







Research Article

Study of Anticonvulsant Effects of Carbamazepine During Epileptic Process by Unilateral Kindling of CA1 Dorsal Hippocampus in Adult Male Rats

Reza Moghaddasi ^{1,*}, Zohreh Ghotbeddin ², Ahmad Ali Moazedi ³,
Mohammad Reza Akhond ⁴

¹ PhD of Physiology, Department of Biology, Faculty of science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

² Associate Professor of Physiology, Dept. of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

³ Prof. of Physiology, Department of Biology, Faculty of science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Statistics, Mathematical Sciences and Computer Faculty, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

* **Corresponding author:** Reza Moghaddasi, PhD of Physiology, Department of Biology, Faculty of science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran. E-mail: ghr.moghaddasi@gmail.com

DOI: [10.52547/nkums.13.3.95](https://doi.org/10.52547/nkums.13.3.95)

How to Cite this Article:

Moghaddasi R, Ghotbeddin Z, Moazedi AA, Akhond MR. Study of Anticonvulsant Effects of Carbamazepine During Epileptic Process by Unilateral Kindling of CA1 Dorsal Hippocampus in Adult Male Rats. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2021;**13**(3):95-101. DOI: 10.29252/nkjms-130312

Received: 14 Mar 2021

Accepted: 18 May 2021

Keywords:

Epilepsy, Duration & Severity of Seizure, Afterdischarge Duration

Abstract

Introduction: Epilepsy is a chronic and multifactorial disease with recurrent seizures. Carbamazepine is the most common drug used to treat epilepsy. In this research project, the anticonvulsant effects of carbamazepine on the seizure parameters in adult male rats during dorsal hippocampal are investigated epilepsy by electrical kindling method.

Methods: This study is experimental. In this study, 49 adult male rats were randomly divided into 7 groups: control, surgical control and drug control, Kindler, drug-Kindler groups. Animals in the Kindler group received daily kindling stimuli rapidly in the CA1 region of the dorsal hippocampus. In the drug-kindler groups (CBZ20K and CBZ40K), 20 mg/kg and 40 mg/kg of carbamazepine were injected before receiving kindling stimuli. In the methylcellulose + kindler (MCK) group, before receiving kindling stimuli, the value 0.2 ml of methylcellulose solution was injected. Seizure intensity indices, duration of after discharge, and duration of seizures were recorded during execution. After words, data analysis concerning seizure behavior was conducted using ANOVA and Kruskal Wallis tests.

Results: The results show that there is a significant difference between the mean seizure severities in comparison between the two groups. However, there is no significant difference between the mean duration of after discharge in the two groups MCK and CBZ40K. In addition, there is no statistically significant difference between the mean duration of seizures in the two groups KND and MCK.

Conclusions: The results show that the effective amount of carbamazepine in the CBZ40K group reduces the severity of seizures, the duration of after discharge and the duration of seizures compared to rats in the KND group.



مطالعه اثرات ضد تشنجی کاربامازپین در طی فرایند صرع زائی با روش کیندلینگ یک

طرفه ی ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی در موش های صحرایی نر بالغ

رضا مقدسی^{۱*}، زهره قطب الدین^۲، احمد علی معاضدی^۳، محمدرضا آخوند^۴^۱ دکتری فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران^۲ دانشیار فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران^۳ استاد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران^۴ استادیار گروه آمار، دانشکده آمار، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول: رضا مقدسی، دکتری فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

ایمیل: ghr.moghaddasi@gmail.com

DOI: 10.52547/nkums.13.3.95

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۰۹	چکیده
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۲	مقدمه: صرع، نوعی بیماری مزمن و چندعاملی همراه با تشنج های ناگهانی تکراری است. کاربامازپین، معمول ترین دارو برای درمان صرع می باشد. در این طرح تحقیقاتی، به بررسی اثرات ضد تشنجی کاربامازپین، در طی صرع زائی ناحیه هیپوکامپ پستی با روش کیندلینگ الکتریکی، بر شاخص های تشنجی در موش های صحرایی نر بالغ پرداخته می شود.
واژگان کلیدی: صرع، شدت و مدت تشنج، امواج تخلیه متعاقب	روش کار: این مطالعه از نوع تجربی است. در این مطالعه تعداد ۴۹ سر موش صحرایی نر بالغ به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند: کنترل، شاهد جراحی و شاهد دارو، کیندل، گروه های دریافت کننده دارو-کیندل و گروه حلال-کیندل. حیوانات گروه کیندل (KND)، تحریکات روزانه کیندلینگ را به روش سریع، در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی دریافت می کردند. در گروه های دارو-کیندل (CBZ40K و CBZ20K)، قبل از دریافت تحریکات کیندلینگ، مقادیر ۲۰ mg/kg و ۴۰ mg/kg داروی کاربامازپین تزریق می شد. در گروه متیل سلولز+کیندل (MCK)، قبل از دریافت تحریکات کیندلینگ، مقدار ۲ میلی لیتر محلول ۵٪ متیل سلولز (کمک حلال کاربامازپین) تزریق می شد. شاخص های شدت تشنج، مدت امواج تخلیه متعاقب و مدت تشنج در ضمن اجرا ثبت می شدند. تجزیه و تحلیل داده های رفتار تشنجی با استفاده از آزمون های آنالیز واریانس و کروسکال-والیس انجام شدند. یافته ها: نتایج نشان می دهند که، بین میانگین شدت تشنج در مقایسه دو به دوی گروه ها اختلاف معنی دار وجود دارد ولی، بین میانگین مدت امواج تخلیه متعاقب در دو گروه MCK و CBZ40K اختلاف معنی دار وجود ندارد. به علاوه، بین میانگین مدت تشنج در دو گروه KND و MCK اختلاف معنی دار آماری وجود ندارد.
	نتیجه گیری: نتایج نشان می دهند که مقدار موثر (۴۰ mg/kg) کاربامازپین در گروه CBZ40K موجب کاهش شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت تشنج در مقایسه با موش های صحرایی گروه KND می شود.

