بسم الله
الرحمن الرحیم

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی ارشد

خانم نوشین احمدی راد رشته فیزیولوژی پایان‌نامه کارشناسی ارشد خود را با عنوان « بررسی تاثیر مینوسایکلین بر روند کیندلینگ شیمیایی ناشی از تزریق PTZ در موش های کوچک آزمایشگاهی » در تاریخ ۱۳۹۰/۳/۱۰ ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر سید جواد میر نجفی زاده	(استاد راهنما)
دکتر محمد جوان	(استاد مشاور)
دکتر محمد سیاح	(استاد ناظر)
دکتر سعید سمنانیان	(استاد ناظرو نماینده تحصیلات تکمیلی)

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(اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) 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 ۴- 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 ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ 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.

«**اینجانب نوشین احمدی راد** دانشجوی رشته**فیزیولوژی**ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۷** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

امضا تاریخ

۹۰/۳/۳۰

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 علمیپژوهشی 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 **۱۳۹۰** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **جناب آقای دکترسیدجوادمیرنجفی زاده** ، مشاوره **جناب آقای دکترمحمدجوان** 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 سازاد 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 به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه سذکور 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 ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **نوشین احمدی راد** دانشجوی رشته فیزیولوژی مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

۹۰/۲/۳۰

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی

عنوان

بررسی تأثیر مینوسایکلین برروندکیندلینگ شیمیایی ناشی از تزریق PTZدر موش های کوچک آزمایشگاهی

نگارش

نوشین احمدی راد

استاد راهنما

دکترسید جواد میرنجفی زاده

استاد مشاور

دکتر محمد جوان

بهار 1390

چکیده

هدف: التهاب یکی از مکانیسم های ایجاد تشنج مـی باشـد. در ایـن مطالعـه تـأثیر داروی ضـد التهـاب مینوسایکلین بر کیندلینگ شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش : کیندلینگ شیمیایی در موش های کوچک آزمایشگاهی با تزریق دوزهای زیر آسـتانه ی PTZ (37 mg/kg) هر 48 ساعت یک بارتزریق شد. حیوانات به چهار گروه تقسیم شدند: گروه کنتـرل کـه حیوانـات فقـط سـالین دریافـت کردنـد، گـروه PTZ، کـه حیوانـات فقـط PTZ دریافـت کردنـد، گـروه minocycline+ PTZ ، مینوسایکلین با دوز25mg/kg، یک ساعت قبل از PTZ، تزریق شد. یک سـاعت پـس از آخـرین تزریـق PTZ مغـز حیوانـات خـارج شـد و تغییـرات بیـان ژن گیرنـدهTNF-α ، زیرواحـدγ_2 ، گیرندهGABA$_A$ و زیرواحدNR2A گیرندهNMDA در هیپوکمپ و قشر پیریفورم بررسی شدند.

نتایج: مینوسایکلین هنگامی که قبل از PTZ تزریق شود، می تواند مدت زمان تاخیر رسیدن بـه مرحلـه 4 تشنج را افـزایش دهـد. عـلاوه بـر ایـن تزریـق مینوسـایکلین قبـل از PTZ از افـزایش زیرواحـد NR$_2$A گیرندهNMDA در هیپوکمپ موش های کیندل شده جلوگیری کـرد. ایـن دارو از تـاثیر افزایشـی ناشـی از PTZ بر زیرواحدγ_2 ، گیرندهGABA$_A$ نیز جلوگیری کـرد. ایـن اثـرات همـراه بـا کـاهش گیرنـدهTNF-α در هیپوکمپ و قشر پیریفورم بود. مینوسایکلین احتمالا" اثر ضد تشنجی دارد و این اثر را از طریق کاهش زیر واحد گیرنده هایNMDA و GABA$_A$ به همـراه کـاهش در گیرنـده TNF-α کـه یکـی از شاخصـه هـای التهابی است، اعمال می کند.

