطن مغزی (۱ نانومول در ۱ میکرولیتر) هر ۲۴ ساعت یک‌بار ۳۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تتزازول، استفاده شد. سپس، تمام شاخص‌های ذکرشده در بالا اندازه‌گیری و ثبت شد. در گروه کنترل مربوط از حلّال فلوئوروسیترات، یعنی بافر فسفات سالین (PBS)، استفاده شد.

گروه‌های مورد مطالعه شامل چهار گروه به شرح زیر است:

۱. دریافت‌کنندهٔ پنتیلن تترازول
۲. دریافت‌کنندهٔ حلّال پنتیلن تترازول (سالین)
۳. دریافت‌کنندهٔ پنتیلن تترازول به‌همراه فلوئوروسیترات
۴. دریافت‌کنندهٔ پنتیلن تترازول به‌همراه حلّال فلوئوروسیترات.

چون برخی حیوانات، مرحلهٔ چهارم تشنج را نشان نمی‌دادند، مدت‌زمان تأخیر تا بروز مرحلهٔ چهارم تشنج، برابر با بی‌نهایت می‌شد که قابل‌استفاده در محاسبات آماری نبود. به‌این دلیل، از معکوس مدت‌زمان تأخیر تا بروز مرحلهٔ چهارم تشنج استفاده شد. اگر حیوانات، به مرحلهٔ چهارم تشنج نمی‌رسیدند، معکوس مدت‌زمان تأخیر تا بروز این مرحلهٔ تشنج، برابر با صفر می‌شد.

برای مقایسهٔ کمیت‌های مختلف تشنج طی روزهای مختلف در گروه کیندل‌شده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه با اندازه‌های تکراری (Repeated measure ANOVA) و پس‌آزمون دانت و برای مقایسهٔ میانگین دو گروه در روزهای مختلف از آزمون پارامتریکی آنالیز واریانس دوطرفه و پس‌آزمون بونفرونی و نیز آزمون غیرپارامتریکی کروسکال والیس و تست تعقیبی من ویتنی استفاده شد. اطلاعات به‌صورت میانگین±انحراف معیار (SEM) ارائه و در هر روش آماری $P<0/05$ سطح معنادار تلقی شد.

یافته‌ها

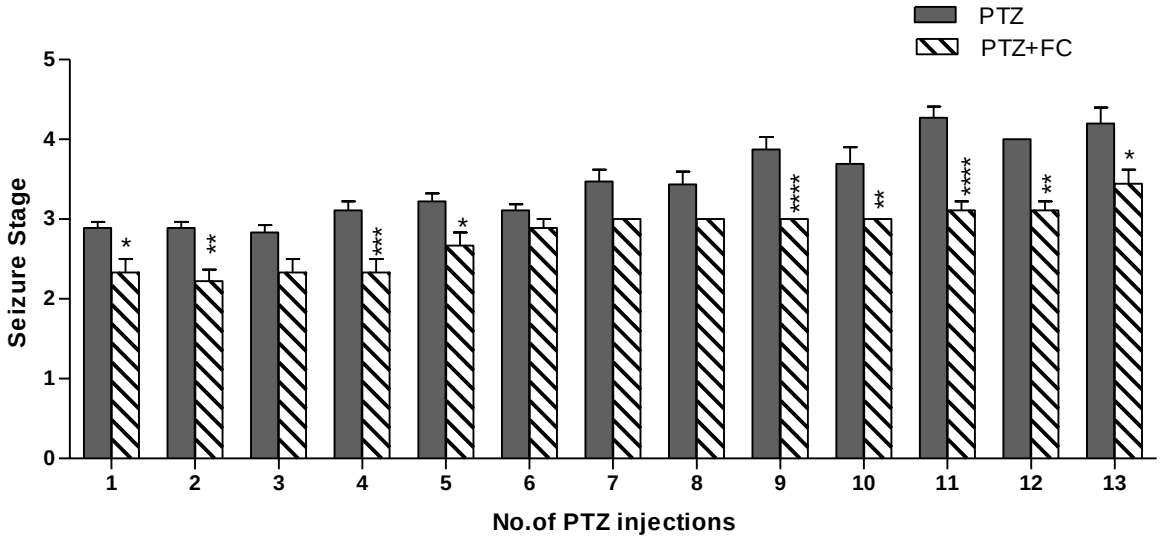
میانگین تعداد تزریقات لازم برای کیندل‌کردن حیوانات در گروهی که پنتیلن تترازول دریافت کردند ۲±۱۱ تزریق بود (n=۹). در گروهی که ۳۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تترازول، فلوئوروسیترات دریافت کرده بودند، حیوانات ۱۳ دوز پنتیلن تترازول و فلوئوروسیت را دریافت کردند. تجزیه‌وتحلیل آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که پیشرفت مراحل حملهٔ تشنج (SS) طی روند القای کیندلینگ شیمیایی، با افزایش تعداد دفعات تزریق پنتیلن تترازول، به‌طور معناداری افزایش یافته است ($P<0/001$، شکل ۱). همچنین، مدت‌زمان سپری‌شده تا وقوع مرحلهٔ چهارم تشنج (S4L)، طی زمان به‌طور معناداری کاهش یافته است ($P<0/05$، $P<0/01$، $P<0/001$، شکل ۲). علاوه‌بر این، نتایج نشان داد که با افزایش تعداد دفعات تزریق پنتیلن تترازول طی روند القای کیندلینگ شیمیایی، افزایش معناداری نیز در مدت‌زمان مرحله‌های ۴ و ۵ تشنج (S5D) و کل تشنج (SD) رخداده است ($P<0/01$، شکل ۳ و ۴).