مقدمه

دو نوع کانونی و منتشر است. تشنج کانونی از شبکه های عصبی یک نیم کره مغز منشأ می گیرد. در حالی که، تشنج منتشر از شبکه های عصبی دو نیم کره مغزی منشأ گرفته و به سرعت گسترش می یابد (۴). کیندلینگ الکتریکی یکی از بهترین مدل های مطالعه صرع لوب گیجگاهی است. بیشتر اطلاعات ما از بیماری صرع با استفاده از این مدل به دست آمده است (۶). کیندلینگ الکتریکی، معمولاً به دو روش سریع (Rapid kindling, RK) و مزمن یا آهسته (سنتی یا کلاسیک) (Chronic or Slow Kindling (SK)) انجام می گیرد (۷). در روش مزمن یا آهسته، روزانه یک بار کانون تشنج تحریک می شود (۸). در حالی که، در روش سریع تعداد تحریکات الکتریکی روزانه بیش از یک بار است (۹). هیپوکامپ و ساختارهای دیگر لوب گیجگاهی میانی اغلب در ایجاد صرع نقش دارند. تحریک الکتریکی در مناطق مختلف مغز،

صرع، نوعی بیماری مزمن و چندعاملی است که با تشنج های ناگهانی و تکراری متمایز می شود (۱). این بیماری یکی از مهم ترین بیماری های عصبی رایج در دنیا است که می تواند در هر سنی رخ دهد. در صورت عدم درمان صرع مشکلات زیادی برای بیماران به وجود می آید (۱). تعداد مبتلایان به این بیماری در ایران ۱/۵ درصد است که از متوسط جهانی بالاتر است (۲). بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک سینگ (Sing) و ترویک (۳) در سال ۲۰۱۶ در حدود ۹۰ درصد از ۷۰ میلیون بیمار صرعی در کل جهان در کشورهای در حال توسعه زندگی می کنند. به علاوه، هر سال ۲/۴ میلیون نفر در کل جهان به این آمار افزوده می شود (۳). تشنج یا حمله عصبی، رویدادی حمله ای ناشی از فعالیت نورونی هم زمان و فوق العاده غیرطبیعی در مغز است. به عبارت دیگر، تشنج رویدادی محدود و مختل کننده عملکرد مغز می باشد که در نتیجه تخلیه غیرطبیعی نورون ها روی می دهد (۵). به طور کلی، تشنج شامل

تحریک کیندلینگ (فرکانس ۵۰ هرتز، مدت ۳ ثانیه با فاصله ۵ دقیقه) دریافت می‌کردند. ۵ و ۶. دارو+کیندلینگ (CBZ20K) و (CBZ40K): قبل از تحریکات کیندلینگ، مقادیر 20mg/kg و 40mg/kg کاربامازپین دریافت می‌کردند. ۷. متیل سلولز+کیندلینگ (MCK): قبل از تحریکات کیندلینگ، ۲ میلی لیتر محلول متیل سلولز (کمک حلال کاربامازپین) تزریق می‌شد. دستورالعمل کیندلینگ سریع در کلیه گروه‌ها یکسان و همانند گروه کیندل می‌باشد.

ب- پروتکل جراحی، آستانه‌گیری و اعمال تحریکات: برای ساخت الکترودهای سه قطبی از مفتول فلزی "استیل ضد زنگ با روکش تفلونی" به قطر ۰/۰۸ اینچ (A-M SYSTEM) استفاده شد. الکترود یک قطبی، با استفاده از مفتول مسی نازک ساخته شد.

جراحی حیوانات: برای استقرار الکترودهای سه قطبی و یک قطبی در هیپوکامپ پشته موش صحرایی، بی‌هوشی از طریق تزریق درون صفاقی کتامین، ساخت شرکت Alfasan هلند، 100mg/kg و زایلازین، ساخت شرکت Alfasan هلند، 40mg/kg، انجام و سر حیوان در استرئوتاگس (STOELTING، آمریکا) ثابت شد (۱۶). سپس با برش پوست سر، مختصات برگما و لامدا خوانش و بر اساس اطلس پاکسینوس-واتسون، منطقه هیپوکامپ پشته یا CA1 (2/5mm) به سمت عقب و 1/8 mm به سمت راست برگما و 2/8 mm زیر سخت شامه در سطح جمجمه علامت گذاری شد (۱۷). در مرحله بعد، جمجمه سوراخ شده، و الکترود سه قطبی، به آرامی، وارد هیپوکامپ پشته شد. الکترود تک قطبی نیز، به استخوان پیشانی جمجمه متصل شد. پس از آن، الکترودها از طریق پین‌های مخابراتی به سوکت مخابراتی دوگانه متصل شدند. در پایان، سوکت مخابراتی با استفاده از سیمان دندان پزشکی (پودر آکرل، شرکت آکروپارس، ایران) بر روی جمجمه تثبیت گردید. در پایان، حیوانات دوره بهبودی و دست‌آموز شدن را در خانه حیوانات گذراندند (۱۸).