واژگان کلیدی: مینوسـایکلین، کینـدلینگPTZ ، تشـنج، التهـاب، گیرنـده GABA$_A$، گیرنـده NMDA، گیرنــده TNF-α.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری برمطالعات گذشته 1

1-1 مقدمه 2

1-2 مروری برمطالعات گذشته 4

1-2-1 صرع 4

1-2-2 انواع صرع 4

1-2-3 مکانیسم های عمومی ایجادصرع 5

1-2-4 روش های مطالعه صرع 6

1-2-5 مدل صرعی کیندلینگ 7

1-2-6 انواع کیندلینگ 7

1-2-7 کیندلینگ شیمیایی باپنتیلن تترازول 8

1-2-8 مکانیسم‌های صرع زایی توسط پنتیلن تترازول 9

1-2-9 صرع والتهاب 11

1-2- 10 مینوسایکلین 13

1-2-11 مکانیسم عمل مینوسایکلین 13

1-2-12 هدف ازتحقیق حاضر 16

فصل دوم: موادوروش‌ها 17

2-1 ایجادکیندلینگ درحیوانات 18

2-2 کمیت های موردراندازه گیری 19

2-2-1 کمیت های رفتاری تشنجات 19

2-2-2بیان ژنهای 2γگیرنده $GABA_A$ زیرواحدNR2AگیرندهNMDAوگیرندهTNF-α 20

2-2-2-1 موادودستگاه های مورداستفاده دربخشهای مختلف مطالعات مولکولی 20

2-2-2-2 اندازه گیری بیان ژن های γ_2 گیرنده $GABA_A$ زیرواحد NR2A گیرنده NMDA وگیرنده TNF-α 21

2-2-3. ساختcDNA 22

2-2-2-5 الکتروفورزنمونه ها 24

2-2-5 گروه های آزمایشی 24

2-6 روش تجزیه وتحلیل آماری 25

فصل سوم: نتایج و یافته‌ها 26

3-1 نتایج حاصل از بررسی کمیت های تشنجی 27

3-2 نتایج مطالعات مولکولی 31

3-2-1 بهینه سازی شرایطواکنشPCR 31

3-2-1-1 تغییرات بیان ژن زیر واحد γ_2گیرنده$GABA_A$ 32

3-2-1-2 تغییرات بیان ژن زیر واحد NR_2A گیرندهNMDA 33

3-2-2-3 تغییرات بیان ژن گیرندهTNF-α 36

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها 39

4-1 بحث 40

4-2 نتیجه گیری 45

4-3 پیشنهادها 46

فهرست منابع 47

چکیده انگلیسی 56

فهرست شکل‌ها

شکل3-1. مقایسه حمله تشنجی بین گروه PTZ و گروه هایی که مینوسایکلین دریافت کرده اند. 28

شکل3-2. مقایسه میانگین مدت زمان سپری شده تا وقوع مرحله دوم تشنج بین گروه PTZ و گروه هایی که مینوسایکلین دریافت کرده اند. 29

شکل3-3 مقایسه میانگین مدت زمان سپری شده تا وقوع مرحله تشنجات عمومی بین گروه PTZ و گروه هایی که مینوسایکلین دریافت کرده اند..... 30

شکل3-4 مقایسه میانگین مدت زمانی که حیوان در مرحله تشنجات عمومی به سر می برد بین گروه PTZ و گروهی که مینوسایکلین را قبل و یا بعد از تزریق PTZ دریافت کرده اند. 31

شکل3-5. بررسی میزان محصول برای مقادیر مختلف cDNA ورودی به واکنش PCR پس از بهینه سازی 33

شکل 3-6. بررسی تغییرات بیان ژن زیر واحد γ_2 گیرنده $GABA_A$ پس از کیندلینگ، در بافت هیپوکمپ و پیریفورم ... 35

شکل 3-7 . تغییرات بیان ژن NR2A گیرنده NMDA پس از کیندلینگ دربافت هیپوکمپ و پیریفورم.....36

