Original Article

The effect of electrical low-frequency stimulation on balance and locomotor activity in adult male rats during epileptogenesis of dorsal hippocampal

Moghaddasi R[1], Moazedi AA[1], Ghotbeddin Z[2*], Akhond MR[3]

1- Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I. R. Iran.
2- Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I. R. Iran.
3- Department of Statistics, Mathematical Sciences and Computer Faculty, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I. R. Iran.

Received: 2018/07/27 | Accepted: 2018/11/26

Abstract:

Background: Epilepsy is the third world neurological disorder. Epileptic focus causes motor impairment by sending projections to different areas of the brain such as areas which are related to movement control. Regarding the inhibitory effect of low-frequency electrical stimulation (LFS) on seizure wave's transmission, this study aimed at examining the effect of LFS during the epileptogenesis of dorsal hippocampal on balance and locomotor activity in adult male rats using the kindling method.
Materials and Methods: Fifty rats were randomly divided into 5 groups: Control, Sham, Kindled, LFS and KLFS. Animals in the kindled group were stimulated rapidly by daily stimulation of dorsal hippocampus (1 ms pulse duration at 50Hz for 3 seconds). Animals in the sham and control groups did not receive any stimulation. In the LFS groups, four LFS packages at a frequency of 1 Hz were applied daily. At the end of stimulation, motor activity and balance were assessed by open-field and rotarod tests.
Results: Frequency of rearing and grooming in the Kindled group significantly increased compared to the control group ($P<0.05$). Balance in the Kindled group was significantly decreased ($P<0.05$). LFS induction during hippocampal kindling did not show any significant difference in any of the mentioned parameters with the control group.
Conclusion: In summary, applying low-frequency electrical stimulation during hippocampal kindling can reduce the motor activity and improve balance.

Keywords: Kindling, Low-frequency electrical stimulation, Balance, Motor activity, Rotarod, Open field, Rat

* **Corresponding Author.**
Email: z.ghotbeddin@scu.ac.ir
Tel: 0098 916 600 3655
Fax: 0098 61 333 60807

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 22, No 6, Pages 538-546

Please cite this article as: Moghaddasi R, Moazedi AA, Ghotbeddin Z, Akhond MR. The effect of electrical low-frequency stimulation on balance and locomotor activity in adult male rats during epileptogenesis of dorsal hippocampal. ***Feyz*** 2019; 22(6): 538-46.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]

اثر تحریک الکتریکی با فرکانس پائین در طی صرع‌زایی هیپوکمپ پشتی بر تعادل و فعالیت حرکتی در موش صحرایی نر بالغ

رضا مقدسی [۱]، احمد علی معاضدی [۲]، زهره قطب الدین [۳*]، محمدرضا آخوند [۴]

خلاصه:

سابقه و هدف: بیماری صرع سومین اختلال نورولوژیک در جهان است. کانون صرع با ارسال پایانه‌های عصبی به نواحی مختلف مغز ازجمله مناطق مرتبط با کنترل حرکت، باعث اختلالات حرکتی می‌شود. با توجه به اثر مهاری تحریک الکتریکی با فرکانس پایین (LFS) در انتقال امواج تشنجی، در این کار تحقیقاتی اثر LFS در طی صرع‌زائی هیپوکامپ پشتی با روش کیندلینگ بر تعادل و فعالیت حرکتی در موش صحرایی نر بالغ مطالعه شده است.

مواد و روش‌ها: تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ به‌طور تصادفی به ۵ گروه زیر تقسیم شدند: کنترل، شاهد، کیندل، LFS و KLFS. موش‌های گروه کیندل، تحریکات روزانه کیندلینگ را به روش سریع با مدت پالس ۱ میلی‌ثانیه و فرکانس ۵۰ هرتز به‌مدت ۳ ثانیه در ناحیه هیپوکامپ پشتی دریافت می‌کردند، اما حیوانات گروه کنترل و شاهد هیچ‌گونه تحریکی دریافت نمی‌کردند. در گروه LFS، هر روز ۴ بسته تحریک الکتریکی با فرکانس ۱ هرتز بلافاصله بعد از تحریکات کیندلینگ اعمال می‌شد. بعد از اتمام تحریکات، فعالیت حرکتی و تعادل به‌وسیله آزمون‌های جعبه باز و روتارود ارزیابی شدند.

نتایج: فرکانس ایستادن روی دو پا و خودتیماری در گروه کیندل نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت ($P<۰/۰۵$). تعادل در گروه کیندل کاهش معنی‌داری یافت ($P<۰/۰۵$) و اعمال LFS در طی کیندلینگ هیپوکامپ، در هیچ‌یک از پارامترهای ذکر شده تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نداد.