تعیین آستانه: برای به دست آوردن حداقل شدت تحریک ایجاد کیندلینگ، ابتدا با جریانی به شدت ۳۰ میکروآمپر ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی تحریک می‌شد (دستگاه الکتروماژول و نرم افزار e-Probe، شرکت پرتودانش). اگر امواج تخلیه متعاقب مناسب ثبت می‌شد، این شدت به عنوان شدت جریان آستانه شناخته می‌شد. در غیر این صورت، هر بار شدت جریان ۱۰ میکروآمپر به فواصل ۵ دقیقه افزایش داده می‌شد تا وقتی که امواج تخلیه متعاقب مناسب ثبت گردد.

تحریک برای ایجاد کیندلینگ: حیوانات با موج مربع تک فازی (فرکانس ۵۰ هرتز، با شدت تولید امواج تخلیه متعاقب، مدت پالس ۱/ میلی ثانیه و به مدت ۳ ثانیه) تحریک شدند. این تحریکات به صورت روزانه (۱۲ بار، با فاصله ۱۰ دقیقه)، در طی ۶ روز اعمال شدند (۱۹). پس از تحریک، امواج الکتریکی مغزی توسط الکترود ثبت می‌شدند (دستگاه الکتروماژول و نرم افزار e-Probe، شرکت پرتودانش). کمیت‌های ثبت شده عبارتند از:

مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (Afterdischarge duration; ADD): میانگین مدت زمان تخلیه امواج متعاقب (ثانیه) از روز اول تحریکات الکتریکی تا پایان روز آخر تحریکات.

شدت تشنج (seizure score; SS): بر اساس معیارهای ریسین ۵ مرحله تقسیم می‌شود: مرحله ۱: حرکات غیرارادی صورت. مرحله ۲:

مانند هیپوکامپ، باعث افزایش پاسخ‌های صرعی به تحریکات بعدی می‌شود (۱۰).

هم زمان با توسعه مدل‌های حیوانی صرع، داروهای زیادی معرفی شده‌اند که به خوبی توانسته‌اند تشنج را در انسان کنترل کنند. ولی هنوز ۳۰٪ بیماران از تشنج‌های غیر قابل کنترل و عوارض ناشی از تشنج رنج می‌برند. بنابراین، هنوز نیاز به بررسی دقیق پاتولوژی (آسیب‌شناسی)، معرفی ترکیبات ضد تشنجی جدید و همچنین یافتن مدل‌های جدید حیوانی احساس می‌شود (۱۱). کاربامازپین (Carbamazepine; CBZ)، یکی از پرمصرف‌ترین داروهای ضد تشنجی بیماران صرعی است. این دارو برای درمان صرع لوب گیجگاهی و پیشگیری از تشنج‌های موضعی ساده و پیچیده استفاده می‌شود (۱۲). کاربامازپین، از طریق افزایش زمان غیرفعال کانال‌های ولتاژی سدیمی در نورون پیش‌سیناپسی، توانایی آن را برای فرکانس زیاد پتانسیل‌های عمل تکراری، کاهش و تشنج را متوقف می‌کند. همچنین، آزادسازی میانجی-عصبی از نورون پیش‌سیناپسی را مهار می‌کند. بنابراین، در مجموع انتقال سیناپسی را کاهش می‌دهد (۱۳). کاربامازپین، اثر بازدارندگی قوی بر تشنج‌های حرکتی خودبخودی در موش‌های صحرایی کیندلی دارد. کاربامازپین، به طور معنی‌داری آستانه تشنج را افزایش، مدت زمان تخلیه متعاقب و شدت تشنج را در موش‌های صحرایی کیندلی کاهش می‌دهد (۱۴). متأسفانه، استفاده از داروهای ضد صرع عوارض مختلفی مانند اختلال در تمرکز و عدم هماهنگی حرکات را به دنبال دارد. مثلاً کاربامازپین باعث کندی حرکت، کاهش چالاکی و آسیب به حافظه می‌شود (۲). به طور غیرمنتظره‌ای، داروهای ضد تشنج ممکن است باعث القای تشنج شوند. مثلاً، کاربامازپین باعث افزایش تشنج‌های موضعی پیچیده می‌شود (۱۵).

با توجه به نقش کلیدی هیپوکامپ در فرایند صرع‌زایی (epileptogenesis)، وجود گزارش‌های متناقض درباره اثربخشی و عوارض متعدد داروهای ضد صرع، ضرورت پژوهش‌های کاربردی درباره اثرات داروهای ضد صرع بر شاخص‌های رفتار تشنجی بیماران و تعیین پروتکل‌های درمانی جدید احساس می‌شود. لذا در این کار تحقیقاتی، از به بررسی اثرات ضد تشنجی داروی کاربامازپین در طی روند کیندلینگ هیپوکامپ استفاده شده است.

روش کار

الف. حیوانات: در این مطالعه تجربی از ۴۹ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی (25±25 گرم) استفاده شد. تمام مراحل آزمایش بر اساس دستور العمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید چمران اهواز، با کد (EE97/3/24+ 61254/SCU.AC.IR) طراحی و اجرا شد. حیوانات در شرایط استاندارد، ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 22±2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ثابت (55±5 درصد) نگهداری شدند. تمام حیوانات به طور آزاد به آب و غذا (کنسانتره پلت، شرکت خوراک دام پارس، تهران، جاده مخصوص کرج) دسترسی داشتند. یک هفته پس از سازش حیوانات با شرایط محیط، به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند.

گروه‌های مورد مطالعه شامل: ۱. کنترل (CTR): ۲. شاهد جراحی (۱۱)، ۳. شاهد دارو (MC)، ۴. کیندل (KND): روزانه ۱۲

CBZ20K بیشتر از گروه KND است. گروه CBZ20K، به طور شگفت‌آوری بیشترین میانگین شدت تشنج را نشان می‌دهد. در نقطه مقابل، گروه CBZ40K کمترین میزان شدت تشنج را نشان می‌دهد (نمودار ۱).

