بسم الله الرحمن الرحیم

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل **پایان‌نامه کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **فیزیولوژی** است که در سال**۱۳۸۸** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **آقای دکتر سیدجواد میر نجفی زاده** ، مشاوره **آقای دکترمحمد جوان** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ٤ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ٤ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ٦ : اینجانب **مهناز داودی** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی

عنوان

بررسی برخی شاخص‌های مولکولی اکتساب کیندلینگ شیمیایی در مدل تعدیل یافته با چهار بار تزریق پنتیلن‌تترازول در مقایسه با مدل مرسوم کیندلینگ شیمیایی در موش صحرایی

نگارش

مهناز داودی

استاد راهنما

آقای دکتر سیدجواد میر نجفی زاده

استاد مشاور

آقای دکترمحمد جوان

اسفند ۱۳۸۸

تقدیم به :

پدر و مادر عزیزم

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که اول است و پیش از او اولی نبوده و آخر است و پس از او آخری نباشد.

اکنون به یاری پروردگار بی همتا توانسته‌ام این تحقیق را به پایان برسانم بر خود فرض می دانم که از رهنمودها و حمایت های بی دریغ استاد گرانمایه و محقق شکیبا، آقای دکتر سید جواد میرنجفی زاده تقدیر و تشکر نمایم.

از استاد مشاور آقای دکتر محمد جوان به خاطر مشاوره های ارزشمندشان تشکر می کنم

از اساتید دوره کارشناسی ارشد خود، آقای دکتر سعید سمنانیان، یعقوب فتح الهی، سهراب حاجی زاده، علیرضا مانی به خاطر همه آنچه را از ایشان آموختم تشکر می نمایم

همچنین افتخار همراهی با خانم مریم زراعتی، سیمین نامور، نرگس حسین مردی، فاطمه صفری، لیلا ستاریان، آقای شجاعی را ارج می نهم به خاطر همراهی همیشگیشان.

چکیده

هدف: یکی از مدل‌های آزمایشگاهی صرع لوب گیجگاهی، کیندلینگ شیمیایی توسط پنتیلن تترازول (PTZ) می‌باشد. مطالعات الکتروفیزیولوژیک قبلی آزمایشگاه ما نشان داد که در مدل تعدیل-یافته کیندلینگ شیمیایی چهار تزریق اولیه PTZ باعث به راه افتادن یک سری وقایع داخل سلولی می‌شود که با گذشت یک دوره زمان ضروری، زمینه بروز صرع را فراهم می‌کند و تزریق سه دوز زیر آستانه ای در این هنگام باعث ایجاد صرع کیندلینگ کامل خواهد شد. در مطالعه حاضر، به منظور تکمیل بررسی قبلی، مقایسه برخی از شاخص‌های مولکولی روند اکتساب کیندلینگ شیمیایی، همچون تغییرات بیان ژن‌های زیرواحد γ_2 گیرنده $GABA_A$، NR_2A گیرنده NMDA، گیرنده A_1 ، α-CaMKII و GAP-43 در ناحیه هیپوکمپ در دو مدل مرسوم و تعدیل‌یافته کیندلینگ شیمیایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از موش صحرایی نر نژاد Wistar به وزن ۲۶۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده گردید. برای انجام مدل مرسوم کیندلینگ شیمیایی دوز زیرآستانه‌ای PTZ (۳۷/۵ mg/kg) هر ۴۸ ساعت یک‌بار به صورت داخل صفاقی تزریق گردید تا حیوانات به‌طور کامل کیندل شدند. تزریقات مدل تعدیل‌یافته نیز، مطابق مدل مرسوم انجام شد با این تفاوت که تنها چهار تزریق ابتدایی و سه تزریق انتهایی PTZ بدون انجام تزریقات میانی صورت گرفت. سپس تغییرات رفتاری حیوان مشاهده و با استفاده از تکنیک RT-PCR مطالعه مولکولی تغییرات بیان ژن‌های مذکور بررسی شد.