برای مهار سلول‌های گلیا، داروی فلوئوروسیترات (۱ نانومول/۱میکرولیتر)، هر ۲۴ ساعت یک‌بار، ۳۰ دقیقه قبل از هر تزریق پنتیلن تترازول به داخل بطن مغزی تزریق شد. چون تزریق بافر فسفات سالین (PBS) تأثیری بر روند کیندلینگ نداشت داده‌های به‌دست‌آمده از این گروه با داده‌های به‌دست‌آمده از حیواناتی که تجمیع شد که فقط پنتیلن تترازول دریافت کردند و با گروه دریافت‌کنندهٔ فلوئوروسیتراتی مقایسه شد. به‌دلیل غیرپارامتریکی‌بودن مراحل تشنج از آزمون کروسکال والیس برای مقایسهٔ این شاخص استفاده شد. این آزمون آماری نشان داد تزریق فلوئوروسیترات (۱ نانومول/۱ میکرولیتر) قبل از هر تزریق پنتیلن تترازول، سبب کاهش بروز مراحل تشنج (SS) در مقایسه با گروه پنتیلن تترازول می‌شود، به‌نحوی که در روزهای ابتدایی و انتهایی کاهش معناداری در مرحلهٔ حملهٔ تشنج (SS) در گروه دریافت‌کنندهٔ فلوئوروسیترات (۱ نانومول/۱ میکرولیتر) مشاهده شد ($P<0/05$، $P<0/01$، $P<0/001$، شکل ۱). در گروهی که سلول‌های گلیای آن‌ها مهارشده بود، اغلب حیوانات بعد از سیزده تزریق پنتیلن تترازول تا مرحلهٔ ۳ تشنج پیش می‌رفتند و مرحله‌های ۴ و ۵ تشنج را نشان نمی‌دادند.

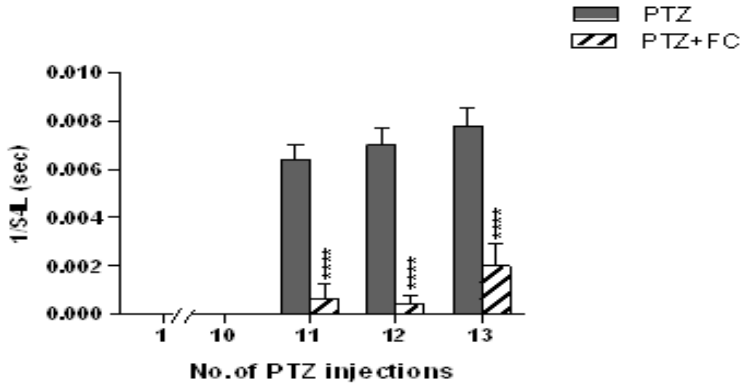
علاوه‌بر این، نتایج نشان داد که تزریق فلوئوروسیترات