شکل3-8. تغییرات بیان ژن گیرنده TNF-α پس از کیندلینگ در بافت هیپوکمپ و در قشر پیریفورم 38

فصل اول

مقدمه و
مروری بر مطالعات گذشته

1-1 مقدمه

صرع[1]شایع ترین اختلال عصبی بعد از سکته مغزی و آلزایمر می باشد و از دیرباز از جمله بیماری‌های عصبی رایج در انسان بوده است[1،2]. بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک بیش از یک درصد مردم دنیا از این بیماری رنج می‌برند [3]. به منظور شناخت مکانیسم ها و عوامل دخیل در ایجاد صرع و پایداری آن، ارزیابی داروهای ضد صرع و دستیابی به روش های موثر و مناسب در درمان این بیماری، مدل های آزمایشگاهی مختلفی مطرح شده است[4،5،6]. از بین مدل های تجربی صرع، از روش هایی استفاده می شود که قادر به ایجاد حمله های تشنجی با بیشترین شباهت به موارد بالینی باشد. در اختلالات صرعی حملات متناوب حسی، حرکتی، اتونومیک یا روانی رخ می‌دهد [7]. حملات صرعی در نتیجه‌ی عدم توازن در مهار و تحریک ارتباطات نورونی ایجاد می‌شوند که خود به علت تخلیه‌های ناگهانی و کنترل نشده‌ی نورون‌ها در سیستم عصبی مرکزی به وجود می‌آیند [8]. به دلیل غیر اخلاقی بودن آزمایش بر روی انسان، اغلب مطالعات در زمینه‌ی صرع بر روی مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع در حیوانات انجام می‌گیرد که از مهمترین آنها می‌توان به مدل کیندلینگ اشاره کرد [9،10].

کیندلینگ[2] یک مدل in vivo برای مطالعه صرع‌زایی و صرع می‌باشد و یکی از بهترین مدل های صرع بوده به طوری که بسیاری از دانسته های ما راجع به عملکرد صرع، از مطالعه کیندلینگ به دست آمده است. در کیندلینگ تحریکات زیرآستانه (که در ابتدا قادر به ایجاد تشنج در حیوان نیستند) و متوالی مغز

[1]- Epilepsy
[2]- Kindling

در فواصل زمانی منظم، سبب ایجاد تشنجات پیش رونده می‌گردند که در نهایت به ایجاد حملات تونیک-کلونیک عمومی منجر می‌شوند [11]. به دلیل شباهت زیاد کیندلینگ با انواع صرع انسانی [13]، هر چه دانش ما از مکانیسم‌های دخیل در ایجاد یا مهار کیندلینگ بیشتر شود، شناخت ما از مکانیسم‌های ایجاد صرع بیشتر خواهد بود.

کیندلینگ بر اساس نوع محرک، به دو نوع شیمیایی و الکتریکی تقسیم می‌شود. در کیندلینگ الکتریکی از محرک الکتریکی زیر آستانه استفاده می‌شود که با اعمال آن به یک ناحیه‌ی خاص از مغز، تخلیه‌های متعاقب در محل تحریک قابل ثبت می‌باشند. هیچ رفتار تشنجی آشکاری در ابتدا وجود نخواهد داشت اما به تدریج با تکرار تحریکات، رفتار تشنجی در حیوان ظاهر می‌شود [11]. در کیندلینگ شیمیایی، مواد شیمیایی تشنج‌زا با دوزهایی که در ابتدا قادر به ایجاد تشنج کامل نیستند، به طور متوالی و با فواصل زمانی منظم به حیوان تزریق می‌گردند [14]. کیندلینگ شمیایی به عنوان مدلی آزمایشگاهی برای صرع لوب گیجگاهی می باشدکه با کاربرد مکرر موادشیمیایی تشنج زا مانند پنتیلن تترازول استفاده می شود. برای ایجاد کیندلینگ شیمیایی از مواد شیمیایی مختلفی از جمله پیکروتوکسین، پنتیلن تترازول (PTZ) و پنی‌سیلین استفاده می‌شود [15]. PTZ یک ماده‌ی شیمیایی مهار کننده‌ی سیستم گاباارژیک و از عوامل متداول برای القای فعالیت صرعی است [16]. در مدل مرسوم کیندلینگ شیمیایی با واسطه‌ی PTZ، دوزهای زیر آستانه‌ای آن، هر 48 ساعت یک‌بار به حیوان تزریق می‌گردند [12].