نتیجه‌گیری: در مجموع اعمال LFS در طی کیندلینگ هیپوکامپ میزان فعالیت حرکتی را کاهش داده و تعادل را بهبود می‌بخشد.

واژگان کلیدی: کیندلینگ، تحریک الکتریکی با فرکانس پایین، تعادل، فعالیت حرکتی، روتارود، جعبه باز، موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۹۷، صفحات ۵۴۶-۵۳۸

مقدمه

بیماری صرع، مهم‌ترین اختلال نورولوژیک است که بیش از ۷۰ میلیون نفر از مردم جهان از آن رنج می‌برند [۱]. این بیماری مجموعه‌ای از اختلالات نورولوژیک مزمن با علائم ناهمگون است که مهم‌ترین ویژگی آن حملات تشنجی خودبه‌خودیِ عودکننده و مکرر است [۲]. صرع لوب گیجگاهی متداول‌ترین شکل بیماری در بالغینِ مصروع و صرع مقاوم به دارو است که مدت‌ها به‌عنوان بزرگ‌ترین چالش پزشکی مطرح می‌شد.

در این بیماری تشنج به قشر مجاور و نورون‌های هیپوکامپ گسترش می‌یابد و باعث تخریب نورون‌ها و تغییرات نوروپاتو-لوژیکی نظیر آتروفی شدن و اسکلروزیس می‌شود [۳]. صرع لوب گیجگاهی را می‌توان به‌وسیله عوامل فارماکولوژیکی یا تحریک الکتریکی به‌روش کیندلینگ در جوندگان ایجاد کرد [۴]. کیندلینگ یک روش آزمایشگاهی برای ایجاد صرع است و معمولا به دو روش سریع و مزمن انجام می‌شود. در روش مزمن، روزانه یک‌بار کانون تشنج تحریک می‌شود، درحالی‌که در روش سریع تعداد تحریک‌های الکتریکی روزانه بیش از یک‌بار است [۵]. هیپوکامپ به‌عنوان مهم‌ترین کانون ایجاد صرع‌های موضعی پیچیده در انسان شناخته شده است. این ناحیه مغز به‌دلیل وجود مدار داخلی یک-طرفه تحریکی و تعداد محدود نورون‌های مهاری مستعد تولید فعالیت تشنجی است [۶]. با توجه به نقش هیپوکامپ در شروع صرع لوب گیجگاهی، معمولا از مدل کیندلینگ هیپوکامپ برای ایجاد و مطالعه صرع استفاده می‌شود [۷]. امواج صرعی تنها محدود به ناحیه صرعی نمی‌شود و نواحی دیگر از جمله نواحی مرتبط با کنترل حرکت را نیز درگیر می‌کند. بنابراین، یکی از عوارض صرع اختلال در کنترل تعادل و حرکت است؛ به‌طوری‌که در صرع ناشی از الکتروشوک در موش‌های صحرایی هایپرتونیسیته

[۱] دانشجوی دکترای فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۲] استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۳] استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۴] استادیار، گروه آمار، دانشکده آمار، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**

خوزستان، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، بخش فیزیولوژی

تلفن: ۰۹۱۶۶۰۰۳۶۵۵ **دورنویس:** ۰۶۱۳۳۳۶۰۸۰۷

پست الکترونیک: z.ghotbeddin@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۵ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۷/۹/۵

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]

