



گروه زیست شناسی
پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری

عنوان

بررسی نقش سیستم اوپیوئیدی بر خاصیت ضد تشنجی پروژسترون در تشنج
ناشی از استریکنین در موشهای سوری

نگارش

فهیمة حسنوند

اساتید راهنما

دکتر لطف اله خواجه پور

دکتر حسین نجف زاده

استاد مشاور

دکتر مهناز کسمتی

اسفند ۱۳۸۹

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تقدیم به خدایی که داشتن او جبران همه ی نداشته های من است

می سایش چون لایق سایش است.

ببخشید

تقدیم به خانواده عزیزم

و همه کسانی که از گذشته تا کنون، مراد راه رسیدن به اهدافم یاری نموده اند.

امیدوارم دعای خیر آنان بدرقه ادامه راهم در زندگی باشد.

چکیده پایان نامه

نام خانوادگی: حسنونند	نام: فهیمه
عنوان پایان نامه: بررسی نقش سیستم اوپیوئیدی بر خاصیت ضد تشنجی پروژسترون در تشنج ناشی از استریکنین در موشهای سوری	
اساتید راهنما: دکتر لطف اله خواجه پور و دکتر حسین نجف زاده	
استاد مشاور: دکتر مهناز کسمتی	
درجه تحصیلی: کارشناسی ارشد	
رشته: زیست شناسی-علوم جانوری	
گرایش: فیزیولوژی	
محل تحصیل(دانشگاه): شهید چمران اهواز	
دانشکده: علوم	
تاریخ فارغ التحصیلی: ۱۳۸۹/۱۲/۱۸	
تعداد صفحه: ۸۷	
کلیدواژه ها: پروژسترون، سیستم اوپیوئیدی، اثر ضد تشنجی، استریکنین، موش سوری	
چکیده فارسی:	
<p>تشنج تخيله الكتریکی کنترل نشده در مغز است که به دنبال تحریک پذیری افزایش یافته در سیستم عصبی روی می دهد. پروژسترون هورمونی استروئیدی است که اثر ضد تشنجی دارد، این اثر از طریق مکانیسم های مختلفی ایجاد می شود. سیستم اوپیوئیدی از جمله سیستم های دخیل در تنظیم تحریک پذیری مغز است و تداخل اثر پروژسترون با سیستم اوپیوئیدی در برخی پدیده های فیزیولوژیک وجود دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تداخل سیستم اوپیوئیدی در اثرات ضد تشنجی پروژسترون می باشد. در این مطالعه همچنین اثر وراپامیل بعنوان مهار کننده کانال کلسیمی و پمپ p-gp موثر در انتقال دارو از سد خونی مغزی) در تشنج ناشی از استریکنین و تداخل آن با اثرات پروژسترون، مورفین و نالوکسان بررسی شده است. برای ایجاد تشنج، استریکنین با غلظت (۱mg/kg) به صورت زیر جلدی به موش های اواریکتومی شده تزریق شد و شاخص های تشنج شامل زمان شروع و زمان مرگ ناشی از تشنج بررسی گردید و بین گروه های مختلف مقایسه گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که پروژسترون (۵۰،۲۵mg/kg) و مورفین (۱،۲،۳mg/kg) در مدل تشنجی ناشی از استریکنین در موش سوری ماده دارای اثر ضد تشنجی وابسته به مقدار می باشند. نالوکسان (۱،۵،۲mg/kg) اثری بر تشنج در این مدل نداشت، در حالی که به صورت وابسته به مقدار موجب کاهش اثر ضد تشنجی پروژسترون (۵۰mg/kg) گردید. مورفین (۳mg/kg) بر اثر ضد تشنجی پروژسترون در غلظت بالا (۵۰mg/kg) تاثیری نداشت، در حالی که موجب کاهش اثر ضد تشنجی مقادیر پایین آن (۲۵mg/kg) گردید. وراپامیل (۲۰mg/kg) اثری بر تشنج ناشی از استریکنین و همچنین گروه دریافت کننده نالوکسان (۱mg/kg) نداشت ولی اثر ضد تشنجی مورفین (۳mg/kg) و پروژسترون (۵۰mg/kg) را کاهش می دهد. نتایج به دست آمده از این مطالعه پیشنهاد می کند که احتمالاً بین اثر ضد تشنجی پروژسترون و سیستم اوپیوئیدی تداخل وجود دارد، مسدود کردن کانال های کلسیمی توسط وراپامیل موجب کاهش اثر ضد تشنجی پروژسترون می گردد. بنظر می رسد که مهار پمپ p-gp توسط وراپامیل اثر ضد تشنجی مورفین را کاهش می دهد.</p>	