قبل از هر تزریق پنتیلن تترازول، مدت‌زمان تأخیر تا بروز مرحلهٔ ۴ تشنج (S4L) را به‌طور معناداری افزایش می‌دهد. تحلیل‌های آماری آنالیز واریانس دوطرفه افزایش معناداری را در مدت‌زمان سپری‌شده تا وقوع مرحلهٔ چهارم تشنج نسبت به گروه پنتیلن تترازول نشان داد (P<۰/۰۰۱، شکل ۲).

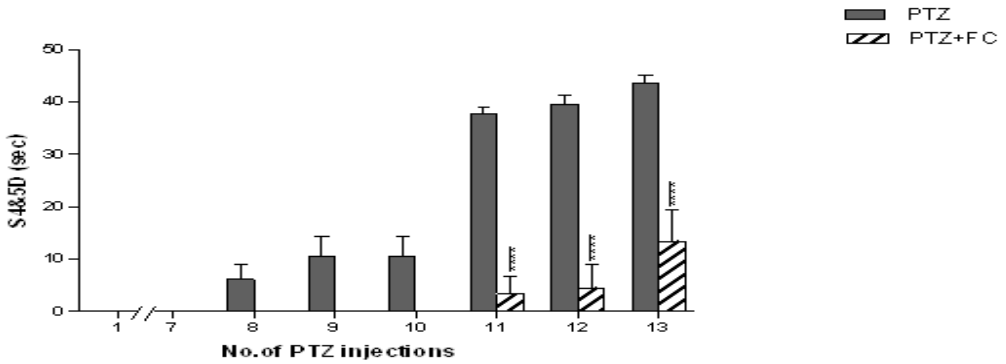
آنالیز آماری نشان داد با مهار سلول‌های گلیا، کل مدت‌زمان تشنج (SD)، همچنین مدت‌زمان مرحلهٔ ۴ و ۵ تشنج (S5D) به‌طور معناداری کاهش یافته است (P<۰/۰۵، P<۰/۰۱، P<۰/۰۰۱، شکل ۳ و ۴).



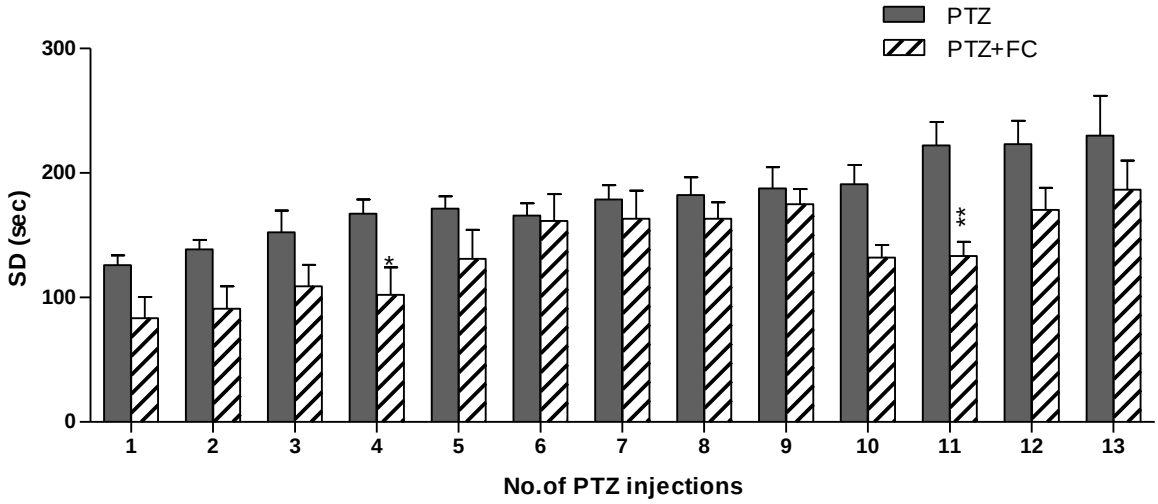
شکل ۱. مقایسهٔ مرحلهٔ حملهٔ تشنجی (SS) بین گروه دریافت‌کنندهٔ پنتیلن تترازول (PTZ)، (n=۹) و گروه دریافت‌کنندهٔ فلوئوروسیترات (۱ نانومول در ۱ میکرولیتر) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تترازول (n=۹). مهار سلول‌های گلیا با فلوئوروسیترات سبب کاهش معناداری در مرحلهٔ حملهٔ تشنج (SS) طی روند القای کیندلینگ شیمیایی شد. داده‌ها به‌صورت (Mean±SEM) نشان داده شده است (*P<0.001,** P<0.01 & * P<0.05).**



