

١٥٥٤٩

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

١٥٣٦٩٩



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی

موضوع

بررسی رفتاری و بافت شناسی اثر تغذیه متناوب (یک روز در میان) در نشو
و ظهور حملات صرعی در مدل پیلوکارپینی صرع لوب تمپورال در موش
صحرائی نر



۱۳۸۷ / ۷ / ۱۷

نگارش:

ندا پری نژاد خامنه

استاد راهنما:

دکتر محسن رضا حیدری

استاد مشاور:

دکتر منصوره موحدین

۱۳۸۷

۱ ۰ ۳ ۶ ۹ ۹

فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان نامه کارشناسی ارشد»

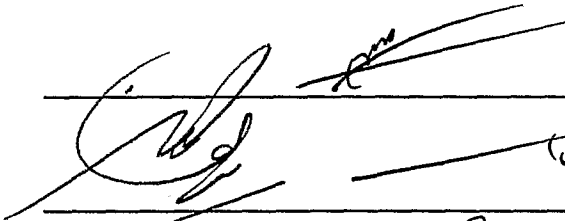
بدینوسیله پایان نامه کارشناسی ارشد خانم ندا پری نژاد رشته: فیزیولوژی گرایش: تقدیم می شود. اینجانبان نسخه نهائی این پایان نامه را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأیید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:



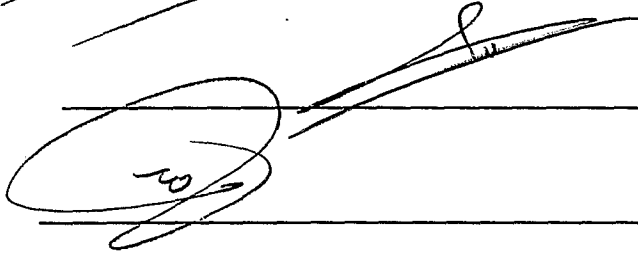
آقای دکتر محسن رضا حیدری (استاد راهنما)

خانم دکتر منصوره موحدین (استاد مشاور)



آقای دکتر سید جواد میر نجفی زاده (نماینده تحصیلات تکمیلی)

آقای دکتر محمد سیاح (استاد ناظر)



آقای دکتر سهراب حاجی زاده (استاد ناظر)

آئین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (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 می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلا به طور 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 پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده در رشته ... فیروزپور ... است که در سال ... در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی دکتر حسین رضا جیدریک، مشاوره ... دکتر بیضیه ... مورچدین ... از آن دفاع شده است."

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

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداختهای بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب ... (پس از امضاء) ... دانشجوی رشته ... (پس از امضاء) ... مقطع ... (پس از امضاء) ... اینجانب ... تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی
تاریخ و امضاء
دکتر حسین رضا جیدریک
۱۳۸۶ / ۳ / ۲۶

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

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی 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 هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند. تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آیین نامه های مصوب انجام می شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی حاصل از نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگی .
تاریخ و امضاء
۱۳۸۴/۳/۲۴

اصولت در دانش آموزان
تربیت مدرس

تقدیر و تشکر

در اینجا وظیفه خود می دانم که مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را نثار سرورانی نمایم که در انجام این پژوهش مرا یاری نمودند.

- استاد محترم جناب آقای دکتر محسن رضا حیدری که راهنمایی های ایشان در طول انجام مراحل تحقیقاتی گره گشای بسیاری از مشکلات موجود در انجام این پروژه بوده است.

- استاد مشاور سرکار خانم دکتر منصوره موحدین که اوقات گرانبهائی خود را در اختیار اینجانب قرار داده و از هیچ کوششی برای پیشبرد کار پایان نامه دریغ نکردند.

- کارشناسان محترم خانم سعیده ابراهیمی و آقای شهرام بیرانوند که در آموزش تکنیکهای بافت شناسی کمک شایانی نمودند.

- و در نهایت از خانواده ام، همسر و دوستانی که در تمامی مراحل مشوقم بودند و مرا در انجام این پژوهش یاری نمودند بسیار سپاسگزارم.