میانگین مدت امواج تخلیه متعاقب در گروه KND ($19/09 \pm 1/41$) با گروه‌های CBZ20K ($26/41 \pm 1/52$)، CBZ40K ($9/55 \pm 0/839$) و MCK ($13/29 \pm 1/14$) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0.05$). میانگین مدت امواج تخلیه متعاقب در گروه‌های MCK و CBZ40K کمتر و در گروه CBZ20K بیشتر از گروه KND می‌باشد. میانگین مدت امواج تخلیه متعاقب، در گروه CBZ20K بیشترین و در گروه CBZ40K کمترین مقدار می‌باشد (نمودار ۲).

بر اساس نتایج میانگین مدت تشنج در گروه KND ($63/71 \pm 4/89$) نسبت به گروه MCK ($67/31 \pm 5/9$) اختلاف معنی‌داری در سطح خطای ۵ درصد نداشت. همچنین، میانگین مدت تشنج در گروه CBZ40K ($42/16 \pm 4/62$) کمتر و در گروه CBZ20K ($6/8 \pm 1/4/65$) بیشتر از گروه KND می‌باشد. به علاوه، گروه CBZ20K بیشترین و گروه CBZ40K کمترین مقدار میانگین مدت تشنج را دارا می‌باشند. کاهش مدت تشنج بین گروه CBZ40K با KND نیز، از نظر آماری معنی‌دار است ($p=0.045$) (نمودار ۳).

در **نمودارهای ۱، ۲ و ۳** مقدار میانگین و خطای استاندارد شاخص‌های تشنجی موش‌های صحرایی به تفکیک برای چهار گروه KND، MCK، CBZ20K، CBZ40K مشخص شده است. بنابراین، با توجه به نتایج آزمون توکی می‌توان دریافت که بین میانگین شدت تشنج در مقایسه دو به دوی گروه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود دارد. همچنین، بین میانگین مدت امواج تخلیه متعاقب در دو گروه MCK و CBZ40K اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. بین میانگین مدت تشنج در دو گروه KND و MCK اختلاف معنی‌دار آماری وجود ندارد.

بنابراین، نتایج نشان می‌دهند که مقدار موثر کاربامازپین در گروه CBZ40K موجب کاهش شدت تشنج، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب و مدت تشنج در مقایسه با موش‌های صحرایی گروه KND می‌شود.

حرکت نوسانی سر به بالا و پایین (Head nodding)، مرحله ۳: کلونوس متناوب یکی از اندام‌های حرکتی جلویی (Forelimb clonus)، مرحله ۴: ایستادن روی هر دو پای عقبی توام با کلونوس هر دو اندام جلویی (Rearing)، مرحله ۵: ایستادن روی هر دو پای عقبی، عدم تعادل (Rearing and falling) (۱۸).

مدت زمان کل تشنج (Seizure duration; SD): مدت زمان بین اعمال تحریک به حیوان تا خاتمه علائم تشنج.

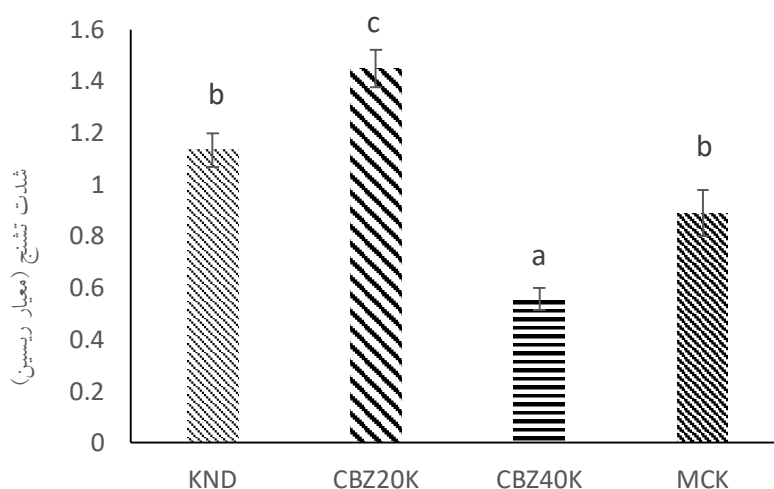
ج- تزریق کاربامازپین و کمک حلال متیل سلولز: مقادیر ۴ و ۸ میلی- گرم کاربامازپین (سیگما-الدیریش، آلمان) را به صورت روزانه در ۲ میلی‌لیتر کمک‌حلال حل نموده و به صورت درون صفاقی تزریق می‌شد. در گروه شاهد دارو (MC)، مقدار مشابهی محلول متیل سلولز به صورت درون صفاقی تزریق می‌شد (۱۲، ۱۴).