شکل ۲. مقایسهٔ مدت‌زمان تأخیر تا بروز مرحلهٔ چهارم تشنج (S4L) بین گروه PTZ (n=۹) و گروه دریافت‌کنندهٔ فلوئوروسیترات (۱ نانومول در ۱ میکرولیتر) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ (n=۹). مهار سلول‌های گلیا با فلوئوروسیترات سبب افزایش معناداری در مدت‌زمان تأخیر تا بروز مرحلهٔ چهارم تشنج (S4L) طی روند القای کیندلینگ شیمیایی شد. داده‌ها به‌صورت (Mean±SEM) نشان داده شده است (*P<0.001).**



شکل ۳. مقایسهٔ مدت‌زمان مرحله‌های چهار و پنج تشنج (S5D) بین گروه PTZ (n=۹) و گروه ۹ فلوئوروسیترات (۱ نانومول در ۱ میکرولیتر) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ (n=۹). مهار سلول‌های گلیا با فلوئوروسیترات سبب کاهش معنادار مدت‌زمان مرحله‌های چهار و پنج تشنج شد. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM نشان داده شده است (*P<0.001).**



شکل ۴. مقایسهٔ کل مدت‌زمان تشنج (SD) بین گروه PTZ (n=۹) و گروه دریافت‌کننده فلوئوروسیترات (۱ نانومول در ۱ میکرولیتر) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ (n=۹). مهار سلول‌های گلیا با فلوئوروسیترات سبب کاهش کل مدت‌زمان تشنج طی روند القای کیندلینگ شیمیایی شد. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM نشان داده‌شده است (P<0.01 & *P<0.05).**

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مهار سلول‌های گلیا سبب کاهش رفتارهای تشنجی در مدل صرعی کیندلینگ شیمیایی القاشده با پنتیلن تترازول می‌شود. تزریق فلوئوروسیترات (مهارکنندهٔ اختصاصی سلول‌های گلیا) قبل از هر بار تزریق پنتیلن تترازول، بروز رفتار تشنج را تا حد زیادی تحت تأثیر قرارداد، به‌طوری که سبب افزایش مدت‌زمان تأخیر تا بروز مرحلهٔ ۴ تشنج شد. همچنین، مهار سلول‌های گلیا سبب کاهش مدت‌زمان کل تشنج (SD)، زمان مرحله‌های ۴ و ۵ تشنج و کاهش بروز متوسط مرحله‌های حملهٔ تشنجی (SS) شد.

با توجه به اثر مهار سلول‌های گلیا در کاهش مرحلهٔ حملهٔ تشنجی (SS)، مدت‌زمان مرحلهٔ ۴ و ۵ تشنج (S5D) و مدت‌زمان کل تشنج (SD) و نیز افزایش مدت‌زمان تأخیر تا بروز مرحلهٔ چهارم تشنج (S4L) می‌توان نتیجه گرفت که مهار سلول‌های گلیا گسترش فعالیت شبه‌صرعی در سیستم عصبی را به‌تعویق می‌اندازد و سبب خاموش‌کردن سریع‌تر فعالیت بیش‌ازحد نورون‌ها می‌شود.