چکیده:

هدف: صرع لوب گیجگاهی (TLE) از جمله مقاوم ترین انواع صرع به دارودرمانی می باشد. داروهای موجود تنها از بروز تشنجات جلوگیری می کنند. کنترل روند صرع زایی می تواند درمان مناسبی در بیماری صرع باشد. تاثیر حفاظتی محدودیت غذایی بر نورونها نشان داده شده است. تاثیر حفاظتی محدودیت غذایی متناوب (یک روز در میان) بر نورونهای هیپوکمپ در برابر آسیبهای excitotoxic بیشتر از محدودیت غذایی روزانه می باشد. در این تحقیق، تاثیر محدودیت غذایی متناوب در ایجاد، پیشرفت و ظهور حملات صرعی در مدل صرعی پیلوکارپین در موش صحرایی نر بررسی شد و در آخر، تخریب نورونهای هرمی در نواحی CA1، CA2 و CA3 هیپوکمپ مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: در شروع آزمایش، موشهای صحرایی نر (۲۵۰-۲۰۰ گرم) در دو گروه AL (تغذیه نامحدود) و IF (تغذیه یکروز در میان) قرار گرفتند. رژیم غذایی به مدت ۱۰ هفته ادامه یافت، آنگاه القاء استاتوس اپیلتیکوس (SE) با تزریق پیلوکارپین (۳۵۰ mg/kg، داخل صفاقی) صورت گرفت. حیوانات در چهار گروه تقسیم شدند و ثبت رفتاری به صورت ۲۴ ساعته تا ۶۰ روز بعد از بهبود از SE انجام شد تغذیه در حیوانات چهار گروه آزمایشی بدین صورت بود، **گروه اول:** قبل و بعد از تزریق پیلوکارپین بدون محدودیت، **گروه دوم:** قبل از تزریق پیلوکارپین بدون محدودیت و بعد از ایجاد SE به صورت یک روز در میان، **گروه سوم:** قبل از تزریق پیلوکارپین بدون محدودیت و بعد از اولین تشنج خود به خود به صورت یک روز در میان، **گروه چهارم:** قبل و بعد از تزریق پیلوکارپین به صورت یک روز در میان. گروههای کنترل شامل: **کنترل AL:** تغذیه نامحدود قبل و بعد از تزریق سالین، **کنترل IF:** تغذیه یک روز در میان قبل و بعد از تزریق سالین. در نهایت مطالعات بافت شناسی (شمارش نورونهای هرمی) در هیپوکمپ انجام گرفت.

یافته ها: درصد حیواناتی که در آنها SE القاء شد، در گروهی که تغذیه متناوب داشت کمتر از گروهی بود که تغذیه نامحدود داشت و این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار بود. طول دوره مزمن در گروه چهارم از لحاظ آماری به طور معنی داری بیشتر از گروه اول بود. درصد حیواناتی که صرعی شدند، در گروه چهارم به طور معنی داری کمتر از گروه اول و سوم بود. میانگین شدت تشنجات خودبخودی در گروه دوم به طور معنی داری کمتر از گروه سوم بود. تعداد سلولها در ناحیه CA1 هیپوکمپ در گروههای دوم و سوم از لحاظ آماری به طور معنی داری بیشتر از گروه اول بود. در ناحیه CA2، تعداد سلولها در گروه سوم در مقایسه با سلولهای گروههای کنترل AL و IF تفاوت معنی داری نداشت.

نتیجه گیری: نتایج فوق نشان می دهند که رژیم غذایی متناوب سبب ایجاد مقاومت در موشهای صحرایی در برابر القاء SE می شود. این رژیم روند صرع زایی را طولانی می کند به علاوه، تعداد سلولهای عصبی هیپوکمپ تحت رژیم غذایی متناوب در کوتاه مدت بیشتر از گروه تحت تغذیه نامحدود می باشد. مطالعات بیشتری لازم است تا مکانیسمهای رژیم غذایی IF و نقش احتمالی آن را در TLE انسانی مشخص نماید.

واژگان کلیدی: صرع، پیلوکارپین، محدودیت غذایی، رژیم غذایی متناوب (یکروز در میان)