افزایش و تعادل کاهش می‌یابد [۸]. بررسی رفتارهای حرکتی خودبه‌خودی و القایی در موش‌هایی که از طریق تحریک الکتریکی در هیپوکامپ پشتی، آمیگدال و هسته آکومبنس کیندل شده بودند، نشان داد که کیندلینگ باعث کاهش فعالیت حرکتی خودبه‌خودی در هر سه ناحیه به‌ویژه هیپوکامپ پشتی و هسته آکومبنس می‌شود [۹]. امروزه برای درمان صرع از روش‌های دارویی (دارودرمانی) و درمان‌های غیردارویی استفاده می‌شود [۱۰]. با وجود تلاش‌های فوق‌العاده و طاقت فرسا در جهت تولید و گسترش داروهای نسل جدید، بیش از ۴۰-۳۰ درصد بیماران مصروع به درمان دارویی پاسخ نمی‌دهند [۲]. همچنین، اکثر بیماران مبتلا به صرع موضعی به درمان دارویی مقاوم‌اند [۱۰]. بنابراین، نیاز روزافزون به روش‌های درمانی کارآمدتر و موثرتر احساس می‌شود. در مواردی استفاده از روش چند دارویی (درمان ترکیبی) که دارای حداقل برهم‌کنش فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک‌اند، به‌جای روش تک‌داورئی توصیه می‌شود [۱۱]. استفاده از داروهای ضد صرع عوارض مختلفی مانند خستگی و کوفتگی، تاری دید، اختلال در تمرکز و هماهنگی حرکات را به‌دنبال دارد. مثلاً کاربامازپین باعث کندی حرکت، کاهش چالاکی و آسیب به حافظه می‌شود. روش جراحی و حذف کانون صرع به‌خاطر تهاجمی بودن و عوارض مختلف مانند اختلال حافظه به‌عنوان آخرین شیوه درمان می‌باشد [۱۱]. طی ده سال اخیر تحریک عمقی مغز (Deep brain stimulation; DBS) به‌عنوان درمان جایگزین برای کاهش حملات تشنجی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۱۲]. تحریک عمقی مغز به دو فرم تحریک مغز با فرکانس پائین (Low frequency stimulation; LFS) و تحریک مغز با فرکانس بالا (High frequency stimulation; HFS) انجام می‌شود. استفاده درمانی از تحریک الکتریکی مغز با فرکانس بالا که در ابتدا معمول بود اثرات درمانی مشابه جراحی داشت، ولی عوارض جانبی جراحی را نداشت. مطالعات بعدی ثابت کرد که HFS گاهی بی اثر است و حتی تشنج را نیز القا می‌کند. بررسی‌های بیشتر نشان داد که HFS باعث اختلال در پاسخ نورون‌ها به محرک‌های تحریکی، از بین رفتن نورون‌های مهاری و حتی آسیب بافتی می‌شود. بنابراین، در استفاده از HFS ساختار مغزی و مشخصات محرک از قبیل فرکانس و شدت تحریک باید مورد توجه قرار گیرد [۱۴،۱۳]. Albensi و همکارانش نشان دادند که LFS و HFS باعث از بین رفتن تخلیه‌های بین‌حمله‌ای در برش‌های زنده هیپوکامپ می‌شوند و با حذف HFS تخلیه‌های بین‌حمله‌ای برگشت‌پذیر شده، در-حالی‌که با حذف LFS این تخلیه‌ها بر نمی‌گردند [۱۵]. امروزه به نقش موثر LFS در کاهش امواج تشنجی و تخلیه‌های متعاقب با استفاده از مدل‌های مختلف تشنج به‌طور گسترده اشاره شده است؛ ولی گزارشی در مورد تاثیر آن بر اختلالات حرکتی ناشی از تشنج ارائه نشده است. از طرفی، بیماران مصروع از مشکلات مختلف حرکتی رنج می‌برند. لذا، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر LFS در طی صرع‌زایی هیپوکامپ پشتی، بر تعادل و فعالیت حرکتی در موش صحرایی نر بالغ طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵±۲۲۵ گرم استفاده شد. تمام مراحل آزمایش بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید چمران اهواز با کد ج ۹ الف/ Q180/1390 طراحی و اجرا شد. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ثابت ۵±۵۵ درصد نگهداری شدند. تمام حیوانات به‌طور آزاد به آب و غذا (کنسانتره پلت، شرکت خوراک دام پارس، تهران) دسترسی داشتند. یک هفته پس از سازش حیوانات با شرایط محیط، به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰تایی تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از: ۱) گروه کنترل؛ ۲) شاهد جراحی: این گروه فقط جراحی شده و پس از طی دوره بهبودی برای انجام آزمایش‌های رفتاری آماده می‌شدند؛ ۳) گروه کیندل: این گروه روزانه ۱۲ تحریک (فرکانس ۵۰ هرتز، به مدت ۳ ثانیه و به فواصل ۵ دقیقه) برای کیندل شدن دریافت می‌کردند. این تحریکات تا رسیدن حیوان به مرحله ۵ تشنج ادامه می‌یافت؛ ۴) گروه LFS: این گروه LFS را روزانه در ۴ بسته با فرکانس ۱ هرتز با مدت زمان مشابه گروه کیندل دریافت می‌کردند؛ و ۵) گروه کیندل+LFS (KLFS): حیوانات این گروه همانند گروه کیندل تحریکات کیندلینگ دریافت می‌کردند و هر روز پس از پایان تحریکات کیندلینگ تحریکات LFS اعمال می‌شد. کلیه آزمایش‌ها در طول روشنایی بین ساعت ۸ صبح الی ۴ بعدازظهر به‌منظور جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی حیوان بر آزمایش‌ها انجام گرفت. یک ساعت قبل از شروع آزمون حیوانات به آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا به شرایط آزمایشگاه عادت کنند.