یکی از کمیت‌های تشنجی که در این مطالعه ارزیابی شد، کمیت مرحلهٔ حملهٔ تشنجی (SS) بود. مشخص شد که مهار سلول‌های گلیا، سبب کاهش آخرین مرحلهٔ حملهٔ مشاهده‌شده در حیوانات شده است؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد مهار این سلول‌ها توانسته است از انتشار فعالیت تشنجی به

نواحی مختلف مغزی ممانعت به‌عمل آورد. احتمالاً، با مهار سلول‌های گلیا از انتقال موج تشنجی به ناحیهٔ پری‌فرونتال و مسئول انتشار و عمومی‌شدن تشنج [۱۵] ممانعت می‌شود. فلوئوروسیترات زمان شروع تشنجات تونیک کلونیک را به‌تعویق می‌اندازد. کمیت S4L نشان‌دهندهٔ زمان لازم برای عمومی‌شدن تشنج است و طولانی‌شدن آن حاکی از تأخیر در ایجاد تشنج عمومی است [۱۵]. این نتیجه نشان می‌دهد مهار سلول‌های گلیا توانسته است با عمومی‌شدن تشنج مقابله کند و آن را به‌تعویق اندازد. به‌نظر می‌رسد که فلوئوروسیترات با کاهش فعالیت یا سطح تحریک‌پذیری نورون‌ها سبب کاهش گسترش امواج به نواحی حرکتی شده است. به‌عبارت دیگر، مهار سلول‌های گلیا با ایجاد تحریک‌پذیری افزایش‌یافته مقابله کرده است و سعی در برقراری تعادل مجدد در سیستم را دارد.

با وجود پیشرفت‌های بسیار در عرصهٔ پزشکی، سازوکارهای بیماری صرع و اختلالات تشنجی به‌خوبی شناخته نشده است [۱۶]. مشخص شده است که نمی‌توان همهٔ وقایع سیستم عصبی را فقط حاصل تغییرات ناشی از سلول‌های عصبی دانست. با توجه به نقش‌های مهم سلول‌های گلیا در سیستم عصبی و تعامل آن‌ها با نورون‌ها، مطالعات روی نقش این سلول‌ها در ایجاد یا مهار تحریک‌پذیری سیستم عصبی در شناخت سازوکارهای بیماری صرع کمک می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که سلول‌های گلیا در انتقال سیناپسی، تنظیم غلظت میانجی‌های عصبی در شکاف سیناپسی، بافرینگ پتاسیم در فضای سیناپسی، آزادسازی فاکتورهایی مانند آدنوزین تری‌فسفات که عملکرد پیش سیناپسی را تنظیم می‌کند و حتی در آزادسازی خود میانجی‌های عصبی شرکت می‌کند [۱۷]. آستروسیت‌ها فراوان‌ترین و متنوع‌ترین سلول‌های گلیا در سیستم اعصاب مرکزی است. آستروسیت با چندین سیناپس مجاور خود ارتباط برقرار می‌کند و ممکن است کنترل‌کنندهٔ موضعی عمل کند [۶].

یکی از مهم‌ترین و البته ناشناخته‌ترین روش‌هایی که سلول‌های گلیا در تنظیم تحریک‌پذیری عصبی نقش دارد، تنظیم غلظت نوروترانسمیترها و یون‌ها به‌خصوص پتاسیم، همچنین میزان آب فضای خارج سلولی با کمک کانال‌های آب (آکواپورین) اختصاصی در این سلول‌هاست. این کانال‌ها انتقال آب را تنظیم می‌کند؛ بنابراین، در شرایط پاتولوژیکی که با تغییرات در فضای خارج سلول تعدیل می‌شود، مثل آستانهٔ تشنج، در بیماری صرع درگیر است [۱۸، ۱۹]؛ درنتیجه ممکن است در این مطالعه با توجه به‌تعویق افتادن تشنج بتوان یکی از سازوکارهای احتمالی را حذف عملکرد کانال‌های آب (آکواپورین) دانست. از آنجا که بروز تشنج به تغییرات فضای خارج سلول (ECS) وابسته است [۲۰]، به‌نظر می‌رسد که حذف کانال‌های آب باعث افزایش ECS و به‌این‌ترتیب باعث افزایش آستانهٔ تشنج می‌شود [۲۰].