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه ۲

فصل دوم: مروری بر منابع

۱-۲-۱- صرع ۷

۱-۲-۱-۱- انواع صرع ۷

۱-۲-۲- مدل صرعی پیلوکارپین ۸

۱-۲-۲-۱- استاتوس اپیلتیکوس (SE) ۱۰

۱-۲-۲-۲- دوره نهفته (LP) ۱۱

۱-۲-۲-۳- دوره مزمن ۱۲

۱-۲-۳- رژیم درمانی ۱۳

۱-۲-۴- محدودیت غذایی (DR) ۱۴

۱-۲-۵- محدودیت غذایی (DR) و بیماری صرع ۱۷

۱-۲-۶- هدف تحقیق ۱۸

فصل سوم: مواد و روشها

۱-۳- حیوانات ۲۰

۲-۳- رژیم غذایی ۲۰

۱-۲-۳- رژیم غذایی قبل از تزریق پیلوکارپین یا سالین ۲۱

۲-۲-۳- رژیم غذایی بعد از تزریق پیلوکارپین یا سالین ۲۱

۳-۳- گروههای آزمایشی ۲۱

۴-۳- روش ایجاد صرع توسط پیلوکارپین ۲۲

۱-۴-۳- روش القاء استاتوس اپیلتیکوس ۲۲

۲-۴-۳- روش خاتمه استاتوس اپیلتیکوس ۲۲

۳-۴-۳- مراقبتهای ویژه بعد از استاتوس اپیلتیکوس ۲۳

- ۲۳..... ۳-۵- ارزیابی مراحل حاد، نهفته و مزمن مدل صرعی پیلوکارپین
- ۲۴..... ۳-۶- مطالعات بافت شناسی
- ۲۴..... ۳-۶-۱- خارج کردن و پردازش بافت مغز
- ۲۶..... ۳-۶-۲- برش هیپوکمپ و تهیه لام از بافت آن
- ۲۶..... ۳-۶-۳- رنگ آمیزی بافت توسط رنگ کرزیل فست ویوله
- ۲۷..... ۳-۶-۴- شمارش سلولهای هیپوکمپ
- ۲۹..... ۳-۷- تجزیه و تحلیل آماری داده ها

فصل چهارم: نتایج

- ۳۱..... ۴-۱- نتایج مطالعات رفتاری
- ۳۱..... ۴-۱-۱- اثر رژیم غذایی متناوب بر روی وزن حیوانات گروه AL و IF (قبل از تزریق پیلوکارپین)
- ۳۲..... ۴-۱-۲- اثر رژیم غذایی متناوب بر استاتوس اپیلپتیکوس (SE) ناشی از تزریق پیلوکارپین
- ۳۶..... ۴-۱-۳- اثر رژیم غذایی متناوب بر دوره نهفته مدل صرعی پیلوکارپین
- ۳۸..... ۴-۱-۴- اثر رژیم غذایی متناوب بر تعداد، طول مدت، شدت و زمان وقوع تشنجات خودبخودی (SRS) در دوره مزمن (Chronic) در مدل صرعی پیلوکارپین
- ۴۶..... ۴-۲- نتایج مطالعات بافت شناسی
- ۴۷..... ۴-۲-۱- اثر رژیم غذایی متناوب بر تعداد سلولهای عصبی نواحی CA1، CA2 و CA3 هیپوکمپ

فصل پنجم: بحث

- ۵۵..... ۵-۱-۱- تاثیر رژیم غذایی متناوب بر استاتوس اپیلپتیکوس (SE) ناشی از تزریق پیلوکارپین
- ۵۷..... ۵-۱-۲- اثر رژیم غذایی متناوب بر دوره نهفته مدل صرعی پیلوکارپین
- ۵۹..... ۵-۱-۳- اثر رژیم غذایی متناوب بر تعداد، طول مدت، شدت و زمان وقوع تشنجات خودبخودی در دوره مزمن (Chronic) در مدل صرعی پیلوکارپین
- ۶۳..... ۵-۱-۴- اثر رژیم غذایی متناوب بر تعداد سلولهای عصبی نواحی CA1، CA2 و CA3 هیپوکمپ
- ۶۶..... پیشنهادهای
- ۶۸..... منابع

فصل اول

مقدمه

صرع (epilepsy) یک اختلال نورولوژیک با شیوع حدود نیم تا پنج درصد است که مشخصه آن تشنج های غیرقابل پیش بینی و دوره ای است [۱]. این بیماری دومین رده را از نظر شیوع در بین اختلالات نورولوژیک دارد [۲]. شیوع صرع در کشورهای در حال توسعه ۲ تا ۳ برابر شیوع این بیماری در کشورهای پیشرفته است [۲]. شایعترین نوع صرع در انسان، صرع لوب گیجگاهی^۱ (TLE) است [۳]. مدل حیوانی این نوع صرع که تشابه زیادی با صرع لوب گیجگاهی در انسان دارد، مدل صرعی پیلوکارپین است. در مدل پیلوکارپین، تشنجات خودبخودی، پاسخ به داروهای ضد تشنج و آسیب مغزی مشابهی با صرع لوب گیجگاهی انسان مشاهده میشود [۴،۵].