2-1 مروری بر مطالعات گذشته

1-2-1 صرع

به طور کلی به فعالیت الکتریکی غیرطبیعی، همزمان و آشفته‌ی دسته‌ای از نورون‌ها، تشنج[1] گفته می‌شود [2]. چنانچه تشنج‌ها به صورت خودبخودی، غیر قابل پیش بینی و راجعه بروز کنند، نوعی اختلال

[1]- Seizure

عصبی به نام صرع ایجاد شده است. صرع به اشکال مختلف شامل آشفتگی در رفتار، حس، ادراک و حرکت دیده می‌شود [7]. این آشفتگی‌ها ممکن است با تغییر در سطح هوشیاری همراه باشند [7].

1-2-2 انواع صرع

بر اساس تقسیم بندی که توسط انجمن بین المللی مقابله با صرع[1] در سال 1981 صورت گرفته است، تشنجات صرعی به سه دسته کلی موضعی[2]، عمومی[3] و طبقه بندی نشده تقسیم می‌شوند [17]. در صرع موضعی، تشنجات در ناحیه مشخصی ایجاد می‌شوند. این نوع صرع به دو دسته پیچیده[4]، ساده[5] تقسیم می‌گردد. نزدیک به 60 درصد افراد مصروع، صرع موضعی دارند. در صرع موضعی، تشنجات صرعی محدود به ناحیه مشخصی از مغز بوده و بر اساس اینکه هوشیاری فرد طی وقوع تشنجات حفظ شود و یا از دست برود به ترتیب، دو نوع ساده و پیچیده برای این نوع صرع در نظر گرفته می‌شود. انواع تشنجات موضعی ساده بر اساس نشانه‌های حرکتی از یکدیگر قابل تمیز می‌باشند. در تشنج‌های موضعی پیچیده، منشأ ایجاد تشنج، لوب گیجگاهی و یا سیستم لیمبیک می‌باشد. این نوع تشنج‌ها اغلب همراه با حرکات خودبه-خودیهستند.

در تشنج‌های عمومی، کانون صرع محدود به ناحیه خاصی نبوده و نواحی وسیعی از مغز را در بر می-گیرد؛ لذا علائم رفتاری پیچیده‌تری نسبت به صرع‌های موضعی بروز می‌کند و بر اساس همین علائم، این تشنجات به انواع مختلفی از جمله صرع کوچک، تونیک، کلونیک و تونیک کلونیک یا صرع بزرگ تقسیم می‌شوند [16]. برخی از انواع تشنج‌های موضعی در ابتدا دارای کانون تشنجی مشخصی هستند اما به تدریج به نواحی دیگری از مغز گسترش می‌یابند و به شکل تشنجات عمومی بروز می‌کنند که به آنها

[1]- International League Against Epilepsy
[2]- Partial
[3]- Genaralized
[4]- Complex
[5]- Simple

تشنج‌های عمومی ثانویه اطلاق می‌شود [16]. تشنج‌های طبقه‌بندی نشده آن دسته از تشنجاتی هستند که در هیچ‌یک از گروه‌بندی‌های فوق قرار نمی‌گیرند [17].