نتایج: میانگین تعداد تزریقات لازم برایرسیدن به مرحله کیندلینگ کامل حیوانات ۱۷ تزریق بود. مقایسه کمیت‌های رفتاری و تغییرات بیان ژن‌های مذکور در طی ۱۷ تزریق در دو مدل نشان داد که میزان بیان این ژن‌ها در هر دو مدل از الگوی یکسانی پیروی می‌کند و بین این دو هیچ‌گونه تغییر معناداری وجود ندارد. آزمایش‌های ما همچنین نشان داد که چهار تزریق ابتدایی یا سه تزریق انتهایی به تنهایی نمی‌تواند تغییرات بیان ژنی همانند گروه مدل تعدیل‌یافته ایجاد نماید.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان داد که در مدل تعدیل‌یافته مورد استفاده در این تحقیق الگوی تغییرات مولکول‌های مورد بررسی، که جز مهمترین مولکول‌های دخیل در فرایند کیندلینگ شیمیایی هستند، همانند مدل مرسوم کیندلینگ شیمیایی است و بنابراین پیشنهاد می‌شود که می‌توان این مدل را به جای مدل مرسوم کیندلینگ شیمیایی مورد استفاده قرار داد.

کلید واژگان: صرع، مدل حیوانی، کیندلینگ شیمیایی، پنتیلن‌تترازول، بیان ژن، RT-PCR.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته ۱

۱-۱ مقدمه..... ۲

۱-۲ تشنج..... ۴

۱-۳ صرع..... ۴

۱-۴ مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع..... ۶

۱-۵ مدل صرعی کیندلینگ..... ۷

۱-۶ انواع کیندلینگ..... ۸

۱-۷ مکانیسم‌های صرع‌زایی توسط PTZ..... ۱۰

۱-۷-۱ اثر PTZ بر گیرنده‌ها و میانجی‌های عصبی..... ۱۰

۱-۷-۲ اثر PTZ برآنزیم‌ها، پروتیین‌های ساختاری و پروتیین‌های تنظیمی..... ۱۳

۱-۷-۳ اثر PTZ بر کانال‌ها و جریانات یونی..... ۱۶

۱-۷-۴ تاثیر یک یا چند تزریق زیرآستانه‌ای PTZ بر ویژگی‌های نورونی..... ۱۶

فصل دوم: مواد وروش‌ها..... ۱۹

۲-۱ ایجاد کیندلینگ در حیوانات..... ۲۰

۲-۲ کمیت‌های مورد اندازه‌گیری..... ۲۱

۲-۲-۱ کمیت‌های رفتاری تشنجات..... ۲۱

۲-۲-۲ مطالعات مولکولی ژن‌های A_1، γ_2گیرنده گابا A، زیرواحد NR_2A گیرنده NMDA، CaMKII -α، GAP-43..... ۲۱

۲-۲-۲-۱مواد و وسایل مورد استفاده در مطالعات مولکولی..... ۲۱

۲-۲-۲-۲ اندازه‌گیری بیان ژن‌های A_1، γ_2گیرنده گابا A، زیرواحد NR_2A گیرنده NMDA ، α-CaMKII، GAP-43 و β -actin ۲۲
۲-۲-۲-۲-۱ برداشتن هیپوکمپ ۲۲
۲-۲-۲-۲-۲ استخراج mRNA ۲۲
۲-۲-۲-۲-۳ بررسی کیفیت RNA ۲۳
۲-۲-۳ ساخت cDNA ۲۴
۲-۲-۴ واکنش PCR ۲۴
۲-۲-۲-۵ الکتروفورز نمونه‌ها ۲۶
۲-۲-۵ گروه‌های آزمایشی ۲۶
۲-۲-۶ روش تجزیه و تحلیل آماری ۲۸

فصل سوم: نتایج ۲۹

۳-۱ نتایج حاصل از بررسی کمیت‌های تشنجی ۳۰
۳-۲ نتایج مطالعات مولکولی ۳۲
۳-۲-۱نتایج بهینه سازی شرایط واکنش PCR ۳۲
۳-۲-۲ بررسی تغییرات بیان ژن‌ها در دو مدل مرسوم و تعدیل‌یافته کیندلینگ شیمیایی ۳۳
۳-۲-۲-۱ الگوی تغییرات بیان ژن γ_2 گیرنده گابا A ۳۴
۳-۲-۲-۲ الگوی تغییرات بیان ژن زیرواحد NR_2A گیرنده NMDA ۳۵
۳-۲-۲-۳ الگوی تغییرات بیان ژن گیرنده آدنوزینی A_1 ..... ۳۷
۳-۲-۲-۴ الگوی تغییرات بیان ژن α–CaMKII ۳۸
۳-۲-۲-۵ االگوی تغییرات بیان ژن GAP-43 ..... ۳۹