د- تجزیه و تحلیل آماری: برای آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد میانگین، بیان شد. برای همگنی واریانس‌ها از آزمون لون (Leven) استفاده شد. در کلیه آزمون‌ها در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها و همگن بودن واریانس‌ها از پس آزمون توکی (Tukey) و در صورت همگن نبودن از آزمون ناپارامتری کروسکال - والیس (Kruskal-Wallis) استفاده شد. همچنین در تمامی موارد $p < 0/05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

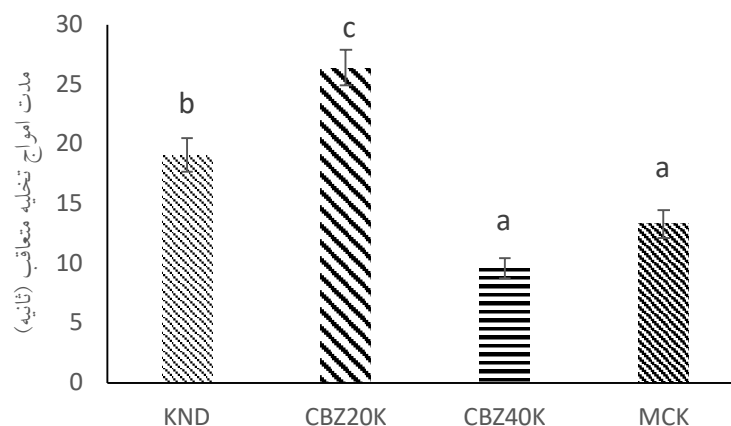
یافته‌ها

شاخص‌های الکتروفیزیولوژیکی تشنج در ضمن ثبت الکتروفیزیولوژیکی از ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی در حین فرایند صرع‌زائی ناشی از کیندلینگ الکتریکی شامل شدت تشنج (SS)، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD) و مدت تشنج (SD) می‌باشند.

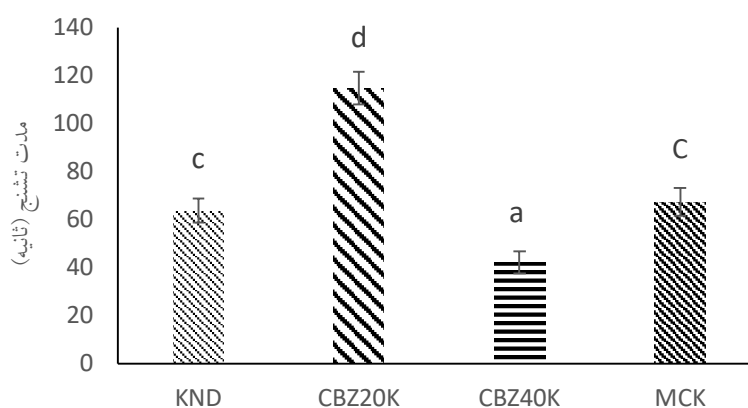
نتایج نشان می‌دهد که بین میانگین شدت تشنج (شاخص ریسین) در گروه KND ($1/13 \pm 0/066$) با گروه‌های CBZ20K ($0/45 \pm 0/074$)، CBZ40K ($0/56 \pm 0/043$) و MCK ($0/89 \pm 0/051$) اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$) و میانگین شدت تشنج در گروه‌های MCK و CBZ40K کمتر و در گروه



نمودار ۱. مطالعه اثر تجویز کاربامازپین بر میانگین شدت تشنج (معیار ریسین) در گروه‌های مورد مطالعه. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند. حروف کوچک نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($p < 0/05$) ($n=7$).



نمودار ۲. مطالعه اثر تجویز کاربامازپین بر میانگین مدت امواج تخلیه متعاقب در گروه‌های مورد مطالعه. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند. حروف کوچک نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($p < 0.05$) ($n=7$).



نمودار ۳. مطالعه اثر تجویز کاربامازپین بر میانگین مدت تشنج در گروه‌های مورد مطالعه. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند. حروف کوچک نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($p < 0.05$) ($n=7$).

صحرایی به مراحل تشنج عمومی (مراحل ۴ و ۵ ریسین) را نیز کاهش داده است.

کاربامازپین، در مدل کیندلینگ الکتریکی آمیگدال موش صحرایی، آستانه تشنج را افزایش، ولی شدت تشنج و مدت امواج تخلیه متعاقب را کاهش می‌دهد (۲۱). به طور غیرمنتظره‌ای، داروهای ضد تشنج ممکن است باعث القای تشنج شوند. مثلاً، کاربامازپین باعث افزایش تشنج‌های موضعی پیچیده می‌شود. به نظر می‌رسد، در استفاده بالینی داروها، عواملی از قبیل انتخاب نادرست داروها در درمان نشانگان صرعی یا نوع تشنج، واکنش‌های متناقض (Paradoxical) داروها، القای انسفالوپاتی داروهای ضد صرع، ایجاد سرخوشی توسط دارو و در بیماران با تشنج‌های پیچیده باعث افزایش تشنج می‌شوند (۱۵). در پژوهش ما نیز مقدار موثر کاربامازپین، شدت تشنج و مدت امواج تخلیه متعاقب و مدت تشنج را کاهش داده است. این در حالی است که، تزریق روزانه مقدار غیر موثر کاربامازپین، باعث افزایش شدید شاخص‌های تشنجی شده است.

مطالعات دیگری با استفاده از کیندلینگ الکتریکی موش صحرایی نشان می‌دهند که فنی‌توئین و کاربامازپین در کاهش تشنج‌های کانونی تأثیر زیادی ندارند. برعکس، والپروات در جلوگیری از تشنج‌های کانونی بسیار

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز مقدار موثر کاربامازپین (40 mg/kg) در طی فرایند صرع‌زائی هیپوکامپ پستی اثر کاهشی معنی‌داری بر شاخص‌های الکتروفیزیولوژیکی رفتار تشنجی دارد. ولی، مقدار غیر موثر کاربامازپین (20 mg/kg) اثر تشنج‌زایی دارد و شاخص‌های تشنجی موش صحرایی را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (نمودارهای ۱، ۲ و ۳).