1-2-3 مکانیسم‌های عمومی ایجاد صرع

مغز از مدارهای موضعی فراوانی تشکیل شده است که با یکدیگر ارتباط‌های مهاری و یا تحریکی دارند. علاوه بر آن، مدارهای هر ناحیه از مغز عمدتاً ورودی‌هایی را هم 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 مدارهای مهاری را به نفع تحریک تغییر دهد، موجب القای فعالیت صرعی می‌شود [7]. بر اساس مطالعات مختلفی که در این زمینه صورت گرفته است، فرضیه‌هایی برای ایجاد و انتشار تشنج‌ها مطرح شده است نظیر تغییر در آوران‌های تحریکی و مهاری، تغییر در غلظت یون-های خارج سلولی، تغییر در زمان‌بندی باز و بسته شدن کانال‌های یونی وابسته به ولتاژ و افزایش همزمانی تخلیه‌های نورونی [18،19]. البته امروزه به عقیده بعضی، التهاب ممکن است عامل ایجاد صرع باشد و ایجاد التهاب به عنوان یکی از مکانیسم های ایجاد تشنج در نظر گرفته شده است.

مهمترین نشانه‌ی الکتروفیزیولوژی وجود صرع در یک بیمار، ثبت اسپایک‌های غیرطبیعی در EEG فرد می‌باشد [20]. چنانچه این اسپایک‌ها در حین حملات تشنجی ثبت گردند، تخلیه‌های حمله‌ای و چنانچه در زمان بین حملات تشنجی ثبت شوند، تخلیه‌های بین حمله‌ای نامیده می‌شوند. بنابراین تخلیه‌های حمله‌ای همراه با بروز رفتار تشنجی در فرد می‌باشند اما در هنگام ثبت تخلیه‌های بین حمله‌ای هیچ‌گونه رفتار تشنجی در فرد مشاهده نمی‌شود.

1-2-4 روش‌های مطالعه صرع

به منظور شناخت هر چه بهتر 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 و به دلیل غیر اخلاقی

بودن آزمایش بر روی انسان، در اغلب مطالعات از مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع استفاده می‌شود. مدل-های آزمایشگاهی مختلفی برای ایجاد صرع و تشنج وجود دارد که ار آن جمله می‌توان به مدل صرعی الکتروشوک، مدل شیمیایی، مدل ژنتیکی و کیندلینگ اشاره کرد [20]. هر یک از این روش‌ها دارای مزایا و محدودیت‌های خاص خود هستند و برای مطالعه نوع یا انواع خاصی از اختلالات صرعی در انسان مورد مطالعه قرار می‌گیرند [20].

1-2-5 مدل صرعی کیندلینگ

کیندلینگ یکی از رایج‌ترین مدل‌های ایجاد تشنج به صورت مزمن می‌باشد [21]. در این مدل اعمال تحریکات تشنج‌زا با فواصل زمانی منظم و با شدت زیر آستانه به مغز، به تدریج با گذشت زمان، سبب بروز رفتار تشنجی در حیوان می‌گردد [22]. پس از هر تحریک، رفتار تشنجی شدیدتر شده و سرانجام به بروز تشنج تونیک کلونیک می‌انجامد. اولین بار Goddard (در سال 1969) به اهمیت این پدیده پی برد و اصطلاح کیندلینگ (به معنای شعله‌ور شدن آتش) را برای این پدیده به‌کار برد [11].

1-2-6 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 زیر آستانه به صورت مکرر و موضعی در یکی از جایگاه‌های حساس مغز، تشنجات ایجاد می‌گردند [11]. کیندلینگ الکتریکی توسط شدت، مدت و فرکانس جریان الکتریکی و نقطه‌ای از مغز که جریان الکتریکی را دریافت می‌کند، قابل کنترل است.

