فصل اول

مقدمه و مروری بر منابع

۱-۱مقدمه

صرع بعد از سکته های مغزی شایعترین اختلال عصبی است. تشنج[1] بـه تغییـر گـذرای فعالیـت سیستم عصبی به دلیل تخلیه ریتمیک وهمزمان تعدادی از نورون ها گفته می شود [۱]. اگر این تشنج ها تکرار شوند، بیماری صرع نامیده می شود. شـناخت مکانیـسم هـای ایجـاد صـرع از دیـر بـاز یکـی از موضوعات مورد تحقیق بشر بوده است و علیرغم تحقیقات گسترده در این زمینه، هنوز مکانیسم اصـلی ایجاد این اختلال ناشناخته است [۱]. با توجه به اینکـه در ٤٠ درصـد مـوارد بیمـاران صـرعی بـه دارو درمانی مقاوم می‌باشند، تحقیقات زیادی برای دستیابی به شیوه‌های جدید درمان صرع در حـال بررسـی است. شایع ترین صرع بالغین، صرع لوب گیجگاهی[2] می باشد. در بیشتر بیماران مبـتلا بـه صـرع لـوب گیجگاهی، ساختارهای لوب گیجگاهی میانی از جمله تشکیلات هیپوکمپ ناحیه تولید کننـده تـشنجات می‌باشد[۲ ، ۳].

در انسان تشنج عمدتاً از هیپوکمپ و نـواحی مجـاور آن در لـوب گیجگـاهی منـشأ مـی گیـرد. تمایـل هیپوکمپ به شروع تشنج به دلیل توانایی آن در ایجاد تقویت سیناپسی طولانی مدت[3] می باشد. وجـود یک مدار داخلی یک طرفه تحریکی و معدود بودن نورون‌های مهاری در هیپوکمپ، این ناحیه را مستعد تولید فعالیت تشنجی کرده است [٤]. از روشهای درمـانی جدیـد در درمـان صـرع تحریـک الکتریکـی مستقیم کانون صرعی است [٥]. در سال Weiss،۱۹۹٥ و همکارانش گزارش کردند که تحریک الکتریکی با فرکانس ۱ هرتز به مدت ۱٥ دقیقه بلافاصله پس از تحریک کیندلینگ باعث بـه تعویـق افتـادن رونـد کیندلینگ می شود. این اثر همراه با افزایش در آستانه تشنج و تخلیه های متعاقب بود [٦]. تحریک

[1] seizure
[2] Temporal lobe epilepsy
[3] Long term potentiation

LFS مشابه آنچه که LTD ایجاد می کند اثرات محافظتی دراز مدتی در مقابل صرع دارد و باعث افزایش آستانه تخلیه متعاقب در کیندلینگ هیپوکمپ و آمیگدال می شود [۷]. همچنین تحریک الکتریکی هیپوکمپ و یا مسیر پرفورنت با فرکانس های ۱ یا ۵۰ هرتز باعث کاهش وقایع بین حمله ای شده است که ۳۰ تا ٦۰ دقیقه دوام اثر داشت ولی اثری روی میزان تشنج های خود به خودی نداشت [۸]. مطالعه دیگری نشان می‌دهد که تحریکات LFS با فرکانس HZ ۳-۰/۹ اثر مهاری بر فعالیت صرعی دارد و اثراتی طولانی مدت (هفته ها و ماه‌ها) در بالا بردن آستانه تشنج دارد [۹]. اعمال LFS در ناحیه Shaffer collaterals نیز باعث مهار فعالیت‌های شبه تشنجی در برش‌های زنده هیپوکمپی شده است [۱۰]. از آنجایی‌که LFS باعث کاهش دامنه اسپایک می‌شود بنابراین به نظر می‌رسد که فعالیت سیناپسی را دستخوش تغییر کند. مشاهده شده است که تغییر فعالیت سیناپسی در جهت تضعیف می باشد [۱۱].

در هیپوکمپ اعمال LFS می‌تواند منجر به ایجاد LTD شود و تقویت سیناپسی ایجاد شده به شکل LTP در ناحیه هیپوکمپ نیز توسط LFS زدوده می‌شود، پدیده‌ای که به آن تضعیف پس از تقویت[1] می‌گویند با توجه به تشابه بین کیندلینگ وLTP احتمال داده می‌شود که مکانیسم اثر ضد تشنجیLFS در مدل کیندلینگ مشابه با مکانیسم‌های دخیل در LTD و یا تضعیف پس از تقویت باشد [٦].

مطالعات نشان می دهد که در حین تحریک ناحیه CA1 هیپوکمپ مقدار زیادی ATP و مشتقات آدنوزین از انتهای پیش سیناپس به فضای سیناپس رها می‌شود که این رهایش وابسته به فرکانس است. به دنبال اعمال LFS رهایش آدنوزین زیاد می‌شود. آدنوزین رها شده ممکن است مسئول مهارLTP باشد [12]. در مطالعات قبلی نشان داده شده است LFS از طریق گیرنده های A_1 اثر مهاری بر روند کیندلینگ دارد و میزان بیان ژن گیرنده های A_1 نیز به دنبال اعمال LFS در کیندلینگ افزایش می‌یابد [۱۳، ١٤].

میزان آدنوزین در زمانی که نیاز متابولیک زیاد است، مثل شرایطی که تشنج وجود دارد افزایش می یابد [۱۵].