کاربامازپین، یکی از پرمصرف‌ترین داروهای ضد صرع برای درمان صرع لوب گیجگاهی است که از طریق انسداد کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ، اثرات ضد تشنجی خود را اعمال می‌کند. امروزه، اثر بازدارندگی قوی کاربامازپین بر تشنج‌های حرکتی خودبخودی در موش‌های صحرایی کیندلی، به اثبات رسیده است (۱۲). کاربامازپین از طریق مهار کانال‌های سدیمی تشنج کانونی و تشنج عمومی تونیک-کلونیک را مهار می‌کند؛ ولی بر تشنج‌های غیبی و میوکلونیک تأثیر ندارد (۲۰). مطالعه ما نشان می‌دهد که تزریق روزانه مقدار موثر کاربامازپین قبل از شروع کیندلینگ الکتریکی سریع هیپوکامپ پستی در طی روند صرع‌زائی، علاوه بر کاهش شدید شاخص‌های تشنجی، احتمال ورود موش‌های

نورون‌ها مهار می‌کند. همچنین، با اثر بر پایانه پیش‌سیناپسی، انتقال سیناپسی را کاهش می‌دهد. احتمال می‌رود، این اثرات عامل خاصیت ضد تشنجی کاربامازپین باشد (۲). کاربامازپین، علاوه بر مهار کانال‌های سدیمی، به مقدار کمتر کانال‌های کلسمی (نوع L) و گیرنده‌های بنزودیازپین‌ها، مانند GABA_A را نیز مهار می‌کند. همچنین بر گیرنده‌های مونوآمین، استیل‌کولین و NMDA نیز موثر است (۲۷). کاربامازپین، در پیشگیری از تشنج‌های موضعی ساده و پیچیده و در ممانعت از تبدیل تشنج‌های ساده به عمومی موثر است (۱۲). اثربخشی کاربامازپین در مهار تشنج‌های صرعی ناشی از ماکزیمال الکتروشوک در جوندگان مختلف و بایون نیز به خوبی اثبات شده‌است. این دارو همچنین، ضمن مهار فرایند صرع‌زائی در هیپوکامپ و مناطق قشری مخ در حیوانات آزمایشگاهی، تشنج‌های کیندلی سامانه کناری (لیمبیک) و قشری را در گربه‌ها، بایون و خرگوش مهار می‌کند (۲۸). نتایج حاصل از بررسی اثر مقادیر مختلف کاربامازپین بر شاخص‌های تشنجی نشان داد که، مقادیر غیرموثر دارو اثرات تشنج‌زای شدیدی در موش‌های صحرایی نر کیندلی دارد. مطالعات متعددی نشان می‌دهد که، عوامل مختلف مانند روش‌های اجرا، عوامل زیستی و دارویی در ارزیابی اثربخشی داروهای ضد صرع در آزمایشگاه تاثیر دارند. همچنین، به نظر لوشر نوع حلال، مدل حیوانی و اثرات فصلی در پاسخ‌های دارویی نقش دارند (۲۲). تزریق مقدار موثر کاربامازپین در پژوهش ما، علاوه بر کاهش شدت و مدت تشنج، احتمال بروز تشنج‌های عمومی را نیز به شدت کاهش داده است.

امروزه ثابت شده است که کاربامازپین بر فرایند صرع‌زائی هیپوکامپ و مناطق قشری مخ در نمونه‌های آزمایشگاهی و تشنج‌های کیندلی سامانه لیمبیک موثر است. همچنین، باعث توقف یا کوتاه شدن مدت زمان تشنج و تخلیه‌های متعاقب در حیوانات آزمایشگاهی کیندلی، به ویژه در کیندلینگ آمیگدال می‌شود. کاربامازپین، شدت تشنج ناشی از هیپوکسی و تحریک الکتریکی مستقیم قشر مخ را در موش صحرایی کاهش می‌دهد. این دارو، در تشنج‌های ناشی از کیندلینگ آمیگدال در جوندگان نیز موثر است. بنابراین، به نظر می‌رسد کاربامازپین، بر صرع موضعی انسانی و در شروع تشنج و عمومی شدن آن نیز موثر است (۲۹). با توجه به این که در اکثر مطالعات انجام شده بر روی تغییرات نورونی پس از تشنج، کاهش قابل توجه تعداد و تراکم نورون‌های مناطق مورد بررسی دیده شده است؛ به نظر می‌رسد این دارو به عنوان ماده محافظت‌کننده نورونی پس از حمله‌های تشنجی عمل می‌نماید (۳۰). بنابراین، پژوهش‌های ما ضمن تأیید اثر ضد تشنجی کاربامازپین در مقدار موثر، نشان می‌دهد که مقدار غیرموثر این دارو در موش‌های صحرایی کیندلی باعث افزایش شاخص‌های تشنجی می‌شود. به عبارت دیگر، دوز غیر موثر کاربامازپین در موش‌های صحرایی کیندلی، اثرات تشنج زائی دارد.

پیشنهادهات

پیشنهاد می‌شود تاثیر کاربامازپین به صورت پلی‌ترابی همراه با داروهای ضد تشنجی دیگر و به صورت توام با تحریک الکتریکی بر روند صرع‌زایی در طی کیندلینگ ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی بررسی شود. همچنین با استفاده از میانجی‌های عصبی نشان‌دار،

موثر است. در مطالعات بالینی، فنی‌توئین و کاربامازپین در درمان تشنج‌های کانونی نسبت به والپروات موثرترند. این دواگانگی در اثربخشی داروها در مدل کیندلینگ تشنج و پاسخ‌های بالینی ممکن است به دلیل تفاوت در حساسیت به داروها در موش صحرایی باشد (۲۲).