۳-۳ نتایج حاصل از ارزیابی کمیت‌های مولکولی در دو مدل مرسوم و تعدیل‌یافته کیندلینگ شیمیایی درمقایسه با اثرات سه تزریق انتهایی PTZ ۴۰

۳-۴ بررسی اثر چهار تزریق ابتدایی PTZ..... ۴۱

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها..... ۴۴

۴-۱ بحث ۴۵

۵-۲ نتیجه‌گیری..... ۵۷

۴-۳ پیشنهادها..... ۵۸

فهرست منابع..... ۶۰

چکیده انگلیسی..... ۶۸

فهرست جداول

جدول ۱-۱ مراحل تشنجی و مشخصات رفتاری هر مرحله طی تزریقات PTZ ۲۰

جدول۲-۱ مشخصات پرایمرهای طراحی شده برای ژنهای مورد نظر.....۲۵

جدول ۲-۲ گروه‌بندی آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه.....۲۷

جدول ۳-۱ نتایج بهینه‌سازی شرایط PCR.....۳۳

جدول۳-۲ تغییرات شاخص مولکولی بیان ژن در طی روند کیندلینگ.....۴۱

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱ پیشرفت صرع‌زایی و بروز تشنج‌های خودبه‌خودی در پدیده کیندلینگ.....۷

شکل ۲-۱. بررسی کیفیت RNA استخراج شده از هیپوکمپ..... ۲۳

شکل ۳-۱ مقایسه‌ی مرحله‌ی حمله‌ی تشنجی ۳۰

شکل ۳-۲ مقایسه‌ی میانگین مدت‌زمان سپری شده تا وقوع مرحله‌ی ۲ تشنج (الف)، میانگین مدت‌زمان سپری شده تا وقوع تشنجات عمومی (ب) و میانگین مدت زمانی که حیوان در مرحله‌ی تشنجات عمومی به سر می‌برد (ج)..... ۳۱

شکل ۳-۳ تغییرات بیان ژن γ_2 گیرنده گابا A ۳۵

شکل ۳-۴ تغییرات بیان ژن زیرواحد NR_2A گیرنده NMDA ۳۶

شکل ۳-۵ تغییرات بیان ژن گیرنده آدنوزینی A_1 .....۳۷

شکل ۳-۶ تغییرات بیان ژن CaMKII -α ۳۸

شکل ۳-۷ تغییرات بیان ژنGAP-43.....۳۹

شکل ۳-۸ مقایسه بیان ژن‌ها در گروهی با ۴ تزریق نسبت به مدل تعدیل یافته.....۴۳

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱ مقدمه

صرع شایع‌ترین اختلال عصبی بعد از سکته مغزی می‌باشد [۱،۲]. به منظور شناخت مکانیسم‌ها و عوامل دخیل در ایجاد صرع و پایداری آن، ارزیابی داروهای ضد صرع و دستیابی به روش‌های مؤثر و مناسب در درمان این بیماری، مدل‌های آزمایشگاهی مختلفی مطرح شده است [۳،۴،۵]. از بین مدل‌های تجربی صرع، از روش‌هایی استفاده می‌شود که قادر به ایجاد حمله‌های تشنجی با بیشترین شباهت به موارد بالینی باشد [۶،۷]. کیندلینگ یکی از بهترین مدل‌های صرع بوده به طوری‌که بسیاری از دانسته‌های ما راجع به عملکرد صرع، از مطالعه کیندلینگ به دست آمده است [۸،۹]. کیندلینگ شیمیایی به عنوان مدلی آزمایشگاهی برای صرع لوب گیجگاهی می‌باشد که با کاربرد مکرر مواد شیمیایی تشنج‌زا مانند پنتیلن‌تترازول (PTZ) ایجاد می‌شود [۱۰،۱۱]. در این مدل کاربرد مکرر هر ۴۸ ساعت یک‌بار دوز زیرآستانه ای PTZ، منجر به افزایش پیش‌رونده تحریک‌پذیری شده و در نهایت موجب بروز تشنج می گردد [۱۲]. شواهد اولیه‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد چند تزریق ابتدایی PTZ باعث به راه افتادن یک سری وقایع داخل سلولی می‌شود به نحوی که این وقایع، مدارهای سیستم عصبی حیوان را به سمت تشکیل مدارهای تشنجی پیش می‌برد و پس از گذشت زمان معینی، زمینه ابتلا به صرع ایجاد شده و تزریق یک یا چند دوز زیر آستانه ای PTZ در این هنگام باعث بروز تشنج خواهد شد [۱۳]. آزمایش‌های اولیه بر این شواهد صحه گذاشته و مدلی تعدیل یافته را برای کیندلینگ شیمیایی پیشنهاد می‌کند. در این مدل تعدیل‌یافته، تنها چهار تزریق ابتدایی و سه تزریق پایانی PTZ باعث بروز تشنج می‌شود. بنابراین، می‌توان این نحوه تزریق را به عنوان یک مدل تعدیل‌یافته به جای مدل مرسوم کیندلینگ شیمیایی مورد استفاده قرار داد. در مدل