[1] Depotentiation

آدنوزین نقش مهمی را در تحریک پذیری نورونی دارد. در حین تحریک هیپوکمپ مقدار زیادی ATP ومشتقات آدنوزینی به صورت وابسته به فرکانس از انتهای نورون پیش‌سیناپسی به شکاف سیناپسی رها می‌شود [۱۵]. در مطالعات قبلی نشان داده شده LFS از طریق گیرنده هایA_1 اثر مهاری بر کیندلینگ دارد و میزان بیان ژن گیرنده هایA_1 را افزایش می‌دهد [۱۳، ١٤]. در مطالعهFujii وهمکاران در سال ۱۹۹۷نشان داده شده است که آنتاگونیست گیرنده A_1 مانع از ایجاد تضعیف پس از تقویت می شود و شیب EPSP تجمعی و میزان دامنه اسپایک های تجمعی را کاهش می‌دهد [١٦]. مطالعه Sekino وهمکاران در سال ۱۹۹۱ نشان داد که آگونیست گیرنده های A_1 جلوی القای LTP را می گیرد اما فعالیت گیرنده‌های A_2 ایجاد LTP را تسهیل می‌کند، و بر دامنه اسپایک‌های تجمعی اثری ندارند [۱۷]. در مطالعه Fujii درسال ۱۹۹۹نشان داده‌شده‌است که آگونیست گیرنده هایA_1 در حین LFS باعث تسهیل تضعیف پس از تقویت می‌شود اما گیرنده های A_2 بر آن اثری ندارد [۱۸].

با توجه به نقش A_1 در اثرات ضد تشنجیLFS، تقویت مکانیسم‌هایی که باعث افزایش غلظت خارج سلولی آدنوزین شود می‌تواند اثرات LFS را تقویت نموده و مهار مکانیسم هایی که باعث کاهش غلظت خارج سلولی آدنوزین می شوند می‌توانند باعث تضعیف اثرات LFS شوند.

۱-۲ صرع

صرع بعد از سکته های مغزی شایعترین اختلال عصبی است [۱۹]. شناخت مکانیسم های ایجاد صرع از دیر باز یکی از موضوعات مورد تحقیق بشر بوده است و علی رغم تحقیقات گسترده در این زمینه، هنوز مکانیسم اصلی ایجاد این اختلال ناشناخته است [۲]. احتمالاً جالینوس (۱۷۵ سال پس از میلاد) اولین کسی بود که صرع را طبقه بندی کرد. وی سه نوع صرع را تعریف کرد:

۱.صرعی که در نتیجهٔ یک بیماری ایدیوپاتیک مغزی است.

۲.صرعی که در اثر درگیری سمپاتیکی مغز رخ می دهد.

۳.صرعی که تحت تأثیر بیماری که منشأ آن در خارج از مغز است رخ می دهد [۲۰].

مجمع بین المللی مبارزه با صرع[1] در سال ۱۹۸۱ تشنجهای صرعی را به دو دسته کلی تقسیم کرد: موضعی[2] و عمومی[3] [۲]. صرع موضعی در دسته کوچکی ازنورونها که در کانون تشنج قرار دارند شروع می شود [۲۱]. این نوع صرع ٦۰ درصد موارد را در بر می گیرد [۲۲]. صرع موضعی می تواند بنا بر تغییراتی که در هوشیاری ایجاد می کند به دو نوع ساده و پیچیده تقسیم شود که در نوع ساده فرد هوشیار است ودر نوع دوم فرد هوشیاری خود را از دست می دهد. اگر صرع موضعی ادامه پیدا کند می تواند به صرع عمومی تبدیل شود که در این صورت عمومی ثانویه نامیده می شود. صرع عمومی نیز به دو دسته همراه با حرکات تشنجی[4] و بدون حرکات تشنجی[5] تقسیم می شود. در حالت اول فرد در حین حمله اختلالات حرکتی دارد و در حالت دوم فاقد اختلال حرکتی است [۲۱].

در واقع، شایع ترین صرع بالغین، صرع لوب گیجگاهی می باشد. در بیشتر بیماران مبتلا به صرع لوب گیجگاهی، ساختارهای لوب گیجگاهی میانی از جمله تشکیلات هیپوکمپ ناحیه تولید کننده تشنجات می باشد [۲۱].

علی رغم تحقیقات بسیار زیادی که انجام شده هنوز مکانیسم ایجاد صرع به درستی شناخته نشده است. حملات صرعی در نتیجه تخلیه بیش از حد گروهی از نورون های تحریک پذیر رخ می-دهند. مطالعات انجام شده نشان می دهند که عوامل درون سلولی و خارج سلولی (مربوط به الکترولیت ها و عوامل خارجی) باعث تحریک پذیری زیاد و فعالیت همزمان نورون های مغز شده و باعث ایجاد شیفت دپولاریزه کننده حمله ای[6] می گردند. PDS یک موج دپولاریزه کننده بزرگ(۲۰-٤۰mv) و طولانی مدت است که به دنبال آن یک مرحله هیپرپولاریزاسیون وجود دارد. مرحله دپولاریزاسیون به دلیل فعال شدن کانال های NMDA, non NMDA و کانال های کلسیمی حساس به ولتاژ رخ می دهد و مرحله هیپرپولاریزاسیون به واسطه فعال شدن کانال های پتاسیمی حساس به ولتاژ و حساس به کلسیم و نیز کانال های کلری GABA ایجاد می شود. نقص عملکرد سلول های گلیا باعث افزایش غلظت پتاسیم در مایع بین سلولی شده و می تواند منجر به بروزPDS شود [۲۳]. مهمترین نشانه

[1] International league against epilepsy
[2] Partial
[3] Generalize
[4] convulsive
[5] non-convulsive
[6] Proximal depolarizing shift ;PDS

الکتروفیزیولوژیک وجود صرع، ثبت اسپایک های غیر طبیعی درEEG است. اگـر ایـن اسـپایک هـا در زمان وقوع حملات صرع ثبت شوند به آنها اسپایک های حمله ای[1] و اگر در بین مراحل حمـلات بـین صرعی ثبت شوند به آنها اسپایک های بین حمله ای[2] گفته می شود. اسپایک های حمله ای همیـشه بـا بروز رفتار تشنجی همراه هستند ولی اسپایک هـای بـین حملـه ای رفتـار تـشنجی ایجـاد نمـی کننـد. فرایندPDS زمینه ساز اسپایک حمله ی است. منشأ اسپایک های حمله ای حذف مهار پیرامونی، افزایش فرکانسEPSP، القای میدان الکتریکی، فعالیت گیرنده های NMDA و کـاهش فعالیـت سیـستم GABA باشد [۲٤].