آستروسیت‌ها گیرنده‌های مختلفی مانند گیرنده‌های یونوتروپیکی و متابوتروپیکی گلوتامات را بیان می‌کند. از طرفی، گیرنده‌های متابوتروپیکی مسئول افزایش Ca^{2+} در آستروسیت‌هاست. فعال‌سازی گیرندهٔ متابوتروپیکی نوع پنج منجر به افزایش Ca^{2+} درون‌سلولی می‌شود. افزایش Ca^{2+} ممکن است باعث آغاز نوسان و انتشار موج در شبکهٔ آستروسیتی، همچنین فعال‌شدن کانال‌های یونی وابسته به Ca^{2+} و القای آزادسازی گلوتامات از آستروسیت‌ها شود. شواهد نشان می‌دهد که در پاسخ به فعالیت عصبی غلظت یون Ca^{+2} گلیا افزایش پیدا می‌کند. این امر آغازگر رهاشدن ترانسمیترهای شیمیایی از گلیاست و موجب تنظیم بازخوردی فعالیت عصبی و قدرت سیناپسی می‌شود [۹]. در این مطالعه ممکن است یکی از سازوکارهای دخیل که مانع از عمومی‌شدن تشنج شده است، حذف عملکرد گیرنده‌های یونوتروپیکی ومتابوتروپیکی گلوتامات و عدم فعال‌شدن کانال‌های یونی وابسته به Ca^{2+} و مهار القای آزادسازی گلوتامات از آستروسیت‌ها باشد.

به‌دنبال فعالیت نورون، امواج کلسیمی باعث رهایش آدنوزین تری فسفات از آستروسیت به فضای خارج سلولی می‌شود [۲۱]. آدنوزین تری‌فسفات جزئی مهم از سیگنالینگ آستروسیتی است و نقش مهمی در تعامل گلیال- نورونی دارد. انرژی لازم برای فعالیت نورون‌ها را فراهم می‌کند و فعالیت سیناپسی قوی به مدت طولانی حفظ می‌شود [۹]. ممکن است مهار گلیاها با کاهش سطح انرژی لازم برای فعالیت نورون‌ها یکی از سازوکارهای دخیل در پایین‌آمدن سطح تحریک‌پذیری نورون‌ها، به‌تعویق افتادن تشنج و عدم انتشار آن باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که مهار سلول‌های گلیا قبل از هر بار تزریق پنتیلن تترازول، روی مراحل رفتاری تشنج‌های القاشده در مدل کیندلینگ شیمیایی تأثیر دارد، به‌طوری که مدت‌زمان تأخیر تا عمومی‌شدن تشنج را افزایش می‌دهد و سبب کاهش متوسط مرحلهٔ حملهٔ تشنج، همچنین مدت‌زمان تشنج می‌شود. به‌بیان دیگر مهار سلول‌های گلیا از گسترش فعالیت تشنجی از کانون تشنج به نواحی مختلف و ژنرالیزه‌شدن تشنج جلوگیری می‌کند. همچنین، پس از شروع این فعالیت در نورون‌ها سبب مهار آن و در نتیجه کاهش مدت‌زمان تشنج می‌شود. شاید بتوان نتیجه گرفت که اگرچه در

شرایط فیزیولوژیکی سلول‌های گلیا در برقراری تعادل در سیستم عصبی نقش دارد، در شرایط پاتولوژیکی نظیر صرع از طریق تعامل با نورون‌ها به افزایش تحریک‌پذیری سیستم عصبی کمک می‌کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامهٔ زهره توسلی، دانشجوی کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی، مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است که بدین‌وسیله نویسندگان از مسئولان آن دانشگاه تشکر و سپاسگزاری می‌کنند. همچنین، نویسندگان مقاله به سبب انجام تحقیق در مرکز تحقیقات علوم اعصاب از استاد بزرگوار سرکار خانم دکتر معتمدی تقدیر و تشکر می‌کنند.