مدل کیندلینگ الکتریکی از این لحاظ دارای مزیت است که به شدت قابل کنترل بوده و کمیت‌های موج تحریک را می‌توان به دقت اندازه‌گیری و کنترل کرد. به علاوه، در این روش می‌توان نواحی مختلف مغزی را از نظر توانایی ایجاد رفتارهای تشنجی با هم مقایسه کرد. محدودیت این روش فراهم کردن

دستگاه‌ها و لوازم ویژه برای ایجاد و تنظیم دقیق موج الکتریکی و ثبت امواج مغزی است. علاوه بر آن بیهوشی که در هنگام آماده کردن حیوان برای کارگذاری الکترود لازم است، ممکن است ثبات غشاهای نورونی و در نتیجه پاسخ آنها به فرآیند کیندلینگ را تغییر دهد.

ب- کیندلینگ شیمیایی: در این روش مواد شیمیایی تشنج‌زا به صورت مکرر و با غلظت‌هایی که در ابتدا قادر به ایجاد تشنج کامل نیست، به حیوان تزریق می‌شود [12]. تزریق این مواد می‌تواند به صورت سیستمیک یا تزریق مستقیم به داخل مغز حیوان باشد. این مواد با مکانیسم‌های مختلفی باعث افزایش تحریک یا کاهش مهار می‌شوند. مهمترین مواد شیمیایی تشنج‌زایی که معمولاً در کیندلینگ شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارتند از: پنتیلن تترازول، پیلوکارپین، بیکوکولین، استریکنین، پنی‌سیلین، کوکائین و اسید کاینیک [15]. هر یک از این مواد نوع خاصی از صرع را ایجاد می‌کنند.

کیندلینگ شیمیایی به ابزار کمی نیاز دارد، در عین حال، در این مدل کمیت‌هایی مانند حلالیت ماده شیمیایی و میزان جریان خون در نواحی مختلف مغزی می‌توانند نتایج آزمایش را تحت تأثیر قرار دهند. تشنجات ایجاد شده با PTZ قابل پیش بینی بوده (خودبه‌خودی نمی‌باشند) و علاوه بر آن دارای قابلیت کمی شدن می‌باشند [20].از این مدل می‌توان به منظور بررسی مکانیسم‌های دخیل در ایجاد تشنج و بروز صرع استفاده کرد [20].

1-2-7 کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول

PTZ، عامل شیمیایی تشنج‌زای اولیه از دسته مواد شیمیایی تشنج‌زای است [16]. تجویز دوز حاد این ترکیب، تشنجات قوی ایجاد می‌کند، اما برای اولین بار، مزون و کوپر مشاهده کردند که تزریق مکرر دوزهای زیر آستانه‌ای PTZ در موش‌های صحرایی می‌تواند پدیده‌ای شبیه کیندلینگ الکتریکی ایجاد کند [12]. آنها در سال 1972 این پدیده را تحت عنوان کیندلینگ شیمیایی نامگذاری کردند [12]. کیندلینگ شیمیایی با تجویز دوزهای زیر آستانه‌ای PTZ، به عنوان مدلی برای ایجاد صرع عمومی مزمن پذیرفته شده است [21]. از دوزهای مختلف PTZ برای کیندل کردن حیوانات استفاده می‌شود؛ لازم به

ذکر است که تزریق دوز حاد PTZ در مقایسه با تجویز دوزهای مکـرر و زیـر آسـتانه‌ای آن اثـرات متفـاوتی دارد. به عنوان مثال، دوزهای کیندل کننده‌ی PTZ سبب ایجاد تغییرات طـولانی مـدت و پایـدار در تعـداد گیرنده‌های گلوتاماتی هیپوکمپ و قشر مخ، کاهش تعداد جایگاه‌های باندشـدن گلوتامـات در هیپوکمـپ و قشر مخ و تغییر در میزان فعالیت آنزیم‌های متابولیکی مغـز مـی‌گـردد؛ امـا تجـویز دوز حـاد PTZ چنـین تغییراتی را ایجاد نمی‌کند[23].