حساسیت بخش های مختلف لوب گیجگاهی به صرع متفاوت است. آمیگـدال و هیپوکمـپ در لوب گیجگاهی دو کانون اصلی در صرع می‌باشند و در۲۵٪ افراد مصروع کـانون صـرع در هیپوکمـپ، ۱۰٪در آمیگدال و٦٥٪ در هر دوناحیه می‌باشد [۲۵].

۱-۳ تشکیلات هیپوکمپ

تشکیلات هیپوکمـپ شـامل سـه بخـش اسـت: شـکنج پاراهیپوکمـپ[3] ، شـکنج دندانـه دار[4] و هیپوکمپ[5]. بخش قشری شکنج پاراهیپوکمپ بـه دلیـل قـرار گـرفتن در شـیار ناحیـه بویـایی[6] ، قـشر انتورینال[7] نامیده می شود. قشر انتورینال مانند سایر نواحی قشرِ نو مغز ساختمانی ٦ لایه ای دارد [۳].

هیپوکمپ یک ساختار طویل به شکل C است. به دلیل شباهت آن با اسب ماهی به این اسـم خوانده می شود. همچنین به دلیل شباهت ظاهری وسه بعدی به شاخ یکی از خدایان افـسانه ای مـصر باستان که Ammon نام داشت به آن شاخ آمون می گویند. سـطح هیپوکمـپ مـوش صـحرایی ۱/۲ cm^2 است [۲٦].

[1] Ictal discharge
[2] Interctal discharge
[3] Parahippocampal gyrus
[4] Dentate gyrus
[5] Hippocampus
[6] Rhinal
[7] Entorhinal cortex

هیپوکمپ در ادامه انحنای خود شکنج دندانه دار را می سازد. علت این نامگذاری به دلیل سطح دندانه دار آن می باشد. ژیروس دندانه دار هم سه لایه ای است، ولی به جای سلول های هرمی، سلول های کوچک دانه دار[1] جایگزین شده است [۳].

۱-۳-۱ شکنج دندانه دار

این شکنج از سه لایه تشکیل شده است:

۱- لایه سطحی یا لایه بدون ملکول

۲- لایه سلولی یا لایه گرانولی که به اندازه ٤-۸ سلول ضخامت دارد

۳- لایه پلی مورفیک، اکسون های این سلول ها به سطح فرستاده می شود. سلول های خزه ای که در لایه ۳ قرار دارند تنها خروجی شکنج دندانه دار را تشکیل می دهند.

شاخه های جانبی سلول های گرانولی سلول های خزه ای را تحریک می کنند، اکسون های سلول های خزهای نیز در لایه سطحی دندریت های سلول های گرانولی را تحریک می کنند (مدارتشنجی). اینترنورون های سبدی سلول های خزه‌ای و گرانولی را تحریک می‌کند که خود این ها توسط ورودی های خارجی تحریک می شوند [۲۷].

۱-۳-۲ ارتباطات درونی در تشکیلات هیپوکمپ

فیبرهای عصبی ورودی اصلی به تشکیلات هیپوکمپ به نام مسیر پرفورنت[2] می باشد. مسیر پرفورنت از دو مسیر جانبی و میانی وارد تشکیلات هیپوکمپ می شود. مسیر پرفورانت جانبی از لایه ۲ قشر انتورینال به سلول های دانه دار در شکنج دندانه دار ختم می شود و مسیر پرفورانت میانی از لایه ۳ قشر انتورینال مستقیماً به سلول های هرمی CA1 و سابیکولوم ختم می شود(۵). این ورودی ها عمدتاً به اینترنورون های مهاری در تشکیلات هیپوکمپ می رسند. بنابراین تحریک پذیری سلولهای شکنج دندانه دار را تعدیل می‌کنند [۲۸].

[1] Granular
[2] Perforant path

آکسون های سلول های گرانولی یعنی فیبرهای خزه ای[1] با سلول های هرمی CA3 سیناپس می دهند. آکسون های سلول های هرمی CA3 دو شاخه می شود. یکی وارد Alveus شده و از طریق فیمبریا مهمترین مسیر خروجی هیپوکمپ را تشکیل می دهد و شاخه دیگر آن با نام

شاخه جانبی شافر با سلول های هرمی درCA1 سیناپس می دهند. CA1 ورودیهای زیادی به سابیکولوم دارد که از آنجا به لایه های ۵ و ٦ قشر انتورینال ختم می شود [۳ ، ۲۹و۳۰].

۱-۳-۳ نقش هیپوکمپ در فرایند تشنج

تشنج معمولا از هیپوکمپ و نواحی مجاور آن در لوب تمپورال منشأ می گیرد. تمایل هیپوکمپ به شروع تشنج به دلیل توانایی آن در ایجاد تقویت سیناپسی طولانی مدت می باشد. وجود یک مدار داخلی یک طرفه تحریکی و معدود بودن نورون های مهاری در هیپوکمپ، این ناحیه را مستعد تولید فعالیت تشنجی کرده است [۳]. ورودی قشر انتورینال به شکنج دندانه دار و سپس به CA3 و از آنجا به CA1 می رود و مجدداً از CA1 به قشر انتورینال باز می گردد. این حلقهٔ ارتباطی یکی از مسیرهایی است که می تواند باعث ایجاد تشنج و یا تقویت آن گردد. از طرف دیگر در اثر تضعیف پیام‌های تحریکی سلولهای خزه ای روی سلولهای سبدی (که پیامهای مهاری را در هیپوکمپ ایجاد می کنند)، اثر مهاری آن روی سلولهای گرانولی کاهش می یابد و سلولهای گرانولی می توانند فعالیت افزایش یافته ای را داشته و زمینه ایجاد صرع را فراهم کنند [۳۱ ، ۳۲].