فهرست مطالب

مقدمه

مقدمه..... ۱

فصل اول: مروری بر منابع موجود

۱-۱ تشنج..... ۴

۱-۱-۱ علت ایجاد تشنج..... ۴

۱-۱-۲ انواع تشنج..... ۵

۱-۱-۳ مکانیسم های ایجاد حملات تشنجی..... ۶

۱-۱-۴ داروهای ضد تشنج و مکانیسم عمل ضد تشنجی این داروها..... ۷

۱-۱-۵ مناطق مغزی دخیل در تشنج..... ۷

۱-۱-۶ روش های ایجاد تشنج (مدل های حیوانی)..... ۷

الف- شوک الکتریکی..... ۸

ب- پنتیلن تترازول..... ۸

ج- کیندلینگ..... ۹

د- استریکنین..... ۹

۱-۲ استروئیدهای جنسی و تشنج..... ۱۰

۱-۲-۱ پروژسترون..... ۱۰

۱-۲-۱-۱ گیرنده های پروژسترون..... ۱۰

۱-۲-۱-۲ محل گیرنده های پروژسترون..... ۱۱

۱-۲-۱-۳ اثرات حفاظت کننده نورونی پروژسترون..... ۱۲

۱-۲-۱-۴ اثرات پروژسترون بر تشنج..... ۱۳

۳-۱ سیستم اوبیوئیدی..... ۱۷

۳-۱-۱ گیرنده های اوبیوئیدی و توزیع آنها در مغز..... ۱۸

۳-۱-۲ آگونیست ها و آنتاگونیست های سیستم اوبیوئیدی..... ۱۸

۳-۱-۳ اوبیوئیدها و تشنج..... ۱۹

۳-۱-۴ مکانیسم اثر اوبیوئیدها..... ۲۳

- ۲۵..... ۱-۳-۵ تداخل هورمون های جنسی با سیستم اویپوئیدی
- ۲۶..... ۱-۴-۴ گلیکوپروتئین پی (p-gp).....
- ۲۶..... ۱-۴-۱ ساختمان و محل p-gp.....
- ۲۷..... ۱-۴-۲ مکانیسم عمل p-gp.....
- ۳۱..... ۱-۴-۳ سوبستراهای p-gp.....
- ۲۹..... ۱-۴-۴ وراپامیل.....

فصل دوم: مواد و روشها

- ۳۳..... ۲-۱ حیوانات مورد استفاده و نحوه نگهداری
- ۳۳..... ۲-۲ مواد مورد استفاده
- ۳۴..... ۲-۳ دستگاهها و وسایل مورد استفاده
- ۳۶..... ۲-۴ روش جراحی برداشتن تخمدان
- ۳۸..... ۲-۵ آماده سازی و روش تزریق داروها
- ۳۹..... ۲-۶ گروه های مورد مطالعه
- ۴۰..... ۲-۷ روش کار اندازه گیری فعالیت گلیکوپروتئین پی
- ۴۱..... ۲-۸ آزمون تشنج در حیوانات
- ۴۱..... ۲-۸-۱ زمان شروع تشنج
- ۴۲..... ۲-۸-۲ زمان مرگ
- ۴۳..... ۲-۹ روش محاسبات آماری

فصل سوم: نتایج

- ۴۵..... ۳-۱ اثر پروژسترون بر تشنج ناشی از استریکنین
- ۴۷..... ۳-۲ اثر دخالت گیرنده های اویپوئیدی بر تشنج ناشی از استریکنین
- ۴۷..... ۳-۲-۱ اثر مورفین بر تشنج
- ۴۷..... ۳-۲-۲ اثر نالوکسان بر تشنج
- ۳-۳ اثر دخالت گیرنده های اویپوئیدی در اثر ضد تشنجی پروژسترون در تشنج ناشی از استریکنین
- ۵۰.....

- ۳-۱-۳-۳ ۵۰
- ۳-۲-۳-۳ ۵۳
- ۳-۴-۳ ۵۵
- ۳-۵-۳ ۵۵
- ۳-۶-۳ ۵۸
- ۳-۶-۱ ۵۸
- ۳-۶-۲ ۵۸
- ۳-۷ ۶۱

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

- ۴-۱ ۶۳
- ۴-۲ ۶۴
- ۴-۲-۱ ۶۴
- ۴-۲-۲ ۶۶
- ۴-۳ ۶۷
- ۴-۴ ۷۲
- ۴-۵ ۷۳
- ۴-۶ ۷۴
- ۴-۶-۱ ۷۴
- ۴-۶-۲ ۷۵