مرسوم کیندلینگ شیمیایی، تغییرات زیادی در بیان ژن‌های مختلف نواحی متفاوتی از مغز، از جمله هیپوکمپ مشاهده شده است. به دنبال ایجاد کیندلینگ شیمیایی توسط PTZ میزان بیان زیرواحد $\gamma 2$ گیرنده گابا ($GABA_A$) به عنوان یکی از شاخص‌های سیستم مهاری در مغز [۱۴]، زیرواحد NR_2Aگیرنده تحریکی NMDA به عنوان یکی از شاخص‌های سیستم تحریکی مغز [۱۵]، گیرنده آدنوزین A1 به عنوان شاخصی از سیستم‌های تعدیلی مغز [۱۶]، زیر واحد α پروتئین کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین (CaMKII-α) به عنوان یک پیامبر مولکولی در اکتساب کیندلینگ PTZ [۳،۲] و میزان بیان mRNA پروتیین[1]GAP-43 به عنوان عامل شکل‌پذیری سیناپسی در هیپوکمپ [۱۷،۱۳]، دستخوش تغییراتی می‌شوند که انتظار می‌رود در مدل تعدیل‌یافته کیندلینگ شیمیایی نیز، چنین تغییراتی دربیان ژن‌های نامبرده رخ دهد. به عبارتی دیگر سؤال اصلی این تحقیق این بود که آیا در مدل تعدیل‌یافته کیندلینگ شیمیایی، تغییرات بیان ژن‌های گیرنده آدنوزینیA1، زیرواحد γ_2 گیرنده $GABA_A$، زیرواحد NR_2A گیرنده NMDA، زیرواحد α پروتیین CaMKII و ژن GAP-43 ناحیه هیپوکمپ مشابه مدل مرسوم می باشد یا خیر؟

به منظور بررسی این مسأله، موارد زیر در مطالعهٔ حاضر بررسی شدند:

الف) بررسی تغییرات کمیت‌های رفتاری تشنجات: حداکثر مرحله‌ی حمله‌ی [2] مشاهده شده مدت زمان سپری شده تا هنگام رسیدن حیوان به مرحله دوم تشنج[3] و مرحله چهار یا پنج تشنج[4]، مدت زمانی که حیوان در مرحله‌ی چهار یا پنج تشنج به سر می‌برد[5] و مقایسه آن‌ها در دو مدل.

ب) اندازه‌گیری و مقایسه بیان ژن‌های زیرواحد γ_2 گیرنده$GABA_A$، زیر واحد NR_2A گیرندهNMDA، گیرنده آدنوزینیA1، زیر واحد α پروتئین CaMKII، ژن GAP-43 درطی روند کیندلینگ در دو مدل.

---

[1]– Growth-associated protein-43

[2]– seizure stage

[3] –stage 2 latency

[4]–stage 4 or 5 latency

[5] –stage 4 or 5 duration

۲-۱ تشنج

تشنج[1] فعالیت الکتریکی غیرطبیعی، همزمان وناگهانی جمعیتی از نورون‌ها می‌باشد [۱] و ممکن است به صورت یک تغییر گذرا در رفتار تظاهر یابد [۳]. چنانچه تشنج‌ها به صورت خودبخودی، غیر قابل پیش بینی و زودگذر تظاهر یابند، صرع ایجاد می‌شود [۲].