الف) پروتکل جراحی، آستانه گیری و اعمال تحریکات

جراحی حیوانات: برای این منظور پس از بیهوشی با کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) حیوان در دستگاه استرئوتاکسی (Stoelting; USA) قرار می‌گرفت. پس از ایجاد برش و کنار زدن پوست سر، ناحیه برگما شناسایی شده و براساس

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]

مختصات ذکر شده در اطلس پاکسینوس-واتسون ناحیه مربوط به هیپوکامپ (۲/۵ mm به سمت عقب و ۱/۸ mm به سمت راست نسبت به برگما و ۲/۸ mm زیر جمجمه) مشخص می‌شد. بعد از علامت گذاری ناحیه مذکور، با استفاده از مته دندانپزشکی (مدل FOREDOM ساخت شرکت Fordom Electric) در محل مشخص شده منفذی ایجاد گردیده و الکترود سه قطبی از جنس فولاد ضد زنگ با پوشش تفلونی به قطر ۰/۰۰۸ اینچ (Stainless Steel Wire-Teflon Coated سری ۷۹۱۵۰۰ ساخت شرکت A-M Systems) درون مغز قرار می‌گرفت. سپس الکترود تک قطبی با استفاده از پیچ لحیم شده به آنها روی جمجمه متصل می‌شد. دو پیچ کوچک (۳ میلی‌متری عینک) دیگر نیز برای استحکام روی نقاط دیگری از جمجمه وصل می‌شدند. سپس، الکترودها و پیچ‌های استحکام به‌وسیله سیمان دندان‌پزشکی (ترکیب پودر آکریل خودپخت و متاکریلات، شرکت آکروپارس) روی سطح جمجمه ثابت می‌شدند. آنگاه، پین‌های مخابراتی متصل به الکترودهای سه قطبی و تک قطبی درون بخش مادگی سوکت مربوطه قرار می‌گرفتند و سوکت با استفاده از سیمان دندان‌پزشکی روی جمجمه نصب می‌شد [۱۶].

آستانه‌گیری: بعد از دوره بهبودی برای به‌دست آوردن حداقل شدت تحریک حیوان با جریانی با شدت ۳۰ میکروآمپر تحریک می‌شد. در صورت ثبت امواج تخلیه متعاقب (حداقل به‌مدت ۸ ثانیه) این شدت جریان به‌عنوان شدت جریان آستانه شناخته می‌شد. در غیر این صورت، هربار شدت جریان ۱۰ میکروآمپر به‌فواصل ۵ دقیقه افزایش داده می‌شد تا وقتی که امواج تخلیه متعاقب ثبت گردد [۱۷].

تحریک حیوانات:

تحریک برای ایجاد کیندلینگ: برای تحریک با روش کیندلینگ سریع، حیوانات با موج مربعی تک فازی با مدت پالس ۱ میلی‌ثانیه، فرکانس ۵۰ هرتز، شدت آستانه تولید امواج تخلیه متعاقب و به‌مدت ۳ ثانیه تحریک می‌شدند. این تحریکات به فاصله هر ۱۰ دقیقه یک‌بار و ۱۲ بار در روز انجام می‌شد تا حیوانات مراحل مختلف تشنج را نشان داده و کیندل شوند. پس از اعمال تحریکات کیندلینگ، امواج الکتریکی مغزی توسط الکترود ثبات به دستگاه الکتروماجول (مدل R12، شرکت پرتودانش) منتقل و توسط برنامه کامپیوتر eprobe (شرکت پرتودانش) اندازه‌گیری می‌شدند [۱۸]. بر اساس معیارهای Racine شدت تشنج در طی کیندلینگ به ۵ مرحله تقسیم می‌شود: مرحله ۱: انقباض عضلات صورت؛ مرحله ۲: حرکت سر به طرف بالا و پایین؛ مرحله ۳: کلونوس یکی از اندام‌های حرکتی جلویی؛ مرحله ۴: ایستادن روی هر دو پا توام با کلونوس هر دو اندام حرکتی جلویی؛ و مرحله ۵: ایستادن روی هر دو پا همراه با از دست دادن تعادل و افتادن [۱۷].

تحریک برای اعمال LFS: تحریک الکتریکی به‌صورت ۴ بسته با فاصله ۵ دقیقه‌ای به حیوان اعمال می‌شد. هر بسته شامل ۲۰۰ موج مربعی دوفازی و هر پالس ۱/۰ میلی‌ثانیه با فرکانس ۱ هرتز بود [۱۸]. در تمامی گروه‌ها پس از اتمام تحریکات به‌منظور ارزیابی تعادل و فعالیت حرکتی از آزمون‌های میله چرخان و میدان باز استفاده شد.