نتیجه‌گیری کلی.....	۷۶
پیشنهادات.....	۷۷
منابع.....	۷۸

فهرست تصاویر

شکل ۱-۱ اجزا سد خونی مغزی و p-gp.....	۲۶
شکل ۱-۲ ساختمان p-gp.....	۲۷
شکل ۱-۳ مکانیسم عملکرد p-gp.....	۲۸
شکل ۱-۴ مدل انتقال مواد با واسطه p-gp.....	۲۹
شکل ۱-۲ کیت سنجش فعالیت p-gp.....	۳۵
شکل ۲-۲ ترازوی دیجیتالی.....	۳۵
شکل ۳-۲ ترازوی معمولی.....	۳۵
شکل ۴-۲ محفظه شیشه‌ای.....	۳۵
شکل ۵-۲ دستگاه اسپکتروفتومتر میکروپلیت خوان.....	۳۵
شکل ۶-۲ تصاویر مربوط به برداشتن تخمدان.....	۳۷
شکل ۷-۲ اساس سنجش عملکرد گلیکوپروتئین-پی.....	۴۰
شکل ۸-۲ تشنج ناشی از استریکنین در موش سوری.....	۴۲
شکل ۹-۲ کمان پیکری و مرگ ناشی از تشنج استریکنین در موش سوری.....	۴۲
شکل ۱-۳ اثر پروژسترون بر تشنج ناشی از استریکنین.....	۴۶
شکل ۲-۳ اثر مورفین بر تشنج ناشی از استریکنین.....	۴۸
شکل ۳-۳ اثر نالوکسان بر تشنج ناشی از استریکنین.....	۴۹
شکل ۴-۳ تداخل مورفین با پروژسترون در تشنج ناشی از استریکنین.....	۵۱
شکل ۵-۳ تداخل مورفین با پروژسترون در تشنج ناشی از استریکنین.....	۵۲

- شکل ۳-۶ تداخل اثر نالوکسان با پروژسترون در تشنج ناشی از استریکنین..... ۵۴
- شکل ۳-۷ اثر وراپامیل در تشنج ناشی از استریکنین..... ۵۶
- شکل ۳-۸ تداخل وراپامیل با اثرات ضد تشنجی پروژسترون در تشنج ناشی از استریکنین..... ۵۷
- شکل ۳-۹ تداخل اثر وراپامیل با مورفین در تشنج ناشی از استریکنین..... ۵۹
- شکل ۳-۱۰ تداخل اثر وراپامیل با نالوکسان در تشنج ناشی از استریکنین..... ۶۰
- شکل ۳-۱۱ میانگین دانسیته نوری داروها در کیت p-gp..... ۶۱

مقدمه

تشنج یک رویداد نهایی اختلال عملکرد مغزی و ناشی از تخلیه ی غیرطبیعی نورونهای مغزی است که اغلب در یک منطقه شروع می شود و به سایر نقاط گسترش پیدا می کند (۲۰). این عارضه بویژه انواع تکرار شونده آن که بیماری صرع نامیده می شود، اختلال شایعی محسوب می شود (۸). هر دوره اختلال عملکرد عصبی در بیماری صرع، یک حمله تشنجی گفته می شود. تشنج های عود کننده که در این بیماری رخ می دهد ناشی از افزایش تحریک پذیری سیستم عصبی است (۹).

هورمونها در تعدیل تشنج نقش مهمی دارند (۷۹). گزارش ها نشان می دهد که هورمونهای استروئیدی شامل آندوروژنها، استروژن ها و پروژستین ها برانگیختگی مغز و آستانه تشنج را تحت تاثیر قرار می دهند (۸۷). تحقیقات بالینی در زنان و مطالعات روی حیوانات نشان داده که هورمونهای غدد جنسی اثرات زیادی روی تحریک پذیری نورونی، تشنجهای صرع دارد (۸۲). در یاخته های عصبی هورمونهای جنسی متابولیسم انرژی، حساسیت هورمونی و میانجی های عصبی را تنظیم می کنند، علاوه براین هورمونهای جنسی می توانند تحریکات نورونی را با واکنش مستقیم با غشای سلول عصبی سریعاً متعادل نمایند (۹).

پروژسترون هورمونی استروئیدی، تولید شده توسط تخمدانها، جفت، غدد آدرنال، نورونها و سلولهای گلیاست (۵۸) و بیشترین پروژستین است که از لحاظ بیولوژیکی فعال است و اعمال نورواندوکراین را در سیستم عصبی مرکزی برای هماهنگ کردن فیزیولوژی و تولیدمثل در پستانداران، تعدیل می کند (۶۴). این هورمون تحریک پذیری نورونی را تعدیل می کند (۹۵). اطلاعات زیادی در مورد اثرات پروژسترون روی سیستم عصبی به دست آمده است، نقش تنظیم کنندگی آن در آزادسازی نوروترانسمیترها، قابلیت حیات، باززایی نورونها و شکل گیری غلاف میلین نشان داده شده است و به نظر می رسد که ساخت موضعی آن در مغز، طناب نخاعی و سیستم عصبی محیطی به علت نقش مهم آن در مکانیسم های سیگنالی باشد (۷۴).