References

[1] White HS. Comparative anticonvulsant and mechanistic profile of the established and newer antiepileptic drugs. Epilepsia, 1999; 40(5): 2-10.
[2] Fathollahi Y, Motamedi F, Semnanian S, Zardoshti M. Repeated administration of pentylenetetrazol alters susceptibility of rat hippocampus to primed-burst stimulation: evidence from in vitro study on CA1 of hippocampal slices. Brain Research, 1996; 738(1): 138-41.
[3] Harding AJ, Das A, Kril JJ, Brooks WS, Duffy D, Halliday GM. Identification of families with cortical Lewy body disease. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, 2004; 128(1): 118-22.
[4] Natelson S, Miletich DJ, Seals CF, Visintine DJ, Albrecht RF. Clinical biochemistry of epilepsy. I. Nature of the disease and a review of the chemical findings in epilepsy. Clinical Chemistry, 1979; 25(6): 889-97.
[5] Wetherington J, Serrano G, Dingledine R. Astrocytes in the epileptic brain. Neuron, 2008; 58(2): 168-78.
[6] Todd KJ, Serrano A, Lacaille JC, Robitaille R. Glial cells in synaptic plasticity. Journal of Physiology, 2006; 99(2): 75-83.
[7] Clasadonte J, Dong J, Hines DJ, Haydon PG. Astrocyte control of synaptic NMDA receptors contributes to the progressive development of temporal lobe epilepsy. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America, 2013; 110(43): 17540-5.
[8] Allen NJ, Barres BA. Neuroscience: glia—more than just brain glue. Nature, 2009; 457(7230): 675-7.
[9] Volterra A, Steinhäuser C. Glial modulation of synaptic transmission in the hippocampus. Glia, 2004; 47(3): 249-57.
[10] Amiri M, Bahrami F, Janahmadi M. Functional contributions of astrocytes in synchronization of a neuronal network model. Journal of Theoretical Biology, 2012; 292: 60-70.
[11] Seifert G, Carmignoto G, Steinhäuser C. Astrocyte dysfunction in epilepsy. Brain Research Reviews, 2010; 63(1): 212-21.
[12] Palizvan MR, Fathollahi Y, Semnanian S, Hajezadeh S, Mirnajafizadh J. Differential effects of pentylenetetrazol-kindling on long-term potentiation of population excitatory postsynaptic potentials and population spikes in the CA1 region of rat hippocampus. Brain Research, 2001; 898(1): 82-90.
13. Hansen SL, Sperling BB, Sánchez C. Anticonvulsant and antiepileptogenic effects of GABA A receptor ligands in pentylenetetrazole-kindled mice. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 2004; 28(1): 105-13.
[14] Hassel B, Paulsen RE, Johnsen A, Fonnum F. Selective inhibition of glial cell metabolism in vivo by fluorocitrate. Brain Res, 1992; 576(1): 120-4.
[15] Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. Archives of Toxicology, 1983; 54(4): 275-87.
[16] Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, editors. Principles of neural science. New York: McGraw-Hill, 2000.
[17] Parpura V, Heneka MT, Montana V, Oliet SH, Schousboe A, Haydon PG, Stout RF, Spray DC, Reichenbach A, Pannicke T, Pekny M. Glial cells in (patho) physiology. Journal of Neurochemistry, 2012; 121(1): 4-27.
[18] Scharfman HE, Binder DK. Aquaporin-4 water channels and synaptic plasticity in the hippocampus. Neurochemistry International, 2013; 63(7): 702-11.
[19] Hsu MS, Seldin M, Lee DJ, Seifert G, Steinhäuser C, Binder DK. Laminar-specific and developmental expression of aquaporin-4 in the mouse hippocampus. Neuroscience, 2011; 178: 21-32.
[20] Binder DK, Yao X, Verkman AS, Manley GT. Increased seizure duration in mice lacking aquaporin-4 water channels. Acta Neurochirurgica Supplement, 2006; 96: 389-92.
[21] Araque A, Parpura V, Sanzgiri RP, Haydon PG. Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. Trends in Neurosciences, 1999; 22(5): 208-15.