بنا بر شواهد زیر تشکیلات هیپوکمپ در صرع لوب گیجگاهی نقش دارند:

۱) امواج غیر طبیعی الکتروگرافیگ را می توان از تشکیلات هیپوکمپ ثبت نمود.

۲) جراحی آمیگدال و هیپوکمپ با کاهش و یا از بین رفتن صرع همراه بوده است.

۳) در بیماران دارای صرع لوب گیجگاهی تشکیلات هیپوکمپ الگوی کلیشه‌ای و اختصاصی از آسیب های نوروپاتولوژی را نشان می دهند [۳۳].

[1] Mossy fibers

برای مطالعه پاتوفیزیولوژی صرع و شناخت نواحی مختلف مغز از جمله تشکیلات هیپوکمپ در ایجاد آن از مدل های آزمایشگاهی مختلفی در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می شود که یکی از رایج ترین آنها مدل صرعی کیندلینگ می باشد.

۱-٤ کیندلینگ

کیندلینگ مدلی برای ایجاد تشنج می باشد و به پدیده ای اشاره می کند که در طی آن تحریکات مکرر زیر آستانه ای می تواند واقعه پیش رونده ای را ایجاد کند که در نهایت به صرع [۳٤] عمومی تبدیل می شود. واژه کیندلینگ به دلیل مفهوم این کلمه که «جرقه زدن» است، در سال ۱۹٦۹ توسط Goddard بر این مدل نهاده شد. هر چند در سال ۱۹٦۱ Delago و Sevillano دیدند که استفادهٔ مکرر از جریان الکتریکی در هیپوکمپ موجب تقویت حملات القا شده می گردد اما مطالعات این افراد توسط Graham Goddard در سال ۱۹٦۰ پایه گذاری شده بود [۳٤-۳٦].

در حین فرایند کیندلینگ تخلیه های تحریک الکتریکی از موضع تحریک به نواحی دیگر در مغز منتشر شده و فعالیت آن نواحی را به گونه ای تغییر می دهند که علایم حرکتی تشنج به وجود می آیند. این پاسخ ها به تدریج عمومی و فراگیر می شوند [۳۷]. کیندلینگ نسبت به سایر مدلهای تشنج از مزایای خاصی برخورداراست: ۱- مناطق مختلف مغزی را می توان بطور دقیق تحریک کرد. ۲- روند ایجاد صرع[1] قابل مشاهده است. ۳- الگوهای تولید و انتشار تشنج قابل کنترل است. ٤- دوره های بین، حین و پس از حمله قابل دستکاری است [۳۸].

بر اساس عامل تحریک، کیندلینگ بر دو نوع است: الف- شیمیایی که با تزریق مکرر مواد شیمیایی تشنج زا (از قبیل Carbachol، Bicuculine و Penthylentetrazol) ایجاد می گردد [۳۹]، ب- الکتریکی که درآن از جریان الکتریکی به عنوان محرک استفاده می شود. کیندلینگ الکتریکی معمولا به دو روش آهسته و سریع انجام می گیرد. در روش آهسته مدت زمان هر بار تحریک معمولاً ۲ ثانیه بوده و روزانه یک بار کانون تشنج تحریک داده می شود. در روش سریع تعداد تحریکها در یک روز بیشتر

[1] Epileptogenesis

از یک بار بوده و مدت زمان هر بار تحریک نیز بیشتر از ۲ ثانیه (۵ ثانیه) است. یک اصل مهم در کیندلینگ این است که تحریک الکتریکی باید قادر به ایجاد تخلیه های متعاقب[1] در EEG باشد [٤٠]. تخلیه متعاقب یک پاسخ الکتروانسفالوگرافیک به تشنج است که ناشی از فعالیت جمعی از نورون ها می باشد، که دامنه اسپایک ها در آن حداقل ۱۰۰ میکروولت و فرکانس آنها حداقل ۱ اسپایک در ثانیه است [٤١]. حداقل شدت تحریک که قادر به ایجاد تخلیه های متعاقب به مدت ٤ تا ۵ ثانیه باشد آستانه تخلیه متعاقب[2]نامیده می شود. با ادامه تحریکات الکتریکی در فواصل منظم، به تدریج زمان و دامنه امواج تخلیه متعاقب افزایش می یابد و علایم رفتاری تشنج ظاهر می گردد. بر اساس مطالعات Racine، مراحل تشنج در روند کیندلینگ به صورت زیر تقسیم بندی می شوند: ۱- مرحله یک، انقباضات عضلانی در صورت[3] ۲- مرحله دوم، حرکت دادن سر به طرف بالا و پایین[4] ۳- مرحله سوم، کلونوس اندام جلویی[5] ٤- مرحله چهارم، ایستادن روی هر دو پا[6] توأم با کلونوس اندام جلویی و ۵- مرحله پنجم، ایستادن روی هر دو پا همراه با از دست دادن تعادل و افتادن[7] [٤٢].

مکانیسم های متنوعی را در ایجاد کیندلینگ دخیل می دانند که برخی از آنهاکه براساس مطالعات نوروآناتومی، نوروفارماکولوژی، بیوشیمی، الکتروفیزیولوژی و بیولوژی سلولی- مولکولی بدست آمده است شامل: افزایش فعالیت گیرنده های گلوتاماتی، تقویت سیناپسی مشابه LTP، افزایش ترشح گلوتامات (مهمترین نوروترانسمیتر تحریکی مغز) از نورون پیش سیناپسی، کاهش برداشت گلوتامات از فضای سیناپسی، ایجاد نورون های جدید[8] جوانه زدن فیبرهای خزه ای[9]، افزایش بیان ژنی فاکتورهای نوروتروفیک[10] واز بین رفتن اجتماعات نورونی ویژه و ایجاد ارتباطات سیناپسی جدید که سبب تحریک مداوم مسیرهای تحریکی می‌شود، دیده شده است [۳۸].