مدل صرعی پیلوکارپین سه مرحله مجزا را نشان می دهد: (۱) یک مرحله حاد یا استاتوس اپیلپتیکوس^۲ (SE)، (۲) یک مرحله با طول متغیر به نام مرحله نهفته، که در این مرحله هیچگونه تظاهرات رفتاری و الکتروانسفالوگرافیک وجود نداشته و رفتار حیوان به حالت طبیعی بر گردد. طول مدت این مرحله معمولاً از ۴ تا ۴۴ روز متغیر است و (۳) یک مرحله مزمن که با ظهور تشنجات خودبخودی لوب لیمبیک که تا آخر عمر حیوان ادامه می یابند، مشخص می گردد [۶].

مشخصه صرع لوب گیجگاهی، آسیب ساختارهای داخل لوب لیمبیک خصوصاً هیپوکمپ می باشد؛ که به علت یک آسیب ابتدایی در مغز به همراه مرگ و تخریب نورونی ناشی از آن رخ میدهد [۷]. در این نوع صرع هیپوکمپ نقش مهمی در عمومی شدن تشنجات دارد. مستعدترین نواحی ای که دچار تخریب نورونی می شوند، نواحی CA1 و CA3 هیپوکمپ هستند در حالیکه ناحیه CA2 هیپوکمپ بیشترین مقاومت را در مقابل تخریب نورونی نشان می دهند [۸]. مهمترین آسیب ابتدایی در مغز که منجر به تخریب نورونی و تشنجات متعاقب آن می گردد، SE می باشد [۹]. مکانیسم ایجاد SE هنوز به درستی شناخته نشده است. اما به نظر می رسد که شروع تشنجات بواسطه یک عدم تعادل بین تحریک و مهار عصبی و یا ناکارآمدی

¹ Temporal Lobe Epilepsy

² Status Epilepticus

مکانیسم های خاتمه دهنده تشنج باشد. این امر منجر به شروع ایمپالسهای نورونی غیر طبیعی می گردد [۱۰،۱۱]. SE اگر بیش از ۳۰ تا ۴۵ دقیقه به طول بیانجامد می تواند موجب آسیب مغزی در ساختارهای لیمبیک شامل هیپوکامپ شود و فعالیت تشنجی به خودی خود کافی است تا به سیستم عصبی مرکزی آسیب وارد کند [۱۲]. وقایع سلولی که سبب ایجاد تحریک پذیری بالا در صرع می شود به درستی شناخته نشده است ولی از جمله این تغییرات سلولی می توان به سیناپس سازی مجدد، مرگ سلولهای عصبی، میکروگلیوز (microgliosis)، نوروژنز (neurogenesis)، آستروگلیوز (astrogliosis) و شاخه شاخه شدن آکسونی (axonal sprouting) اشاره کرد [۱۳،۱۴]. همچنین محرک صرع زاء، تغییرات مولکولی نیز در سطح بیان ژنهای مختلف ایجاد می کند که از جمله آنها افزایش بیان BDNF را می توان نام برد [۱۵-۱۹].

به دنبال آسیب نورونی وارده در اثر تشنجات حاد، میکروگلیاها در مراحل اولیه پاسخ به آسیب فعال می شوند [۲۰-۲۳]. فعال شدن میکروگلیاها به عنوان یک پاسخ سریع، می تواند سبب neurodegeneration شود. پاسخ التهابی بعد از وقوع تشنج در موشهای صحرایی بالغ، شدید، مزمن و بادوام می باشد. این پاسخها، به همراه مرگ سلولی ناشی از تشنج و توسعه تشنجهای خودبخودی متعاقب آن می باشند [۲۴].