بروز تشنج به سن، حالت رفتاری فرد (بیداری، فعالیت و خواب)، استفاده از داروهای ضدتشنجی و محلی از مغز که در آن تشنج رخ داده است بستگی دارد. به عنوان مثال، ایجاد تخلیه‌های صرعی در ناحیه حرکتی، فعالیت حرکتی ریتمیتک غیر قابل کنترل درصورت یا اندام‌های حرکتی ایجاد می‌کند [۱۸]؛ در حالی‌که فعالیت تشنجی در ناحیه حسی-پیکری موجب احساس خارش و کرختی می‌شود و فعالیت تشنجی در ناحیه پس‌سری و آهیانه خلفی پدیده‌های بینایی ایجاد می‌کند. احساس‌های بویایی و چشایی در شروع تشنج نشانه تخلیه تشنجی در لوب پیشانی جلویی است [۱۸].

۱-۳ صرع

صرع شایع‌ترین اختلال عصبی بعد از سکته مغزی می‌باشد. بیماری صرع در بچه ها و بزرگسالان به ترتیب بیشترین و کمترین شیوع را دارد و میزان شیوع آن از سن ۶۵ سالگی افزایش می‌یابد [۳]. همه پدیده‌های صرعی، واکنش‌های غیرطبیعی مغز هستند که بخش‌هایی از مغز یا تمام آن از جمله ساختارهای عمقی را درگیر می‌کنند [۱۹]. صرع نباید به صورت یک اختلال در نظر گرفته شود بلکه شامل سندرم‌ها یا نشانه‌های متنوع است که در همه آنها فعالیت الکتریکی غیر طبیعی دوره‌ای در مغز رخ می‌دهد [۳]. صرع در انسان و حیوان دارای دو ویژگی اصلی است: تحریک‌پذیری بیش از حد سلول و همزمانی در تولید وانتشار پتانسیل عمل بین سلول‌ها [۲۰]. پدیده صرع‌زایی شامل

[1] - Seizure

تغییرشکل یک ناحیه از مغز است که این حالت برای یک مدت طولانی باقی می‌ماند [۲۱]. تا کنون درمان قطعی برای صرع شناخته نشده است. داروهای ضد صرع موجود فقط در ۴۰ درصد موارد تشنج را از بین می‌برند و در بقیه موارد فقط فراوانی وقوع تشنجات را کاهش می‌دهند. اگر بتوان قبل از بروز علائم صرع در افراد از استعداد ذاتی آنها برای تشنج و صرع آگاه شد، این امر می‌تواند در جلوگیری از بروز حملات تشنجی و عوارض جانبی ناشی از آن بسیار مفید باشد [۴].

رایج‌ترین عواملی که ممکن است در ایجاد صرع مؤثر باشند کمبود اکسیژن، مننژیت باکتریایی، ضربه‌های مغزی، تومورهای مغزی، مصرف الکل، عفونت‌های مغزی، استعمال بی رویه داروها، نقایص ژنتیکی، اختلال در فعالیت نورون‌ها یا گیرنده‌ها یا کانال‌های یونی غشای این نورون‌ها می‌باشند [۲۲]. اگرچه صرع به گروهی از بیماری‌هایی که همراه با دژنراسیون نورونی‌اند تعلق ندارد، ولی شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد که اساساً تشنج‌هادر نتیجه نقص نورونی ایجاد می‌شوند [۲۳].

مدارهای موضعی فراوانی در مغز وجود دارد که با یکدیگر ارتباط‌های مهاری و یا تحریکی دارند. علاوه بر آن، مدارهای هر ناحیه از مغز از جمله هیپوکمپ ورودی‌هایی را از نواحی دیگر دریافت می‌کنند که تحریکی و یا مهاری هستند. بین این مدارهای تحریکی و مهاری تعادل نسبتاً دقیقی وجود دارد. هر عاملی که تعادل بین مدارهای تحریکی و مهاری را به نفع تحریک تغییر دهد، باعث ایجاد فعالیت صرعی می‌شود [۲۴]. متداول‌ترین نوع تشنج در بزرگسالان، از ساختمان‌های لیمبیک و لوب گیجگاهی منشأ می‌گیرد و به آن صرع لوب گیجگاهی[1]، TLE گویند [۲۵]. چند ویژگی در شیوع TLE نقش دارند که عبارتند از ارتباط با مبدأ ایجاد تشنج (معمولاً هیپوکمپ)، توانایی این تشنج‌ها برای گسترش به نواحی مجاور مغزی، اسکلروزیس هیپوکمپ، جوانه‌زنی فیبرهای خزه‌ای، و تغییراتی در سیستم‌های گلوتاماترژیک و گاباارژیک در سطح سلول [۲۶]. در انسان یکی از مهمترین کانون‌های ایجاد تشنج هیپوکمپ است. ارتباط این مرکز با نواحی دیگر را یکی از عوامل ایجاد تشنج می‌دانند.