[1] Afterdischarge; AD
[2] Afterdischarge Threshold
[3] Facial clonus
[4] Head Nodding
[5] Forelimb clonus
[6] Rearing
[7] Rearing & Falling
[8] Neurogenesis
[9] Mossy fiber sprouting
[10] Neurotrophic factors

۱-٤ -۱ رابطه بین کیندلینگ و صرع در انسان

کیندلینگ در بسیاری از ویژگیها مشابه تشنجهای موضعی پیچیده در انسان است. این ویژگیها عبارتند از:

۱) الگوی رفتاری برانگیخته شده توسط کیندلینگ آمیگدال و هیپوکمپ خیلی شبیه تشنجهای موضعی پیچیده در انسان است.

۲) الگوی EEG ثبت شده از حیوانات کیندل شده شبیه انسان است.

۳) مواد ضد تشنجی در حیوان کیندل شده و انسان به طرز مشابهی عمل می کنند.

٤) وجود امواج بین نیزهای حمله ای موقت در EEG های ثبت شده از جنبه های دیگر مشترک در حیوانات کیندل شده و انسان است.

یکی از معیارها برای مدل صرعی این است که حمله به شکل خود به خودی رخ بدهد. اگر چه صرع عمومی به ندرت به شکل خود به خودی در حیوانات رخ می دهد، اما با ادامه کیندلینگ این امر معمولاً پس از خاتمه تحریک رخ می دهد [٤٣].

۱-۵ الکترو تراپی

از روشهای درمانی جدید در درمان صرع تحریک الکتریکی مستقیم در ناحیه صرعی است. [۵] در سال ۱۹۹۵، Weiss و همکارانش گزارش کردند که تحریک الکتریکی با فرکانس ۱ هرتز به مدت ۱۵ دقیقه بلافاصله پس از تحریک کنیدلینگ باعث به تعویق افتادن روند کیندلینگ می شود. این اثر همراه با افزایش در آستانه تشنج و تخلیه های متعاقب بود. آنها این پدیده را خاموش شدن[1] نامیدند [۱۲]. الکتروتراپی با فرکانس پایین به مدت یک هفته در حیوان کامل کیندل شده به تنهایی (بدون تحریک کیندلینگ) باعث قطع کامل تشنج ها با وجود شروع مجدد تحریک کیندلینگ به مدت یک هفته شد، که برای رسیدن به حالت قبل از الکتروتراپی نیاز به یک تا سه هفته زمان بود [۱۲].

[1] Quenching

اعمال LFS مشابه انچه که تضعیف طولانی مدت[1] ایجاد می کند اثرات محافظتی[2] دراز مدتی بر صرع دارد. تحریک الکتریکی با فرکانس ۱ هرتز و ۹۰۰ پالس بهترین پارامترها برای ایجاد LTD در شکنج دندانه دار موش صحرایی نژاد Wistar (در حالت Freely moving) می باشد، که یک LTD با دامنه زیاد و اثر طولانی تا یک هفته را ایجاد می کند [٤٤].

اعمال LFS باعث افزایش آستانه تخلیه های متعاقب در کیندلینگ هیپوکمپ و آمیگدال می شود و این اثرات ۵-۱۲ روز باقی می ماند [۷]. همچنین تحریک الکتریکی هیپوکمپ و یا مسیر پرفورنت با فرکانس های ۱ یا ۵۰ هرتز به مدت ۲ ساعت باعث کاهش وقایع بین حمله ای شده است که ۳۰ تا ٦۰ دقیقه دوام اثر داشت ولی اثری روی میزان تشنج های خود به خودی نداشت [٤٥]. مطالعه دیگری نشان می دهد که تحریکات LFS با فرکانس Hz ۰/۹-۳ اثر مهاری بر فعالیت صرعی داشته و اثرات طولانی مدت (هفته ها و ماهها) در بالا بردن آستانه تشنج دارد[۹]. تحریک الکتریکی با فرکانس پایین ناحیه شاخه جانبی شافر باعث مهار تشنج ها در سه مدل in vitro صرع هیپوکمپی (مدل های پتاسیم با غلظت بالا، فاقد منیزیم و مدل ٤- آمینوپیریدینی) شده است [٤٦]. از آنجایی که تحریک الکتریکی با فرکانس پایین باعث کاهش اسپایک ها می شود، بنابراین به نظر می رسد که فعالیت سیناپسی را دستخوش تغییر کند. مشاهده شده است که تغییر فعالیت سیناپسی در جهت تضعیف می باشد [٤٤].

۱-۵ -۱ اثرات سلولی تحریک الکتریکی با فرکانس پایین

مطالعات نشان می دهد که LTP در ناحیه هیپوکمپ توسط LFS به حالت اول برگردانده می شود [٤٧]. به نظر می رسد مکانیسم اثر الکتروتراپی با فرکانس پایین LTD و یا تضعیف پس از تقویت باشد [۱۲]. در یک مطالعه نشان داده شده است که LFS در هنگام ایجاد تضعیف پس از تقویت به شکل پیش سیناپسی روی فیبر هایMossy fiber-CA3 اثر می گزارد و دو واقعه را ایجاد می کند: ۱-کاهش cAMP که به وسیله mGLUR II ایجاد می شود. ۲-کاهش میزان Ca پیش سیناپسی [٤٧].

[1] LTD ،Long term depression

[2] Protective

نتایج تحقیقات نشان می دهد که ورود کلسیم از کانالهای وابسته به ولتاژT-type به دنبال تحریک با فرکانس پایین ۰/۵ Hz بیش از۱Hz بود [٤٨]. الکتروتراپی با فرکانس پایین نفوذ پذیری غشای نورون پس سیناپسی را به یون کلسیم از طریق گیرندهای NMDA یا کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ افزایش می دهد. کلسیم در داخل نورون به پروتیینی به نام کالمودولین[1] متصل می شود. کمپلکس کلسیم – کالمودولین یک پروتیین فسفاتاز به نام کلسی نورین[2] را فعال می کند. کلسی نورین سبب دفسفریله شدن زیر واحد $GluR_1$ گیرنده های گلوتاماتی نوع AMPA می شود و آندوسیتوز این گیرنده ها از غشای نورون پس سیناپسی را افزایش می دهد [٤٩]. علاوه بر این مشاهده شده است که LFS باعث کاهش گیرنده ها ی بنزودیازپینی و کاهش گیرنده ها ی η اوپیوئیدی می شود [۹].