وقوع صرع در حدود ۳۰٪ از بیماران صرعی، با دارو درمانی قابل کنترل نمیشود [۲۵]. از بین انواع صرع، صرع لوب گیجگاهی بیشترین مقاومت را در برابر دارو درمانی دارد [۲۶]. داروهایی که در درمان صرع به کار میروند، در افرادی که به دارو پاسخ میدهند علاوه بر آثار جانبی که دارند [۲۷]، اغلب ضد تشنج (anti-convulsant) هستند اما روند صرع زایی (epileptogenesis) را متوقف نمیکنند [۲۸]. این داروها قادر به پیشگیری و یا برطرف کردن آسیب مغزی ناشی از استاتوس اپیلپتیکوس (SE) و تشنجات صرعی نمی باشند. همچنین این داروها قادر به جلوگیری از تشنجات به طور دائمی نیستند و با قطع داروها، تشنجات دوباره بروز خواهند کرد. درمان جراحی نیز تنها در صورت تک کانونی بودن صرع قابل استفاده است و یک روش تهاجمی (invasive) محسوب میشود. از این رو همواره نیاز به روشی جدید برای درمان

صرع وجود دارد. تاثیر بر روند صرع زایی و یا معکوس کردن این روند، که امروزه مورد توجه قرار گرفته است، میتواند درمان جدیدی برای این بیماری باشد.

محدودیت غذایی^۳ (DR) از جمله رژیمهایی است که در سالهای اخیر تاثیر آن بر روی مدل‌های حیوانی بیماری‌های دستگاه عصبی از جمله پارکینسون [۲۹] و آلزایمر [۳۰] و صرع [۳۱] مورد توجه قرار گرفته است. دو شیوه متداولی که به وسیله آن محدودیت غذایی اعمال می‌شود، رژیم‌های تغذیه روزانه محدود^۴ (LDF) و تغذیه متناوب^۵ (IF) می‌باشد. در رژیم LDF، پلت‌هایی (pellet) با کالری ۳۰-۴۰٪ کمتر از پلت‌های نرمال آزمایشگاهی در دسترس حیوانات قرار می‌گیرد. این رژیم با محدودیت کالری^۶ (CR) کنترل شده و متعاقب آن با کاهش وزن مطابق با کاهش کالری همراه است. در رژیم IF، حیوانات ۲۴ ساعت پلت‌های نرمال آزمایشگاهی را در اختیار دارند و ۲۴ ساعت بعد غذا به طور کامل از دسترس آنها خارج می‌شود. این رژیم به مرور زمان در موش‌های صحرایی سبب کاهش غذای دریافتی و کاهش وزن بدن می‌شود [۳۲]. تاثیر این دو الگوی تغذیه بر افزایش طول عمر و ایجاد مقاومت در برابر بیماریها در موش‌های سوری و صحرایی به اثبات رسیده است [۳۳] رژیم غذایی IF در حفاظت از نورون‌های موجود در هیپوکمپ در مقابل مرگ سلولی ناشی از نوروتوکسین، از رژیم CR موثرتر بوده است [۳۲]. با وجود اینکه موش‌های سوری تحت رژیم غذایی IF محدودیت کالری نداشتند، تاثیرات سودمند فیزیولوژیک این رژیم برابر و یا بیشتر از رژیم CR (۴۰٪ کاهش کالری) بوده است. این یافته بیانگر این موضوع است که تاثیر رژیم IF می‌تواند در اثر کاهش تعداد وعده‌های غذایی صرف نظر از کاهش انرژی دریافتی باشد [۳۴].

مکانیسم‌هایی که از طریق آنها رژیم IF استرس ملایمی بر نورونها اعمال می‌کند هنوز به درستی شناخته نشده است. احتمالاتی که در نظر گرفته می‌شود به این صورت است که نورونها تحت تاثیر رژیم غذایی در معرض استرس متابولیک قرار می‌گیرند و یا اینکه نورونها در طی رژیم IF در نتیجه احساس

³ Dietary Restriction

⁴ Limited Daily Feeding

⁵ Intermittent Feeding

⁶ Calorie Restriction

گرسنگی حیوان و جستجو برای یافتن غذا، فعالیت بیشتری دارند. زمانی که نورونها فعالیت بیشتری انجام می دهند، بیشتر در معرض استرسهای اکسیداتیو و energetic قرار می گیرند و در نتیجه موجب تحریک مکانیسمهای مقابله با استرس و تولید BDNF می شوند [۳۵].

نتایج تحقیقات در حیوانات آزمایشگاهی نشان داده است که محدودیت غذایی، مغز را در برابر آسیبهای وارده مقاوم می کند [۳۶] و همچنین وقوع اولین تشنج را در موش EL به تاخیر انداخته و سبب کاهش احتمال وقوع تشنج و افزایش آستانه تشنج در مدل PTZ می شود [۳۱، ۳۷] تا کنون تأثیر تغذیه متناوب بر روند صرع زایی و حملات صرعی خود به خود ناشی از این روند بررسی نشده است. در این تحقیق، به بررسی تأثیر تغذیه متناوب در ایجاد، پیشرفت و ظهور حملات صرعی در مدل صرعی پیلوکارپین در موش صحرایی نر پرداخته شده و تخریب بافتی در نواحی CA1، CA2 و CA3 هیپوکمپ بررسی شده است.