اثرات ضد تشنجی قوی پروژسترون در انسان و حیوانات به اثبات رسیده است (۹۸). این هورمون موجب افزایش آستانه ابتلا به صرع می شود (۴) و کاهش سطح گردش خونی پروژسترون در طول سیکل جنسی در زنان مبتلا به صرع می تواند موجب افزایش انتشار و شدت تشنجهای گردد (۷۴).

مطالعات حاکی از آن است که پروژسترون باعث کاهش فعالیت میانجی عصبی تحریکی گلوتامات و تقویت فعالیت نورونهای مهاری گابارژیک می شود (۹).

به نظر می رسد که سیستم اوپیوئیدی^۱ در کاهش تحریک پذیری مغز نقش دارد (۱۶). فعالیت ضدتشنجی آگونیست گیرنده های اوپیوئیدی در مطالعات حیوانی متعددی نشان داده شده است (۶۷). مورفین^۲ آگونیست گیرنده های اوپیوئیدی باعث کاهش انتشار و شدت تشنج می گردد (۹۳).

استروئیدهای جنسی و سیستم اوپیوئیدی نسبت به هم دارای واکنش متقابل هستند. استروئیدها بر میزان فعالیت و تاثیر پذیری سیستم اوپیوئیدی و اثرات این سیستم بر تشنج موثر هستند (۳۶، ۱۲). استروئیدهای جنسی همچنین بر میانجی های عصبی و دیگر عوامل دخیل در تنظیم سیستم اوپیوئیدی موثر هستند (۱۲). پروژسترون سطح اوپیوئیدهای درونزا از جمله بتاندورفین^۳ و متانکفالین^۴ را در نواحی خاصی از مغز تحت تاثیر قرار می دهد (۳۷) و همچنین پروژسترون درمانی در موشهای اواریکتومی شده^۵ موجب تغییر گیرنده μ اوپیوئیدی در ساختمانهای مغزی کنترل کننده بیماری صرع می شود (۵۲).

مشخص شده است که کلسیم نقش اساسی را در بروز تشنج ایفا می کند بنابراین آنتاگونیست های کلسیمی می توانند اثرات کلسیم را بر روی سلولهای مغز تعدیل کرده و دارای اثرات ضد صرعی باشند (۳).

گلیکوپروتئین پی- $(p-gp)$ یک فاکتور کلیدی سدخونی مغزی است که می تواند بعنوان یک پمپ دارویی عمل کرده و موجب انتقال انواع گوناگونی از داروهای چربی دوست از طریق سلول های اندوتلیال سد خونی مغزی به خارج از مغز شود و یک مکانیسم دفاعی برای محدود کردن جذب دارو و تجمع آن در CNS می باشد (۱۰). مهار $p-gp$ می تواند به منظور افزایش غلظت داروهای ضدتشنجی در بافت مغز و افزایش اثرات درمانی آنها مفید باشد (۹۱).

¹ - Opioid system

² - Morphine

³ - β - Endorphine

⁴ - Met- enkephalin

⁵ - Ovariectomized

⁶ - P-glycoprotein

فصل اول

مروزی بر منابع

۱-۱- تشنج

تشنج یک رویداد نهایی در اختلال عمل مغزی است و ناشی از تخلیه ی غیرطبیعی نورونهاست که اغلب در یک منطقه شروع می شود و به سایر نقاط مغز گسترش پیدا می کند (۲۰).

۱-۱-۱- علت ایجاد تشنج

علل تشنج متعدد بوده و بطور کلی گفته می شود که تشنج به دنبال تخلیه الکتریکی کنترل نشده در مغز رخ می دهد و معمولا علامتی مهم در بیماریهای عصبی است که می تواند ناشی از علل زیر باشد:

بیماری صرع، بیماریهای عروقی مغزی، ترومای جمجمه، تومورهای مغزی اولیه و یا متاستاتیک^۱، عفونت های سیستم عصبی مرکزی و اختلالات متابولیک، هیپوگلیسمی^۲، اختلال در تعادل کلسیم، فقدان اکسیژن مغزی، اختلال هیدراتاسیون، مصرف بعضی از داروها و یا سموم، ایجاد عفونتی که باعث بالا رفتن درجه حرارت بدن شود، عدم تعادل الکتریکی، وجود التهاب منتشر، هیستری^۳ و اختلالات دژنراتیو بافتی (۲،۸).