در مطالعات لوشر (Loscher) و همکاران اثر ضد تشنجی فنی‌توئین در تعداد زیادی از موش‌های صحرایی کیندلی آمیگدال مشاهده شده است. آنها مشاهده کردند که در صورت استفاده از آستانه تشنج کانونی برای ارزیابی اثر ضد تشنجی دارو، حدود ۶۰ درصد موش‌ها واکنش متغیری به فنی‌توئین نشان می‌دهند (۲۳). نتایج به دست آمده از مطالعه گرابن-استاتر و همکارانش (Grabenstein et al.) با استفاده از مدل صرعی کاینیک‌اسید در موش صحرایی؛ نشان می‌دهد که کاربامازپین باعث کاهش فراوانی تشنج‌های خودبخودی در مدل صرعی موش‌های صحرایی به روش وابسته به دوز شده است. همچنین، کاربامازپین هیچ تأثیر قابل توجهی بر مدت زمان تشنج خودبخودی بدون در نظر گرفتن نوع تشنج نداشته است. از طرف دیگر، مدت و شدت تشنج مستقل از فاصله زمانی بین تشنج‌های قبلی بوده است (۲۴).

تحریک نواحی دیگر مغز، مانند هیپوکامپ یا قشر مخ، نیز باعث ایجاد تشنج‌های کیندلی می‌شود. کامی و همکارانش (Kamei et al.) اثرات چندین داروی ضد تشنج را بر تشنج‌های کیندلی نواحی نئوکورتکس، هیپوکامپ و آمیگدال موش صحرایی مقایسه کردند. آنها همچنین گسترش تشنج (صرع‌زائی) را نیز در این سه ناحیه مغز بررسی کردند. براساس نتایج کامی، کیندلینگ موش‌های صحرایی در آمیگدال تشنجات عمومی را سریع‌تر از هیپوکامپ و نئوکورتکس نشان می‌دهد. اگرچه، گسترش تشنج در کیندلینگ نئوکورتکس مشابه گسترش تشنج در کیندلینگ سامانه لیمبیک است؛ ولی روزهای بیشتری برای ایجاد اثرات تشنجی مشابه در نئوکورتکس لازم است (۲۵).

در مطالعات کامی و همکاران داروهای ضد صرعی فنی‌توئین (تزریق وریدی)، فنوباریتال، کاربامازپین، و دیازپام اثرات ضد تشنجی در تشنج‌های کیندلی نئوکورتکس نشان دادند. همچنین، فنوباریتال و کاربامازپین باعث مهار تشنج ناشی از کیندلینگ هیپوکامپ شدند؛ در حالی که فنی‌توئین و دیازپام اثر کم‌تری داشتند. فنوباریتال و دیازپام موجب کاهش شدید تشنج ناشی از کیندلینگ آمیگدال شدند، اما اثر فنی‌توئین و کاربامازپین بر تشنج ناشی از کیندلینگ آمیگدال ضعیف یا ناچیز بود (۲۵).

لوتمن و همکاران (Lothman et al.) با استفاده از مدل تشنج سریع هیپوکامپ (Rapidly Recurring Hippocampal Seizure) (RRHS)، به مطالعه اثرات ضد تشنجی داروهای ضد صرع پرداختند. رفتارهای تشنجی، تشنج‌های الکتروگرافیک، آستانه امواج تخلیه متعاقب، مدت امواج تخلیه متعاقب و سمیت دارویی قبل و بعد از تزریق داخل صفاقی اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج حاصله کاربامازپین، فنوباریتال، پرمیدون، والپروات و دیازپام موجب مهار رفتارهای تشنجی به صورت وابسته به دوز می‌شوند. ولی، فنی‌توئین به طور مداوم بر مدت امواج تخلیه متعاقب تأثیری نداشت. به علاوه، هیچ کدام از داروها بر آستانه امواج تخلیه متعاقب تأثیر نداشتند (۲۶).

کاربامازپین، در غلظت‌های درمانی و در محیط کشت ضمن مهار کانال‌های سدیمی، پتانسیل‌های عمل انفجاری مکرر با فرکانس بالا را در

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی به وسیله بودجه پژوهشی (گرت: ۹۶/۳/۲/۱۶۶۷۰) دانشگاه شهید چمران اهواز در آزمایشگاه الکتروفیزیولوژی دانشکده علوم به سرانجام رسیده است. لذا شایسته است از حمایت‌های بی‌دریغ و همه جانبه معاونت پژوهشی دانشگاه در تامین مالی پروژه تقدیر و تشکر شود. کد اخلاق: EE97/3/24-61254/SCU.AC.IR

تصویربرداری هم‌زمان از مغز و تهیه مقاطع بافتی مغز مراکز عصبی درگیر در تشنج و صرع شناسایی شود.

نتیجه گیری

بنابراین، به نظر می‌رسد کاربامازپین باعث کاهش میزان شاخص‌های الکتروفیزیولوژیکی رفتار تشنجی موش‌های صحرایی در طی فرایند کسب کیندلینگ می‌شود.