فصل دوم

مروری بر منابع

۲-۱- صرع

صرع (Epilepsy) بعد از سکته مغزی شایعترین اختلال نورولوژیک (با شیوع حدود ۰/۵٪ تا ۵٪) است که حداقل ۵۰ میلیون نفر در دنیا به آن مبتلا هستند [۱،۲،۳۸]. صرع در تمامی گروه‌های سنی دیده می‌شود، اما در میان کودکان و افراد پیر از شیوع بالاتری برخوردار است. شایعترین نوع صرع در افراد بالغ، صرع لوب گیجگاهی^۷ (TLE) است [۳،۳۹]. به طور کلی، به فعالیت الکتریکی غیر طبیعی، همزمان و آشفته دسته ای از نوروها تشنج (Seizure) گفته می‌شود. اگر این تشنج‌ها به صورت خودبخودی و راجعه بروز کنند نوعی اختلال عصبی به نام صرع (Epilepsy) ایجاد می‌شود [۸]. واژه Epilepsy از کلمه یونانی Epilambanien (به معنای حمله) گرفته شده است [۴۰]. صرع به اشکال مختلف شامل آشفستگی در رفتار، حس، حرکت و ادراک دیده می‌شود. این آشفستگی‌ها ممکن است با تغییر در سطح هوشیاری همراه باشد [۲،۳۸]

۲-۱-۱- انواع صرع

انجمن بین‌المللی مقابله با صرع (International League Against Epilepsy) در سال ۱۹۸۱ یک تقسیم‌بندی کلی برای تشنج‌ها مطرح کرد و آنها را در دو دسته کلی موضعی و عمومی قرار داد [۴۱]. صرع موضعی از ناحیه مشخصی در مغز شروع شده و به دو نوع ساده و پیچیده تقسیم می‌گردد. نزدیک به ۶۰٪ افراد مصروع، صرع موضعی دارند. در صرع موضعی ساده، فرد مصروع هوشیار باقی می‌ماند و احساسهایی غیر عادی تجربه می‌کند. در صرع موضعی پیچیده، سطح هوشیاری نیز کاهش می‌یابد ولی بندرت احساسهای غیر عادی تجربه می‌شوند. در صرع لوب گیجگاهی، که از نوع تشنج‌های موضعی پیچیده بوده و شایعترین نوع صرع در بالغین است [۳]، گاهی اوقات تشنج بطور ثانویه عمومی می‌گردد (Secondary generalized). چون کانون‌های تشنج در این نوع صرع از ساختمان‌های لوب گیجگاهی

⁷ Temporal Lobe Epilepsy

منشأ می گیرند، به این نام خوانده می شود [۴۰، ۴۱]. حساسیت بخش‌های مختلف لوب گیجگاهی به صرع متفاوت است. در ۲۵٪ افراد مصروع، کانون صرع در هیپوکامپ، ۱۰٪ در آمیگدال می باشد [۴۰، ۴۲]. فیزیوپاتولوژی صرع لوب گیجگاهی کاملاً شناخته شده نیست اما آسیب ابتدایی مغز به‌مراه مرگ و تخریب نورونی که معمولاً ناشی از مکانیسم‌های تحریکی می باشد یکی از علل اصلی پیشنهادی برای این بیماری می باشد [۷]. عقیده بر این است که اسکروز هیپوکامپ که به معنی از دست رفتن انتخابی برخی از سلولهای هیپوکامپ بوده و یک شاخص انتخابی TLE می باشد، ممکن است تعادل تحریکی/مهارتی را در باقی سلولهای هیپوکامپ بر هم بزند و موجب تشکیل یک کانون صرعی شود [۴۳].

آمیگدال و تشکیلات هیپوکامپ مهم‌ترین مکان‌های درگیر در صرع لوب گیجگاهی میانی^۸ (MTLE) می باشند. تحقیقات بر روی مکانیسم‌های افزایش استعداد به تشنج در بیماران مبتلا به TLE بیشتر بر تغییرات مورفولوژیک و عملکردی در hippocampus proper و مهم‌ترین ساختارهای ورودی و خروجی آن مانند قشر انتورینال و آمیگدال تاکید دارد [۸].