شایع ترین شکل تشنج انواع تکرار شونده آن است که بیماری صرع نامیده می شود. در کشورهای توسعه یافته حدود ۲-۴ درصد افراد در دوره ای از زندگی خود دچار یک حمله تشنجی می شوند که این آمار احتمالا در کشورهای در حال توسعه بیشتر است (۸). مکانیسم های مختلفی بعنوان عامل به وجود آورنده صرع های گوناگون مطرح شده است (۴۹). مصرف زیاد برخی داروها از جمله: ضدافسردگی ها، ضدسایکوزها^۴ شامل فنوتیازین^۵ ها، انسولین، بتابلوکرها^۶، متیل گزانتین^۷ ها و سمپاتومیمتیک^۸ هایی مثل آمفتامین^۹ و کوکائین^{۱۰} می تواند موجب تشنج در مصرف کنندگان گردد. نقش وراثت نیز در بروز صرع بطور کامل شناخته نشده است. اگرچه این بیماری

¹ -Metastatic

² -Hypoglysemi

³ -Hysteria

⁴ -Anti psycos

⁵ -Phenotiasin

⁶ -Beta Blockers

⁷ -Xantene

⁸ -Sympatomimetic

⁹ -Amphetamine

¹⁰ -Cocaine

مستقیماً از والدین به فرزندان منتقل نمی شود ولی درجات مختلفی از امواج مغزی غیرطبیعی در خانواده فرد مبتلا به صرع دیده می شود (۲).

۱-۱-۲- انواع تشنج

در تشنج ها در ابتدا فقط یک بخش محدود و یا تمام مغز درگیر می شوند بر این اساس تشنجات به دو گروه اصلی موضعی^۱ و عمومی^۲ تقسیم می گردند.

در تشنجات موضعی، تخلیه در یک کانون مشخص از مغز شروع می شود که می تواند بصورت ثانویه انتشار یابد (حملات عمومی ثانویه^۳)، در صورتی که در این تشنجات در هوشیاری فرد اختلالی ایجاد نگردد آن را ساده و در صورت از دست رفتن هوشیاری آن را مرکب یا کمپلکس می گویند (۴).

در تشنجات جزئی، شخص ممکن است علائمی داشته باشد و این علائم بستگی به محلی از مغز دارد که درگیر شده است مثلاً اگر قسمت پشتی مغز درگیر باشد روی بینایی و عضلات اثر می گذارد، درگیری نواحی لیمبیک یا نواحی نئوکورتیکال با احساسات غیر عادی یا حرکات وابسته به احساسات برانگیزنده همراه است. اگر فعالیت قسمت گیجگاهی مغز یا محلی در مغز که احساسات و حافظه را در برمی گیرد درگیر باشد با گریه کردن، دویدن، فریاد زدن، خندیدن، دست زدن و غیره ممکن است همراه باشد (۱).

در تشنجات عمومی تخلیه ها بطور همزمان در همه نواحی مغز آغاز می گردند (۴). حملات عمومی به انواعی تقسیم می شود. دو تا از رایج ترین حمله هایی که دیده شده، صرع کوچک (تشنج ابسانس^۴) و صرع بزرگ (تشنج تونیک-کلونیک^۵) است (۸۷). حملات صرع کوچک توام با با از دست دادن آگاهی و بدون تشنج می باشد. در حالی که صرع بزرگ با از دست دادن آگاهی و با تشنجات تونیک و کلونیک همراه است (۱).

^۱ -Partial/ focal

^۲ - Generalized

^۳ - Secondly generalized seizure

^۴ - Absence Seizures

^۵ -Tonic- Clonic

۱-۱-۳- مکانیسم های ایجاد حملات تشنجی

گفته می شود که حملات تشنجی ممکن است با مکانیسم های مختلفی در مغز بیمار ظاهر شوند. مهم ترین این مکانیسم ها عبارتند از :

الف- در دستگاه عصبی مرکزی مکانیسم هایی برای جلوگیری از تخلیه نورونی غیرطبیعی وجود دارد که از آن جمله می توان به گیرنده های گابا اشاره کرد (۲). اتصال میانجی عصبی گابا به این گیرنده ها سبب باز شدن کانال های کلری و در نتیجه هیپرپلاریزه شدن غشا و جلوگیری از ایجاد تخلیه های غیرطبیعی می گردد (۲۵). عقیده بر این است که در افراد مستعد به صرع از بین رفتن یا کاهش مکانیسم های مهارتی خصوصا مهارت پس سیناپسی به واسطه گابا آمینوبوتیریک اسید می تواند یکی از مکانیسم های ایجاد حملات تشنجی باشد.

ب- تقویت مکانیسم های تحریک سیناپسی بخصوص آنهایی که در ارتباط با گیرنده ان متیل دی اسپاراتات (NMDA) می باشند.

ج- تشدید خود به خودی تحریک ناگهانی نورونها که معمولا بعلت افزایش جریان کلسیم وابسته به ولتاژ می باشد.