References

- Bertram GK. Basic and Clinical pharmacology: McGraw-Hill Companies; 2012.
- Riyasi HR, Taheri MMH, Zadeh GR, Chahkandook FH. An epidemiological study of epilepsy and some clinical aspects of hospitalized epileptic patients in Birjand Valli-e-Asr hospital (2004-2006). 2008.
- Singh A, Trevick S. The epidemiology of global epilepsy. 2016;34(4):837-847. [pmid: 27719996](#)
- Lowenstein DH. Seizures and Epilepsy. Harrison's Principles of Internal Medicine, 20e: MC GRAW-HILL; 2017.
- Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. 2017;58(4):512-521. [pmid: 28276062](#)
- Hargreave E. kindling , a model of focal epilepsy. *Neuroplasticity*. 2016;7.
- Morales JC, Álvarez-Ferradas C, Roncagliolo M, Fuenzalida M, Wellmann M, Nualart FJ, et al. A new rapid kindling variant for induction of cortical epileptogenesis in freely moving rats. *J Frontiers in cellular neurosci*. 2014;8:200. [doi: 10.3389/fncel.2014.00200](#)
- Kandratavicius L, Balista PA, Lopes-Aguiar C, Ruggiero RN, Umeoka EH, Garcia-Cairasco N, et al. Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2014;10:1693-1705. [doi: 10.2147/NDT.S50371](#) [pmid: 25228809](#)
- Wasterlain CG, Farber DB, Fairchild D. Cholinergic kindling: What has it taught us about epilepsy? 1985;63(2):119-132. [doi: 10.1007/BF01252612](#) [pmid: 3900291](#)
- Deshmukh SS, Knierim J. Hippocampus. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*. 2012;3(2):231-251. [doi: 10.1002/wcs.1164](#) [pmid: 26301397](#)
- Havasimehr M, Saffarzadeh F, Divanbeigi A, Karimzadeh F. A review on the animal models of seizure. *J Tehran Univ Med J TUMS Pub*. 2018;76(2):79-89.
- Srivastava AK, White H. Carbamazepine, but not valproate, displays pharmacoresistance in lamotrigine-resistant amygdala kindled rats. *J Epilepsy res*. 2013;104(1-2):26-34. [doi: 10.1016/j.eplepsyres.2012.10.003](#) [pmid: 23158096](#)
- Bron GVR, et al. Handbook OF Experimental Pharmacology: Springer Press; 2009.
- Srivastava AK, Alex AB, Wilcox KS, White HS. Rapid loss of efficacy to the antiseizure drugs lamotrigine and carbamazepine: a novel experimental model of pharmacoresistant epilepsy. *J Epilepsia*. 2013;54(7):1186-1194. [doi: 10.1111/epi.12234](#) [pmid: 23750799](#)
- Bauer J. Seizure-inducing effects of antiepileptic drugs: a review. *J Acta neurologica scandinavica*. 1996;94(6):367-377. [doi: 10.1111/j.1600-0404.1996.tb00047.x](#) [pmid: 9017023](#)
- McNamara J. Pursuit of the mechanisms of kindling. *J Trends in neurosci*. 1988;11(1):33-36. [doi: 10.1016/0166-2236\(88\)90047-1](#)
- Paxinos G, Watson C. The Rat Brain. London: Academic Press; 2005.
- Durmuller N, Porsolt RD. Current protocols in Pharmacology: John Wiley & Sons. Inc.; 2003.
- Racine R, Rose PA, Burnham WM. Afterdischarge thresholds and kindling rates in dorsal and ventral hippocampus and dentate gyrus. *J Canadian Journal of Neurological Sci*. 1977;4(4):273-278. [doi: 10.1017/S0317167100025117](#) [pmid: 597802](#)
- Rogawski MA, Cavazos JE. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *J Wyllie's treatment of epilepsy: Principles*. 2015:522-529.
- Ozen LJ, Young NA, Koshimori Y, Teskey GC. Low-frequency stimulation reverses kindling-induced neocortical motor map expansion. *J Neurosci*. 2008;153(1):300-307. [doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.01.051](#) [pmid: 18358627](#)
- Kupferberg H. Animal models used in the screening of antiepileptic drugs. *J Epilepsia*. 2001;42:7-12. [doi: 10.1046/j.1528-1157.2001.00002.x](#) [pmid: 11564118](#)
- Löscher W, Rundfeldt CHRIS. Kindling as a model of drug-resistant partial epilepsy: selection of phenytoin-resistant and nonresistant rats. *J Journal of Pharmacology*. 1991;258(2):483-489.
- Grabenstatter HL, Dudek FE. Effect of carbamazepine on spontaneous recurrent seizures recorded from the dentate gyrus in rats with kainate-induced epilepsy. *J Epilepsia*. 2019. [doi: 10.1111/epi.14680](#) [pmid: 30815862](#)
- Kamei C, Oka M, Masuda Y, Yoshida K, Shimizu M. Effects of 3-sulfamoylmethyl-1, 2-benzisoxazole (AD-810) and some antiepileptics on the kindled seizures in the neocortex, hippocampus and amygdala in rats. *J Archives internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*. 1981;249(1):164-176.
- Lothman EW, Salerno RA, Perlin JB, Kaiser DL. Screening and characterization of antiepileptic drugs with rapidly recurring hippocampal seizures in rats. *J Epilepsy res*. 1988;2(6):367-379. [doi: 10.1016/0920-1211\(88\)90048-4](#)
- Shorvon S, Guerrini R, Cook M, Lhatoo S. Oxford textbook of epilepsy and epileptic seizures: OUP Oxford; 2012.
- Eadie MJ, Vajda F. Antiepileptic drugs: pharmacology and therapeutics: Springer Science & Business Media; 2012.
- Born GVR, Cuatrecasas P, Ganten D, Herken H, Starke K, Taylor P. Handbook of Experimental Pharmacology. Berlin: Springer-Verlage; 1999.
- Albertson TE, Joy RM, Stark LG. A pharmacological study in the kindling model of epilepsy. *J Neuropharmacol*. 1984;23(10):1117-1123. [doi: 10.1016/0028-3908\(84\)90227-2](#)