مطالعات گذشته نشان می دهند که در بیماران خود ایمن، احتمال بروز تشنجات چند برابر این احتمال در افراد سالم جامعه است [۲۴]. برای مثال در بیماری SLE^۹، بیماری خود ایمنی که دستگاه‌های مختلف بدن از جمله دستگاه گردش خون، تنفس و ... را درگیر می کند، احتمال بروز صرع در حدود ۲۰-۱۰٪ است و این در حالی است که احتمال بروز صرع در جامعه نرمال حدود ۵-۰/۵٪ است [۱، ۴۴]. این مطالعات نشان می دهند که آنتی بادی‌های خود ایمن (Autoantibodies) سبب افزایش احتمال بروز تشنجات شده و احتمالاً در روند صرع زایی نقش دارند [۴۵].

۲-۲- مدل صرعی پیلوکارپین

^۸ Mesial Temporal Lobe Epilepsy

^۹ Systemic Lupus Erythematosus

استفاده از مدل های آزمایشگاهی ایجاد صرع در شناخت هر چه بهتر مکانیسم ها و عوامل دخیل در صرع، ارزیابی داروهای ضد صرع و دستیابی به روش های درمانی مؤثر در این بیماری بسیار مفید می باشد. مدل صرعی پیلوکارپین، صرعی مشابه با صرع لوب گیجگاهی در انسان ایجاد می کند. در مدل پیلوکارپین، تشنجات خودبخودی، پاسخ به داروهای ضد تشنج و آسیب مغزی مشابهی با صرع لوب گیجگاهی انسان مشاهده میشود [۴،۵]. این مدل برای اولین بار توسط Turski و همکارانش در سال ۱۹۸۳ معرفی شد [۴۶]. پیلوکارپین یک داروی موسکارینی مقلد استیل کولین است و تزریق سیستمیک آن به عنوان یک داروی مقلد کولینرژیک به موشهای صحرایی باعث ایجاد صرع حاد و مزمن با منشاء لوب تمپورال می شود [۴۷].

مکانیسم عمل پیلوکارپین هنوز بطور کامل مشخص نمی باشد اما بطور یقین مشخص شده است که پیلوکارپین سبب تغییرات سلولی بسیاری در مغز می شود. بعنوان مثال جسم سیاه، قشر بویایی، آمیگدال، هیپوکمپ، سیتوم، قشر گیجگاهی و تالاموس پس از تزریق سیستمیک پیلوکارپین دچار تغییرات مورفولوژیک و تخریب سلولی زیادی می شوند [۴۸]. سلولهای گلیال همانند سلولهای عصبی دچار تخریب سلولی وسیعی در مدل صرعی پیلوکارپین می شوند [۴۹]. همچنین مطالعات بافت شناختی شیمیایی نشان داده اند که تشنجات ناشی از پیلوکارپین سبب آسیب سلولی در بسیاری از نقاط مغز شامل شکاف هیپوکمپ (hippocampal gyrus) (در لایه های CA1 و CA3)، شکاف دنداندار، قشر پیریرم و قشر انتورینال می شود [۵۰]. آزاد سازی گلوتامات از مسیرهای تحریکی هیپوکمپ سبب آسیب نورونی و صدمات مغزی در استاتوس اپیلپتیکوس ناشی از پیلوکارپین می شود. اعتقاد بر این است که اثر پیلوکارپین بر آزادسازی اسید آمینه تحریکی گلوامات و نوراپی نفرین سبب این اختلالات در کارکرد طبیعی مغز می شود [۵۱].

مدل صرعی پیلوکارپین سه مرحله متمایز را نشان می دهد:

۱) مرحله حاد (Acute Phase) یا استاتوس اپیلپتیکوس (۲) مرحله نهفته (Latent Period) که از نظر مدت زمان متغیر می باشد، هیچگونه علائم رفتاری و الکتروانسفالوگرافیک وجود ندارد. (۳) مرحله مزمن (Chronic Period) که با وقوع خودبخودی تشنجات لیمبیک مشخص می گردد [۶].

۲-۲-۱ - استاتوس اپیلپتیکوس^{۱۰} (SE)

به تشنجات مداومی که بیش از ۵ دقیقه طول بکشند یا دو یا چند تشنج جداگانه که بین آنها هوشیاری بطور کامل بر نمی گردد، استاتوس اپیلپتیکوس (SE) اطلاق می شود [۵۲، ۵۳]. اتفاق بر این است که پایه SE، طول مدت فعالیت های تشنجی است نه نوع تشنجات. بنابر این تمامی انواع تشنجات ممکن است در SE وجود داشته باشند [۵۴]. SE، رایجترین بیماری اورژانسی نورولوژیک است که با مرگ و میر بالایی همراه می باشد [۱۰].