انواع مختلف حمله ها ممکن است هر کدام با ترکیبی از این مکانیسم ها ایجاد شود. به نظر می رسد که در برخی از انواع صرع کانونی مزمن، مهار بین نورونی از بین رفته باشد و در برخی موارد دیگر احتمالا ارتباط تحریکی نابجا بین نورونها و یا اسکروز هیپوکامپ انسان ممکن است نقش داشته باشند. در شرایط دیگر ممکن است به علت وارد آمدن آسیب یا عوامل ژنتیکی، نورو دچار فعالیت هجومی تشدید یافته گردد. در پیدایش حملات ابسانس ممکن است، آستانه تحریک پائین نورونهای تالاموسی و جریان شدید و موقتی کلسیم نقش داشته باشد (۲). در مجموع حمله های تشنجی می توانند در اثر تحریک پذیری افزایش یافته یا مهار ناکافی در مدارهای نورونی در نواحی مختلف مغزی ظاهر گردند (۸۳).

۱-۱-۴- داروهای ضد تشنج و مکانیسم عمل ضد تشنجی این داروها

داروهای قدیمی از قبیل فنی توئین^۱ - کاربامازپین^۲، اسید والپروئیک^۳ قادرند کانال های سدیمی وابسته به ولتاژ را به نحوی بلوکه نمایند که پتانسیل های عمل منفرد چندان قادر به تحت تاثیر قرار گرفتن نباشند و تحریکات پرفرکانس مکرر را کاهش دهند. این داروها اولین نسل نامیده می شوند. باربیتورات ها^۴ و بنزودیازپین ها^۵ می توانند موجب تشدید سیستم مهاری گابا گردند. اتوسوکسماید^۶ احتمالاً جریان موقتی کلسیم را در نورونها کاهش می دهد (۲). داروهای جدیدتری نیز وجود دارند از قبیل گاباپنتین^۷ که نسل دوم خوانده می شوند، گاباپنتین سطح گابا را در مغز افزایش می دهد و غلظت گلوتامات را در مغز کاهش می دهد و تمایل بالایی برای اتصال به کانال های دریچه دار ولتاژی کلسیم دارد و اعمال آن شامل: تنظیم آنزیم سنتز کننده گابا، آنزیم گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز و آنزیم سنتز کننده گلوتامات است (۱).

۱-۱-۵ مناطق مغزی دخیل در تشنج

فعالیت تشنجی با تخلیه حمله ای در جمعیتی از نورونهای قشری که بصورت همزمان فعال می شوند مشخص می گردد. تخلیه ها اگرچه فقط از بعضی نواحی سیستم عصبی از قبیل قشر مغز، هیپوکامپ و آمیگدال آغاز می شوند، ممکن است هریک از ساختمان های سیستم عصبی مرکزی را درگیر کنند (۶). هیپوکامپ نقش مهمی را در بروز حملات تشنجی ایفا می کند (۳).

۱-۱-۶ روش های ایجاد تشنج (مدل های حیوانی)

مدل های آزمایشگاهی مختلفی برای ایجاد تشنج و صرع به وجود آمده است که از آن جمله می توان به مدل شیمیایی ایجاد صرع، مدل صرعی الکتروشوک^۸، کیندلینگ و صرع ژنتیکی اشاره کرد (۵).

^۱ -Phenytoin

^۲ -Carbamazepine

^۳ -Valproic acid

^۴ -Barbiturates

^۵ -Benzodiazepines

^۶ -Ethosuximid

^۷ -Gabapentin

^۸ -Electroconvulsive Shock Seizures

یکی از مدل های رایج ترین مورد استفاده، مدل حمله حاد است که شامل تحریک الکتریکی مغز با استفاده از تشنج زاهای شیمیایی متنوع است. در این مدل ها حملات به طور خود به خودی (خود انگیخته) اتفاق نمی افتد بلکه آنها فقط زمانی رخ می دهند که آزمایشگر از محرک های شبه صرع استفاده کند (۳۰). در آزمایشات گوناگون مواد تشنج زایی که با مکانیسم های گوناگون عمل می کنند به کار می رود (۱۳). تعدادی از مدل های صرع نیز مزمن بوده، جایی که حملات به صورت خود به خودی اتفاق می افتد (۱). روش ایجاد برخی مدل ها به صورت زیر می باشد:

الف- شوک الکتریکی^۱

این مدل شامل دو نوع آستانه^۲ و حداکثر^۳ می باشد.

مدل حداکثر شوک الکتریکی یک مدل استاندارد حیوانی برای حملات تونیک و کلونیک انسانی است. تحریک الکتریکی با شدت بالا از طریق الکترودهای کار گذاشته شده در پینه آل^۴ یا کورنه آل^۵ در مغز تحتانی عبور داده می شود که معمولاً از موش سوری^۶ یا موش بزرگ آزمایشگاهی استفاده می شود. پارامترهای متداول استاندارد شامل موج سینوسی ۶۰ هرتز برای ۰/۲ ثانیه در ۵۰ میلی آمپر در موش سوری یا ۱۵۰ میلی آمپر در موش بزرگ آزمایشگاهی می باشد. حملات با یک دوره کوتاهی از انحنای تونیک شروع می شود سپس کشش های تونیک اندام های جلویی و عقبی ادامه می یابد.