فرآیند کیندلینگ PTZ بسیار شبیه کیندلینگ الکتریکی بوده و علاوه بر آن، این دو پدیده می‌توانند بـا یکدیگر تداخل نیز داشته باشند [24]. به عنوان مثال، موش‌های صحرایی پـس از کینـدل شـدن ناحیـه‌ی آمیگدال، به PTZ پاسخ قوی‌تری می‌دهند [24]؛ همچنین تجویز داخل صفاقی دوزهای زیرآسـتانه‌ای PTZ می‌تواند سبب تسریع پیشرفت کیندلینگ الکتریکی ناحیه‌ی آمیگـدال گـردد [25]. امـا بایـد یـادآور شـد تشنجات کیندل شده‌ای که به وسیله PTZ ایجاد می‌شوند به صورت تشنجات تونیک-کلونیک عمومی بـروز می‌کنند در حالی که تحریک الکتریکی مکرر ناحیه‌ی آمیگدال سبب ایجـاد تشـنجات موضـعی پیچیـده‌ای می‌شود که به صورت ثانویه عمومی می‌گردند [16].

1-2-8 مکانیسم‌های صرع‌زایی توسط پنتیلن‌تترازول

تا کنون مکانیسم‌های متنوعی برای برای عمل تشنج‌زایی PTZ پیشنهاد شده است و هنـوز هـم روز بـه روز بر تعداد آنها افزوده می‌شود؛ اما مکانیسم اصلی که به طور سنتی برای آن مطرح بوده اسـت اتصـال بـه جایگاه پیکروتوکسین گیرنده‌های گابا نوع A و مهار آنها می‌باشد و بنـابراین باعـث کـاهش هـدایت کلـر از طریق کانال این گیرنده می‌گردد [26]. گابا میانجی عصـبی مهـاری اصـلی در مغـز اسـت و PTZ بـا مهـار گیرنده‌های گابای نوع A، توانایی سیستم‌های مهاری را در مغز کاهش داده و سبب بـروز تشـنج مـی‌گـردد [26]. به عنوان مثال نشان داده شده است که PTZ می‌تواند S^{35}-TBPS را که لیگاند جایگاه پیکروتوکسـین گیرنده‌های گابای نوع A است را به صورت وابسته به غلظت از جایگاه خود خارج سازد و خود جـایگزین آن گردد [26].

همچنین نشان داده شده است که پس از تزریق یک دوز تشنج‌زای PTZ تغییرات سریعی در میزان گیرنده‌های گابا A ایجاد می‌شود. این تغییرات شامل کاهش میزان باند شدن جایگاه گابا و بنزودیازپین‌ها در گیرنده‌های گابای نوع A ، کاهش موقتی mRNA زیر واحدهای α_1 در و β_2 در قشر مخ و مخچه و کاهش میزان mRNA زیر واحد γ_2 در هیپوکمپ ، قشر مخ و مخچه است [27]. این تغییرات پس از 48 ساعت دوباره به سطح طبیعی بر می‌گردد [27]. کیندلینگ PTZ سبب افزایش رهایش گابا در هیپوکمپ نیز می‌گردد و این افزایش رهایش گابا سبب کاهش حساسیت گیرنده‌های گابا در این ناحیه می‌گردد [26].

مطالعه توزیع بیان پروتیین c-fosپس از وقوع تشنجات نشان داده است که PTZ تغییرات عمده‌ای را در قشر مخ و ناحیه هیپوکمپ ایجاد می‌کند [28]. داده‌های الکتروفیزیولوژیک نیز نشان داده‌اند که کیندلینگ PTZ سبب افزایش تحریک‌پذیری در لایه‌های عمیق‌تر قشر نو می‌گردد و این ناحیه می‌تواند به عنوان جایگاه اولیه تغییرات مرتبط با کیندلینگ PTZمحسوب گردد [29].