SE سبب excitotoxicity به واسطه گلوتامات، فعال شدن آپوپتوز و ایجاد نکروز می شود و به این طریق منجر به مرگ نورونها می شود [۵۵، ۵۶]. اسکروز لوب گیجگاهی میانی متداولترین آسیب اکتسابی مغز در SE می باشد که ممکن است از excitotoxicity ناشی شود. همچنین عقیده بر این است که گلوتامات بطور مستقیم مسئول مرگ سلولی می باشد اما نقش نوروترانسمیتری گلوتامات هنوز مشخص نمی باشد [۱۰]. گلوتامات اکثر اثرات تحریکی خود را از طریق اثر بر گیرنده های NMDA^{۱۱} اعمال می نماید [۵۷] که از این طریق درون شارش کلسیم به داخل سلول و مرگ سلولی حاد و ناشی از آپوپتوز را تسهیل می کند [۵۵]. کلسیم داخل سلولی تجزیه آنزیمی اجزای داخل سلولی را فعال کرده و منجر به نقص عملکرد میتوکندری، نارسایی انرژی سلولی و مرگ نکروتیک سلولها در SE می شود، شبیه به آنچه که در ایسکمی مغزی رخ می دهد [۵۷].

¹⁰ Status Epilepticus

¹¹ N-methyl-D-aspartate

تشنجات حاد سبب فعال شدن گلیا ها (glia)، افزایش بیان فاکتورهای نسخه برداری و سایتوکاینها می شوند که منجر به پاسخهای التهابی می شود [۲۳،۵۸]. سایتوکاینها در فعال سازی آستروسیتها و میکروگلیاها اثر دارند. میکروگلیاها و آستروسیتها فعال شده در اثر آسیب بافتی، خود منبعی غنی از سایتوکاینها بخصوص IL-6^{۱۲}، TGF-β^{۱۳} و IL-1^{۱۴} هستند [۵۹]. در مطالعه ای که بر صرع لوب گیجگاهی میانی در انسان انجام گرفته است، میکروگلیاها فعال شده در هیپوکمپ اسکلوروتیک حدود ۱۰ برابر افزایش یافته بودند [۶۰]. بیان سایتوکاینهای التهابی مانند IL-1b و گیرنده آن IL-1R1 و همچنین NF-kB^{۱۵} در نورونها و گلیاها در صرع لوب گیجگاهی به مقدار زیادی افزایش می یابد [۶۱].

پاسخ التهابی بعد از وقوع تشنج در موشهای صحرایی بالغ، شدید، مزمن و بادوام می باشد. این پاسخها، به همراه مرگ سلولی ناشی از تشنج و توسعه تشنجهای خودبخودی متعاقب آن می باشند [۲۴].

۲-۲-۲- دوره نهفته (LP)^{۱۶}

دوره نهفته، فاصله زمانی است که از خاتمه SE تا وقوع اولین تشنج خودبخودی را در بر می گیرد. بعد از مرگ سلولی که در اثر آسیب اولیه ناشی از SE ایجاد می شود، در دوره LP، مرگ سلولی دیده می شود که مرگ سلولی تاخیری (delayed cell death) نامیده می شود [۶۲]. در دوره نهفته، مغز در اثر آسیب وارده دچار تغییرات سلولی و مولکولی می شود که سبب افزایش تحریک پذیری و در نهایت وقوع تشنجات خودبخودی می گردد. وقایع سلولی که سبب ایجاد تحریک پذیری بالا در صرع می شود به درستی شناخته نشده است ولی از جمله این تغییرات سلولی می توان به سیناپس سازی مجدد، مرگ سلولهای عصبی، میکروگلیوز (microgliosis)، نوروزنز (neurogenesis)، آستروگلیوز (astrogliosis) و شاخه شاخه شدن آکسونی (axonal sprouting) اشاره کرد [۱۳،۱۴]. در نتیجه محرک صرع زایی که تغییرات سلولی فوق را

¹² Interleukin-6

¹³ Tumor Growth Factor-β

¹⁴ Interleukin-1

¹⁵ Nuclear factor-kB

¹⁶ Latent Period