الکتروشوک با شدت کمتر برای حالت های مشابه به کار برده می شود و برای ایجاد حمله (منحصرأ کلونیک) استفاده می شود این حملات زیر حداکثر^۷ (آستانه) نامیده می شوند (۸۷).

ب- پنتیلن تترازول (PTZ)^۸

این مدل شامل دو نوع آستانه و حداکثر می باشد.

^۱ -Electroconvulsive shock

^۲ -Threshold

^۳ -Maximal

^۴ -Pineal

^۵ -Corneal

^۶ - mice

^۷ -sub maximal

^۸ -Pentilentetrazol (PTZ)

پنتیلین تترازول (با نام های PTZ و مترازول)^۱ که یک ماده تشنج زای شیمیایی است، آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده گابا-A می باشد. در مدل حداکثر تزریق زیر پوستی مقدار بالایی از پنتیلین تترازول (۸۵mg/kg) در موش بزرگ آزمایشگاهی ایجاد انقباض تونیک در اندام های جلویی و عقبی و نیز انبساط و انقباض در این حیوانات می گردد. تزریق زیر پوستی مقدار کمتر پنتیلین تترازول (۷۰mg/kg) حملات کلونیک ایجاد می کند که مدل آستانه نامیده می شود. با توجه به جنس، ماده ها آستانه حمله بالاتری نسبت به نرها دارند (۸۷).

ج- کیندلینگ

یکی از مدل های آزمایشگاهی مختلفی که برای مطالعه صرع استفاده می شود کیندلینگ است که با تحریک مکرر یک ناحیه مغزی به وسیله ی محرکی الکتریکی و یا شیمیایی، که در ابتدا قادر به ایجاد تشنج نیست، در حیوان تشنج ایجاد می کنند (۳). در مدل کیندلینگ الکتریکی یک الکتروود به طور دائمی در مغز حیوان کار گذاشته می شود سپس حیوان روزانه در معرض میزان اندکی از تحریکات الکتریکی قرار می گیرد. در ابتدا فقط یک حمله موضعی اتفاق می افتد، با ادامه تحریکات فعالیت حمله به دیگر مناطق پخش و توسط الکتروانسفالوگراف^۲ ثبت می شود. سپس ساختارهای حرکتی را درگیر نموده و تشنجات اتفاق می افتد (۱).

د- استریکنین^۳

استریکنین یک ماده بی رنگ، بی بو و تلخ مزه است که در هوای آزاد به پودر تبدیل می شود، این ماده در ایجاد تشنج در حیوانات آزمایشگاهی کاربرد دارد. استریکنین با خاصیت الکلونیدی در دانه های درخت/استریکنوس نوکس ومیکا^۴ یافت می شود و موجب افزایش سطح تحریکات نورونی نورونی از طریق ایجاد اثرات آنتاگونیستی روی گیرنده گلیسین می گردد (۶۲). گلیسین یک ترانسمیتر مهمی در CNS است (۸۵). استریکنین با مهار پیش سیناپسی توسط گلیسین خصوصا در شاخ قدامی نخاع، ساقه مغز و مراکز بالاتر تداخل می کند و از بین رفتن مهار پیش سیناپسی منجر به فعالیت بیش از حد نورونها و تشنج می گردد (۶۲). در مدل آزمایشگاهی این

^۱ -Metrazol

^۲ -Electroencephalograph

^۳ -Strychnine

^۴ -*Strychnos Nux-Vomica*

ترکیب تشنج عمومی ایجاد می شود، شروع تشنج با تظاهرات اولیه همچون لرزش است و در مراحل بعدی با علائم تشنجات تونیک-کلونیک به شکل کشیدن پاها و شکم به زمین، همراه است (۱۳).

۱-۲- استروئیدهای جنسی و تشنج

هورمون های جنسی می توانند با تاثیر بر فعالیت نواحی مختلف مغزی و میانجی های عصبی مختلف و همچنین فعالیت سلولهای گلیال اثرات گسترده ای بر فعالیت مغز داشته باشند (۱۲). شناخته شده ترین هورمون های استروئیدی، پروژسترون و استروژن اند که اصولاً از تخمدان های جنس ماده ترشح می شوند، این هورمونها در جنس نر هم یافت می شوند. هورمون های استروئیدی جنسی که به صورت محیطی ساخته و آزاد می شوند، چون قدرت نفوذ بالایی دارند به راحتی از سد خونی مغزی عبور کرده و وارد مغز می شوند و بر پدیده تشنج موثر می باشند (۸۷). مطالعه بر روی نقش این هورمونها بر حملات تشنجی و صرع بخش زیادی از تحقیقات را به خود اختصاص داده است (۱).