[1]- Temporal lobe epilepsy

به علت اهمیت این ناحیه در ایجاد صرع در انسان و حیوانات آزمایشگاهی توجه اکثر محققین به آن معطوف شده است [۲۷].

۱-۴ مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع

به منظور شناخت مکانیسم‌ها و عوامل دخیل در ایجاد صرع و پایداری آن، ارزیابی داروهای ضد صرع و دستیابی به روش‌های مؤثر و مناسب در درمان این بیماری، راه‌های آزمایشگاهی مختلفی مطرح شده است [۵]. همچنین، به دلیل تعداد زیاد سندرم‌های تشنج، مدل‌های حیوانی وسیعی برای مطالعه تشنج‌ها وجود دارد. این مدل‌های حیوانی امکان مطالعه ماهیت آسیب‌های مختلف که در نتیجه گسترش صرع به وجود می‌آیند و مشاهده حوادث مختلفی که در طی فرایند صرع‌زایی در نتیجه یک آسیب رخ می‌دهند را به ما می‌دهند [۲۸].

مهمترین خصوصیات یک مدل مناسب این است که شدت تشنج حاصله به صورت کمی و کیفی قابل اندازه‌گیری و ارزیابی باشد، نوع تشنج ایجاد شده از نظر پاسخ‌گویی به عوامل فارماکولوژیک مشابه انسان باشد و حالت تشنج برای مدتی در حیوان باقی بماند تا امکان تحقیقات طولانی مدت را فراهم کند [۵]. مدل‌های آزمایشگاهی مختلفی، با مزایا و محدودیت‌های خاص، برای ایجاد صرع و تشنج وجود دارند از جمله مدل کیندلینگ.

۱-۵ مدل صرعی کیندلینگ

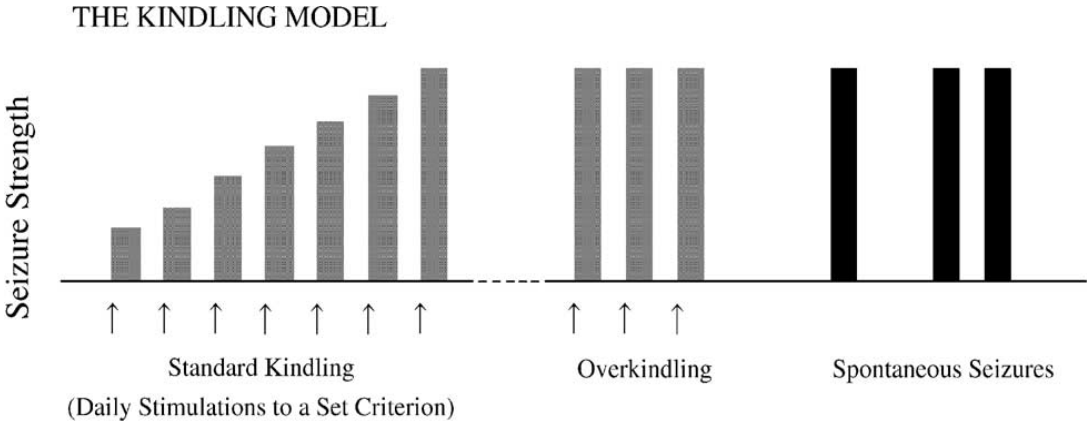
کیندلینگ یکی از بهترین مدل‌های صرع بوده به طوری‌که بسیاری از دانسته‌های ما راجع به عملکرد صرع، از مطالعه کیندلینگ به دست آمده است [۷]. اواخر دهه ۶۰ میلادی Goddard برای اولین بار وقوع پدیده کیندلینگ را گزارش کرد. او به دنبال تحریک الکتریکی آمیگدال و بررسی اثر آن روی یادگیری، به صورت تصادفی متوجه بروز رفتارهای تشنجی در حیوان شد و این پدیده را

کیندلینگ نامید [۲۹]. این مدل نه تنها مدلی برای تشنج‌زایی است بلکه به عنوان مدلی از وقایع مربوط به شکل‌پذیری نورونی می‌باشد که باعث ایجاد اختلال در فعالیت الکتریکی جمعیت‌های نورونی می‌شود [۸]. در این مدل اعمال تحریکات تشنج‌زا با فواصل زمانی منظم و با شدت زیرآستانه به مغز، به تدریج با گذشت زمان، سبب بروز رفتار تشنجی در حیوان می‌گردد [۸].