در حین تحریک ناحیه CA1 هیپوکمپ مقدار زیادی از ATP و مشتقات آدنوزین از انتهای پیش سیناپس به فضای سیناپس رها می شود که این رهایش وابسته به فرکانس است. در حین LFS رهایش آدنوزین زیاد می شود که شاید این مکانیسم مهار LTP باشد [۱۲]. ATP ومشتقات آدنوزین به عنوان کوترانسمیتر از سیناپس های CA1 رها می شوند. آدنوزین اندوژن که در حین LFS و تحریک با فرکانس بالا رها می شود،از طریق گیرنده ها ی A_1 وA_2 عمل می کند و می تواند در نورون های CA1 به ترتیب LTD وLTP ایجاد کند [۱۸].

۱-٦ آدنوزین

آدنوزین یک ریبونوکلئوزید است که تقریبا در تمام سلول های بدن وجود دارد و یکی از اجزای ضروری سلول های زنده است. آدنوزین علاوه بر این که در ساختمان اسید نوکلئیک وجود دارد، با منبع انرژی سلولی پیوند داشته و در سیگنالینگ سلولی نیز دخالت دارد. آدنوزین خیلی از اعمال فیزیولوژیک بدن مانند حساسیت به تشنج، درک درد، القا خواب، کنترل مرکزی تنفس و همچنین تحریک پذیری قلب و مغز را تنظیم می کند.

[1] Calmodulin
[2] Calcineurin

درCNS آدنوزین یک نورومادولاتور قوی است واثر مهاری بر فعالیت نورونی دارد. در مغز سالم به نظر می رسد ایجاد تشنج به وسیله اثرات تونیک ضد تشنجی آدنوزین مهار می شود. میزان آدنوزین در شرایط فیزیولوژیک ۲۵ nM –۲۵۰ نگه داشته می شود اما مشاهده شده است که پس از تشنج میزان آن ٦تا ۳۱ برابر می شود [۵۰]. میزان آدنوزین در دوره زمانی که نیاز متابولیک زیاد است افزایش می یابد، مثل شرایطی که تشنج وجود دارد [۱۵].

۱-٦-۱ گیرنده های آدنوزینی

آدنوزین ٤ تا رسپتور دارد که عبارتند از:A_1، A_{2A}، A_{2B}، ، A_3. گیرنده های A_1 وA_{2B} اهمیت فیزیولوژیک زیادی دارند گیرنده هایA_1 وA_3 مهاری هستند. فعالیت این گیرنده ها موجب کاهش فعالیت آدنیلیل سیکلاز و در نهایت کاهش cAMP می شوند. گیرنده هایA_{2A} وA_{2B} تحریکی هستند و عکس گیرنده هایA_1 وA_3 عمل می کنند. گیرندهA_1 در مغز دارای بیان زیادی است و بیان A_{2A} از همه کمتر است. میزان بیان گیرنده های A_3 بینابینی است. گیرنده A_1 دارای تمایل زیادی به آدنوزین است ودر حضورnM ۷۰ آدنوزین فعال می شود، گیرنده A_3 دارای تمایل کمی است و در میزان ٦۵۰۰nM آدنوزین فعال می شود و تمایل گیرنده های A_2 بینابینی است در حدود ۱۵۰ nM –۵۱۰۰ فعال می شود [۵۰].

گیرنده های آدنوزینیA_1 که با فعال کردن Gi عمل می کنند، به شکل پیش سیناپسی باعث اثر بر کانالهای K و Ca شده و منجر به کاهش رهایش نوروترانسمیترهای تحریکی می شوند و بدین وسیله اثر محافظت نورونی بر مغز دارند [۵۰].

۱-٦-۲ مسیر های تولید ومتابولیسم آدنوزین

آدنوزین توسط دو مسیرآنزیماتیک تولید می شود (شکل ۱-۱):

۱ – در داخل و یا خارج سلول توسط '۵ – نوکلئوتیداز

۲ – در داخل سلول از S – آدنوزیل هموسیستئین توسط S– آدنوزیل هموسیستئین هیدرولاز

در داخل سلول آدنوزین می تواند توسط '۵ - نوکلئوتیداز داخل سلولی AMP از تولید شده و سپس از طریق ترانسپورترهای دوجهته به خارج سلول فرستاده شود، یا این که در خارج سلول توسط '۵ -اکتو نوکلئوتیداز تولید گردد [۵۱]. در داخل سلول غلظتATP، ۵۰ برابرAMP است و تغییرات کم در غلظتATP می تواند تغییرات زیادی در غلظتAMP ایجاد کند. این سیستم بسیار حساس به افزایش سرعت متابولیسم و یا استرس است [۵۱]. تاکنون ۷ نوع '۵ نوکلئوتیداز در پستانداران شناسایی شده است. ٤ نوع از ایزوفرم های آن (N-II,eN,cdN,mdN) تقریبا در همه جا حضور دارند وبقیه در بافت های خاصی بیان می گردند (cN-IA, cN-IB ,cN-III) [۵۲].

نوکلئوتیدازcN-I که در مغز، عضلات اسکلتی وقلبی بسیار زیاد بیان می شود، دارای تمایل زیادی برای هردوفرم نوکلئوزید و داکسی نوکلئوزید مونو فسفات است، عمدتاً توسطADP و به میزانی کمتر توسط GTP فعال می گردد. یک نقش شناخته شده این آنزیم تولید آدنوزین در شرایط هیپوکسی و ایسکمی است. عمل cN-I تحت تأثیرpH وهمچنین کاتیونهای دو ظرفیتی مثل Mg^{2+},Mn^{2+},Ca^{2+} قرارمی گیرد. cN-II بیشتر سیتوپلاسمیک است. cN-III هم آنزیم سیتوپلاسمیک است و فعالیت این آنزیم توسط فلزات سنگین reactive compound thiol- مهار می گردد [۵۲].