برخی مطالعات تغییراتی را در سیستم‌های تحریکی، پس از کیندلینگ PTZ، گزارش کرده‌اند. به عنوان میزان باند شدن L-[^{3}H]–گلوتامات در هیپوکمپ و قشر نو موش‌های صحرایی کیندل شده با PTZ افزایش می‌یابد [18و 27]. با استفاده از تکنیک میکرودیالیز نیز مشخص گردیده است که پس از تزریق PTZ سطح گلوتامات در قشر مخ موش‌های صحرایی کیندل افزایش می‌یابد [30]. نشان داده شده است که این افزایش بیش از حد گلوتامات سبب ایجاد آسیب سلولی در ناحیه هیپوکمپ می‌گردد [31]. برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که در مراحل اولیه روند کیندلینگ افزایش رهایش میانجی‌های عصبی تحریکی نظیر گلوتامات و آسپارتات رخ می دهد اما پس از تکمیل روند کیندلینگ، تعداد جایگاه‌های باند شدن آمینو اسید گلوتامات افزایش می‌یابد [31].

کیندلینگ PTZ ممکن است وابسته به عملکرد گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی باشد؛ زیرا ماده MK-801، آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA، به صورت وابسته به غلظت از پیشرفت کیندلینگ جلوگیری می‌کند

[32،33]. علاوه بر آن، تیمار حیوانات با MK-801 قبل از آغـاز تزریقـات PTZاز کـاهش بانـد شـدن [^{3}H] GABA و باند شدن [^{35}S]-TBPS در قشر مخ حیوانات کیندل شده جلوگیری می‌کند [31]. بر پایـه‌ی ایـن مشاهدات پیشنهاد شده است که افزایش انتقال سیناپسی با واسطه گیرنده‌های NMDA همـراه بـا کـاهش عملکرد سیستم‌های گابا ارژیک نقش مهمی در القای کیندلینگ PTZ دارد [32]. همچنین بیان زیر واحـد گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی در طی روند کیندلینگ دچار تغییراتی می‌شود که این تغییرات بسته به نوع زیر واحد و ناحیه‌ی مغزی، متفاوتند [33]. به عنوان مثال بیان زیر واحد های NR_1 و NR_2A در قشر مـخ و هیپوکمپ افزایش پیدا می‌کند اما در میزان بیان زیر واحـد NR_2B (بخصـوص در هیپوکمـپ و قشـر مغـز) تغییرات معنی‌داری مشاهده نمی شود [33]. پس از تکمیل روند کیندلینگ، میزان بیـان زیـر واحـد هـای NR_1 و NR_2A در هیپوکمپ، قشر مخ و استریاتوم کاهش می‌یابد [33]. تغییر در میزان بیان سه زیر واحـد مذکور (NR1 ، NR2A و NR2B) در استریاتوم مشابه قشر مخ است و پیشنهاد شده اسـت کـه تغییـر بیـان این زیر واحدها در استریاتوم ممکن است نقش مهمـی در تعـدیل فعالیـت تشـنجی ناشـی از تزریـق PTZ داشته باشد [34]. با توجه به اینکه زیر واحـدهای NR_2A نسـبت بـه زیـر واحـدهای NR_2B در طـی رونـد کیندلینگ، تغییر بیان بیشتری را متحمل می‌گردند، این زیر واحد ها ممکن است در ایجاد تشنجات ناشـی از تزریقات کیندل کننده‌ی PTZ نقش مهمی داشته باشند [33] .

از سوی دیگر نشان داده شده است که مسیرهای کلسیمی در پیشرفت کیندلینگ PTZ دخالـت دارنـد. مهار کانال‌های وابسته به ولتاژ کلسیمی نوع L سبب تضعیف روند کیندلینگ PTZ و کاهش تقویت ناشی از تزریقات PTZ در سلول‌های گرانولی شکنج دندانه دار می‌گردد [21]. با توجه به این که التهاب نیز یکـی از مکانیسم های ایجاد تشنج می باشد، احتمال دارد که در مدل صرعی کیندلینگ PTZ نیز وقـوع التهـاب در بروز حملات تشنجی نقش داشته باشد[35].