کیندلینگ در خیلی موارد ویژگی‌های مشابه تشنج های موضعی پیچیده در انسان را دارا می-باشد. به عنوان مثال الگوهای رفتاری و الکتروآنسفالوگرام در هر دو مشابه است، در هر دو مورد حساسیت مشابهی به داروهای ضدتشنجی وجود دارد. مثل صرع بعد از کامل شدن کیندلینگ حیوان دچار حملات خودبه‌خودی می‌شود و به محض این‌که کیندلینگ تثبیت شد به عنوان یک تغییر پایدار در عملکرد مغز باقی می‌ماند [۳۰].

مدل صرعی کیندلینگ، مدلی مناسب برای بررسی تغییرات سلولی که در صرع رخ می‌دهد و ارزیابی اثرات ضدصرعی احتمالی داروهای مختلف می‌باشد [۳۰]. در طی کیندلینگ، تغییراتی در مدارهای نورونی ایجاد می‌شود، مانند ارتباطات غیرطبیعی ناشی از تشنج در هیپوکمپ، که احتمالاً به شکل افزایش جوانه‌زنی در آکسونی شکنج دندانه‌دار ظاهر می‌شود [۳۱]. همچنین مدارهای تحریکی راجعه نیز در هیپوکمپ ایجاد شده که این مدارهای تحریکی درافزایش تحریک‌پذیری ناشی از کیندلینگ نقش دارند [۳۱].

کاربرد مکرر تحریک چه به صورت تحریک الکتریکی و چه به صورت تحریک با عوامل شیمیایی به طور پیشرونده‌ای پاسخ‌های تشنجی قویتر را شروع می‌کند، که اگر تحریکات متوقف شوند تشنجات خودبه‌خودی گسترش نخواهند یافت (شکل۱-۱). در صورتی که تحریکات کیندلینگ ادامه یابند تشنجات خودبه‌خودی به طور خاصی بعد از القای صدها تشنج ایجاد می‌شوند که به این پدیده Over kindling گویند. تشنجات خودبه‌خودی بعد از یک دوره خاموشی برای هفته-ها یا ماه‌ها ادامه می‌یابند که در طی این دوره خاموشی هیچ‌گونه فعالیتی دیده نشده است [۳۲].



شکل ۱-۱. پیشرفت صرع‌زایی و بروز تشنج‌های خودبه‌خودی در پدیده کیندلینگ[۳۲].

۱-۶ انواع کیندلینگ

کیندلینگ را بر اساس نوع محرک و نحوه تحریک مغز به دو نوع تقسیم می‌کنند:

الف- کیندلینگ الکتریکی: در این مدل با اعمال تحریکات الکتریکی زیرآستانه به صورت مکرر و موضعی در یکی از جایگاه‌های حساس مغز، سبب بروز تشنج‌های پیشرونده می‌گردند [۹]. کیندلینگ الکتریکی توسط شدت، مدت و فرکانس جریان الکتریکی و نقطه‌ای از مغز که جریان الکتریکی را دریافت می‌کند، قابل کنترل است. در ابتدا تحریک الکتریکی می‌تواند تخلیه‌های متعاقب موضعی صرعی‌شکل کوتاه مدت تولید کند به تدریج طول مدت تخلیه های متعاقب افرایش می یابد و به نواحی دیگر گسترش یافته و سرانجام همه مغز را درگیر می کند. پس از هر تحریک، رفتار تشنجی شدیدتر شده و سرانجام به بروز تشنج تونیک کلونیک می‌انجامد. اگر فاصله بین تحریکات کوتاهتر از ۳۰ دقیقه یا طولانی‌تر از ۷ روز باشد پدیده کیندلینگ رخ نمی‌دهد [۳۳]. زمان مورد نیاز برای فاصله بین تحریکات نشان می دهد که این مسأله یک نقش ضروری در کیندلینگ بازی می‌کند. کیندلینگ واجد مشخصات ویژه‌ای است که شروع آن با مشاهده امواج تخلیه متعاقب و پیشرفت آن با مشاهده مراحل مختلف تشنج همراه می‌باشد [۳۴].