۱-٦-۳ ترانسپورترهای آدنوزینی

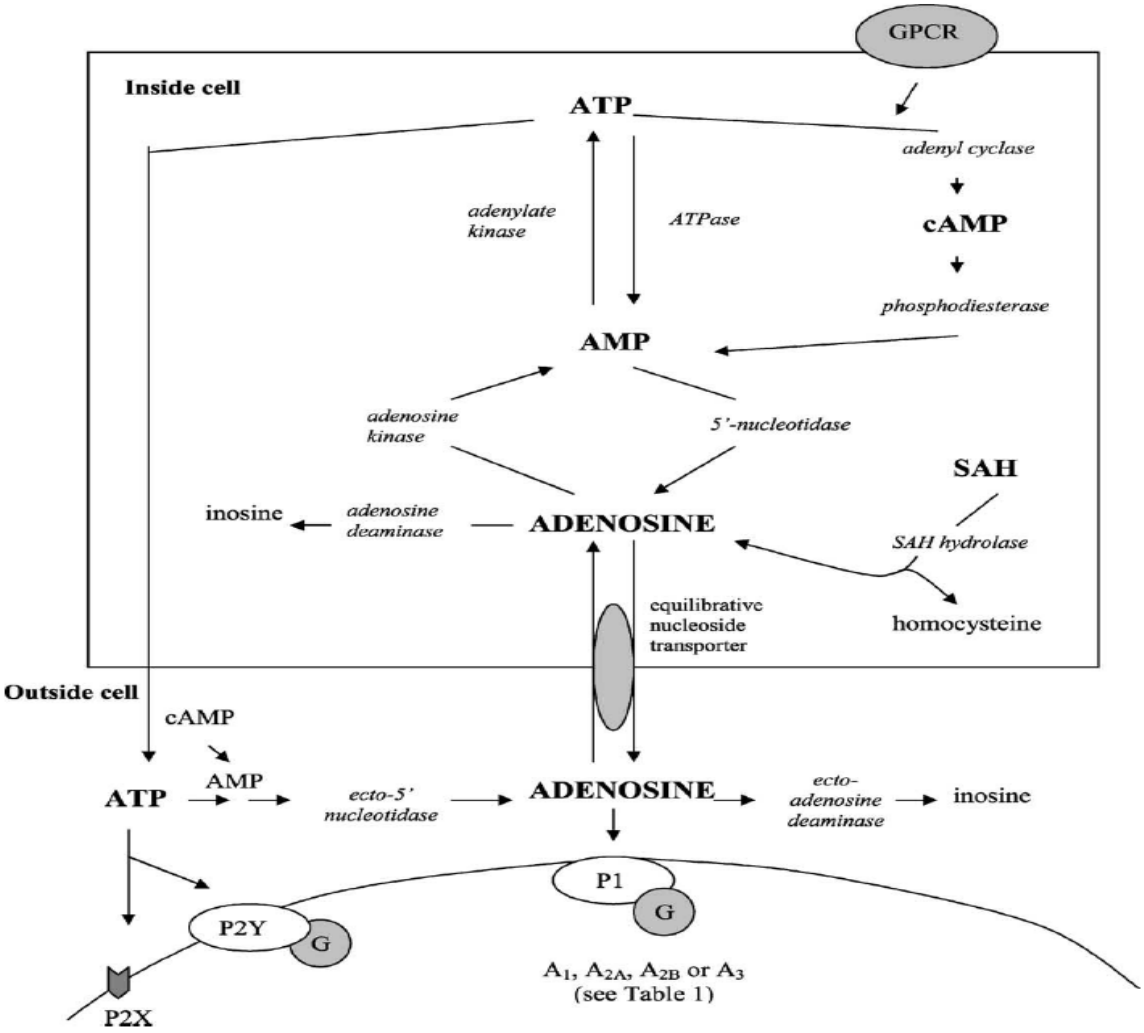
همانند دیگر نوکلئوزیدهای پورینی یا پیریمیدینی، آدنوزین به وسیله سیستم های ناقل از غشای سلول عبور می کند. این سیستم های ناقل به دودسته عمده تقسیم می شوند [۵۲]:

۱-ناقلینی که انتقال نوکلئوتیدها را با نیروی شیب سدیم انجام می دهند (ناقلین concentrative)

۲-ناقلینی که انتقال نوکلئوتیدها را مستقل از نیروی شیب سدیم انجام می دهند (ناقلین Equilibrative) [۵۱].

۱-٦-٤ حذف آدنوزین

حذف آدنوزین توسط دومسیر آنزیماتیک صورت می گیرد:



شکل۱-۱: مسیرهای داخل سلولی و خارج سلولی برای تشکیل و متابولیسم آدنوزین [۵۱]

(۱)توسط آدنوزین کیناز[1] (۲)توسط آدنوزین دآمیناز[2] که به ترتیب اینوزین و5'-AMP تولید می شود (شکل ۱-۱).

عمل فسفریلاسیون توسط ADK عمدتاً در غلظت های کم آدنوزین در حالت فیزیولوژیک صورت می گیرد. مهار ADK باعث افزایش آدنوزین می شود. ADK دارای تمایل زیادی برای آدنوزین است (<1μM) در حالی که ADA در غلظتهای بالاتر سوبسترا (<۱۰ μM) فعال می گردد [۵۲].

ADK بیشتر در داخل سلول وجود دارد اما ADA هم در داخل و هم در خارج سلول وجود دارد. ADA در داخل سلول بیشتر عمل آنزیمی دارد اما در خارج سلول اعمال دیگری را انجام می دهد، از جمله

[1] Adenosine kinase ;ADK
[2] Adenosine deaminase ;ADA

تنظیم فعالیت گیرنده ها، به عنوان مثال تعدیل در میزان اتصال لیگاند به گیرنده های A_1 و اندوسیتوز این گیرنده ها. ADA دارای ظرفیت زیادی برای آدنوزین است.