۱-۲-۱- پروژسترون

پروژسترون یک استروئید ۲۱ کربنه با ساختمان سیکلوپنتانوپرهایدروفنانترین می باشد و یکی از فعالترین پروژستین های تولید شده در تخمدان است (۶۳). پروژسترون از پرگنولون مشتق می شود که خود از کلسترول ساخته می شود، سپس پروژسترون خود به الوپرگنولون متابولیزه می شود. در سیستم محیطی گنادها استروئیدهای جنسی را سنتز می کنند و کاتابولیسم در کبد اتفاق می افتد. در مغز هر دوی سلول های گلیا و نورونها در سنتز استروئیدها شرکت می کنند. مسیر سنتز و متابولیسم پروژسترون در بدن و مغز یکسان است (۸۷). پروژستین ها ترکیباتی سنتتیک هستند که پروژسترون را تقلید می کنند مانند مدروکسی پروژسترون استات و گاناکسولون (۱).

۱-۱-۲-۱- گیرنده های پروژسترون

اکثر گیرنده های پروژسترونی^۱ (PR) از نوع کلاسیک (داخل سلولی) اند که فاکتور نسخه برداری هسته ای اند و به دو فرم A و B وجود دارند (۸۷). این گیرنده ها اولین بار در سال ۱۹۷۰

^۱ -Progesterone Receptor (PR)

شناسایی شدند (۱۷). هر دو نوع گیرنده (PR-A) و (PR-B) توسط یک ژن مشابه ساخته می شوند (۶۸، ۷۵، ۱۷، ۶۸) و در هسته و سیتوزول یافت می شوند (۶۸).

گیرنده های پروژسترونی سطح سلولی هم کشف شده اند که از گیرنده های پروژسترونی داخل سلولی متمایزند و درگیر بودن این گیرنده ها در اثرات پروژسترون نیز مطرح شده است. این جایگاههای اتصال غشایی پروژسترون که اخیراً کلون شده اند ویژگی گیرنده های جفت شده با پروتئین-G را نشان می دهند (۶۸). پیش بینی شده که این گیرنده ها ۷ جزء داخل غشایی (7TMPR)¹ دارند (۱۷) و با پروتئین های G (Gi/0) جفت شده اند (۶۸) و وقتی با پروژستین ها باند می شوند موجب مهار آدنیلات سیکلاز (آنزیمی که محصول پیامبرهای ثانویه داخل سلولی cAMP را کاتابولیزه می کند) می شوند. سه ایزوفورم از 7TMPR شناسایی شده است: نوع $7TMPR_{\alpha}$ و $7TMPR_{\beta}$ و $7TMPR_{\gamma}$. نوع α در انسان، خوک و موش وجود دارد و توسط ۱۰۳۸-۱۰۵۳ نوکلئوتید کد می شود که ۳۴۶-۳۵۰ اسید آمینه را کد می کنند. نوع β در پستانداران وجود داشته، ۱۰۶۴-۱۰۶۵ نوکلئوتیدی بوده و ۳۵۲-۳۵۴ اسید آمینه را کد می کند. نوع γ مقداری کوتاهتر و حدود ۳۳۰ آمینواسیدی است (۱۷). اطلاعات کمی راجع به عمل این نوع گیرنده ها وجود دارد و برخی اثرات سریع پروژسترون به این نوع گیرنده ها نسبت داده شده است (۸۷).

۱-۲-۱-۲- محل گیرنده های پروژسترون

اگرچه گیرنده های پروژسترون به میزان بالا در هیپوتالاموس که در تنظیم عملکرد جنسی دخالت دارند بیان می گردند (۷۵)، گیرنده های پروژسترونی نوع A و B الگوی توزیع معینی فراتر از نواحی با عملکرد جنسی در مغز دارند، آنها همچنین در نئوکورتکس، آمیگدال، هیپوکامپ، قشر مغز، هیپوتالاموس، نورون های نورآدرنرژیک در ساقه مغز، در مخچه (۱۷) نیز یافت می شوند و همچنین در لایه های دو و چهار ایزوکورتکس و هسته های قشری آمیگدال میزان بالایی از گیرنده های پروژسترونی بیان می شود (۸۷). در برخی مطالعات نیز ذکر شده که این گیرنده ها بطور وسیعی در مغز پراکنده شده اند و آنها را در هر نوع سلول عصبی می توان یافت (۱۷). نواحی فوق

¹ -7-Trans membrane Progesterone Receptor