۱-٦-۵ نقش آدنوزین در صرع

نتایج تحقیق های موجود تا کنون نشان داده است که کاهش آدنوزین خارج سلولی به هر طریقی (مثل استفاده از مهارگراکتونوکلئوتیداز) به طور معنی دار حملات صرعی را افزایش می دهد [۵۳] و بر عکس، افزایش آدنوزین خارج سلولی آثار ضد صرعی دارد [٥٤، ۵۵]. آزمایش های دیگری نشان داده است که تزریق آگونیست اختصاصی گیرنده A_1 به هیپوکمپ باعث مهار حملات صرعی ناش از کیندلینک آمیگدال[٥٦] و تزریق همین ماده به آمیگدال باعث مهار تشنج های ناشی از کیندلینک هپوکمپ می شود [۵۷].

۱-٦-٦ تأثیر آدنوزین بر انتقال سیناپسی

آدنوزین پتانسیل های میدانی بر انگیخته شده به وسیله تحریک فیبر های آوران به قشر بویایی، هیپوکمپ و نئواستریاتوم را تضعیف می کند. مکانیسم اثر آدنوزین در کاهش پتانسیل های میدانی، تضعیف جریان های کلسیمی پیش سیناپسی، افزایش کنداکتانس پتاسیم و کاهش رهایش وابسته به کلسیم می باشد.

تمامی این آثار در سطح پیش سیناپسی رخ می دهند. مکانیسم های پس سیناپسی آدنوزین شامل فعال سازی جریان های پتاسیمی رو به خارج و افزایش هیپرپولاریزاسیون در نورون های قشری است [۵۸].

آدنوزین حملات صرعی ایجاد شده در شرایط in vivo را تضعیف می کند [۵۹] ودر محیط in vitro نیز فعالیت صرعی را کاهش می دهد [٦۰، ٦۱]. شواهدی وجود دارد که گیرنده های A_1 آدنوزین، که در هیپوکمپ به شکل پیش سیناپسی قرار دارند، رهایش نوروترانسمیتر را کاهش می دهند. در هیپوکمپ این اثر در پایانه گلوتاماترژیک دیده می شود. همچنین تمایل گیرنده های A_1 به آدنوزین و

آگونیست اختصاصی آن در جریان کیندلینگ که در هیپوکمپ رخ می دهد باعث آثار مهـاری قـوی تـر آدنوزین در جریان تشنج می شود [٦٠].

١-٦-٧ نقش گیرنده های آدنوزین در اعمال اثرات مهاری LFS

نتایج مطالعات انجام گرفته در زمینه نقش گیرنده های آدنوزینی در اعمال اثر مهاری LFS ضد و نقیض می باشد. بیشتر تحقیقات حاکی از این است که گیرنده های A_1 آدنوزین در اثر بخشی LFS بـر LTP و ایجاد تضعیف پس از تقویت دخیلند. Fujii و همکارانش در سال ١٩٩١ نشان دادند که اسـتفاده از آنتاگونیست گیرنده A_1، ٨-سیکلوپنتیل گزانتین (8-CPT)، تضعیف پس از تقویت را در نورون هـای CA1 مهار می کند [٤١]، اما در مقابـل، گـزارش شـده اسـت کـه اسـتفاده از آنتاگونیـست گیرنـده A_1 (DPCPX) در طی اعمال LFS، ایجاد تضعیف پس از تقویت را تـسهیل مـی کنـد [٦٢]. از آنجـایی کـه آدنوزین از طریق گیرنده های A_1 موجب تـسهیل تـضعیف پـس از تقویـت ناشـی از LFS مـی شـود [٦٣،١٤]، همچنین به دلیل تشابهاتی که بین LTP و کینـدلینگ وجـود دارد، مـی تـوان احتمـال داد کـه آدنوزین از طریق گیرنده های آدنوزینی A_1 موجب تسهیل اثرات مهاری LFS بر کیندلینگ شود. لازم به ذکر است نتایج مطالعات اخیر آزمایشگاه ما نیز مؤید این امر می باشد [١٤]. در مورد نقش گیرنده های A_{2A} مطالعه زیادی صورت نگرفته اما تحقیقات موجود گزارش های ضد و نقیضی را در مورد نقش این گیرنده ها در اثر بخشی LFS بر تقویت طولانی مدت (LTP) نشان می دهند. به عنـوان مثـال، گـزارش شده که DMPX (آنتاگونیست گیرنده A_2) تأثیری بر تضعیف پس از تقویت ناشـی از LFS نـدارد [٦٤]. همچنین محمدزاده و همکاران [١٤] نیز نشان دادند که ZM (آنتاگونیـست گیرنـده A_2) تـأثیری بـر اثـر مهاری LFS در تقویت سیناپسی ناشی از کیندلینگ ندارد. در گزارش دیگری آمده است که آنتاگونیست گیرنده A_2 (CP-66713) باعث تسهیل ایجاد تضعیف پس از تقویت در شیب پتانسیل های میـدانی مـی شود اما ایجاد تضعیف پس از تقویت در اسپایک هـای تجمعـی را مهـار مـی کنـد [٦٢] و در گـزارش دیگری نشان داده شده است که CP-66713 باعـث تـسهیل تـضعیف پـس از تقویـت مـی شـود [١٨].

بنابراین، گیرنده های A_{2A} نیز ممکن است در مکانیسم اثرات مهاری LFS بر کیندلینگ نقش داشته باشند.

هدف از تحقیق حاضر بررسی این مسأله است که فعالیت کدام یک از مسیر های تولید و یا حذف آدنوزین در اعمال اثرات ضد تشنجی LFS می تواند نقش داشته باشد.

فصل دوم

مواد و روشها