ب) آزمون های رفتاری

۱) ارزیابی تعادل با استفاده از دستگاه روتارود: این دستگاه (شرکت برج‌صنعت‌آزما) برای ارزیابی تعادل و هماهنگی بین اندام‌های حرکتی در موش‌های صحرائی استفاده می‌شود. دستگاه میله چرخان شامل یک گردونه است که سرعت چرخش آن بین RPM ۴۰-۰ متغیر می‌باشد. گردونه حدود cm ۲۰ از زمین فاصله دارد و توسط صفحات کروی شکل به ۴ بخش مجزا تقسیم می‌شود. در این آزمایش سرعت چرخیدن RPM ۷ در نظر گرفته شد که تقریبا ۱۱ -۱۰ دور در دقیقه است. موش‌های صحرایی پس از انتقال به آزمایشگاه مدت ۳۰ دقیقه به حال خود رها شدند تا به محیط عادت کنند. برای یادگیری مهارت حرکت روی میله چرخان هر موش دو مرتبه و هر بار به‌مدت ۳ دقیقه تحت آموزش قرار داده شد. سپس، مدت زمان حفظ تعادل و حرکت حیوان روی میله چرخان ۳ مرتبه (هریک ۵ دقیقه) با فاصله ۱۵ دقیقه اندازه‌گیری شده و میانگین آن برحسب ثانیه ثبت می‌شد. بعد از هر آزمایش دستگاه با الکل ۵۰ درصد کاملا تمیز می‌گردید [۱۹].

۲) ارزیابی فعالیت حرکتی با استفاده از دستگاه جعبه باز: تجهیزات این آزمایش شامل یک صفحه چهارگوش ساخته شده از چوب سیاه است و کف آن با خطوطی به ۲۵ مربع تقسیم شده است (LOCOMOTION-LO5800، شرکت برج صنعت). در ابتدا هر موش در مرکز صفحه قرار داده می‌شد و فعالیت آن برای ۵ دقیقه ثبت می‌گردید و سپس پارامترهای رفتاری شامل خود تیماری (Grooming)، فرکانس بلند شدن روی دو پا (Rearing frequency) و تعداد عبور از خطوط متقاطع ثبت شده و مورد بررسی قرار می‌گرفت [۲۰].

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]

ارزیابی بافت شناسی: پس از اجرای آزمون‌های رفتاری، جهت ارزیابی صحت ورود الکترود سه قطبی به ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی حیوان را بی‌هوش کرده و ناحیه مورد نظر با استفاده از یک باطری ۹ ولتی و یک کابل رابط و الکترودهای تحریکی کاشته شده تخریب شده تا محل انتهای الکترود در مغز مشخص شود. سپس مغز حیوان جدا شده و در فرمالدهید ۱۰ درصد نگهداری می‌شد. بعد از دو هفته مغزها برش داده شده و با مختصات CA1 در اطلس پاکسینوس مقایسه می‌شد. در صورت مطابقت نداشتن محل الکترود با اطلس نتایج حاصل از موش مورد نظر حذف می‌گردید (شکل شماره ۱).

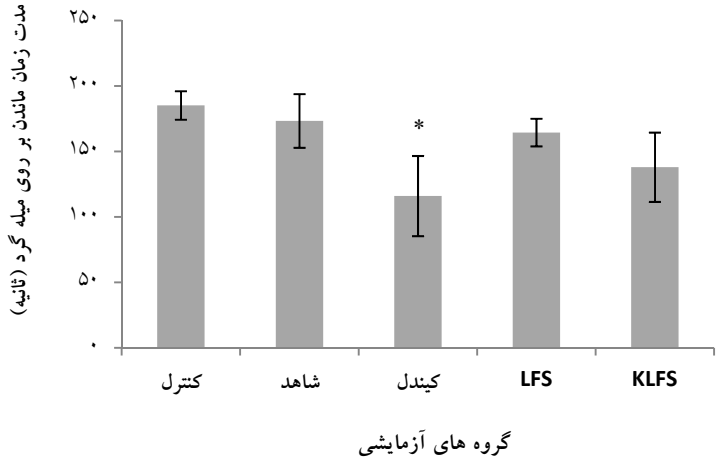
شکل شماره ۱- مقطع عرضی از هیپوکمپ موش صحرایی پیکان محل ورود الکترود را در ناحیه CA1 نشان می‌دهد.

روش تحلیل داده‌ها: برای آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ استفاده شد. تفاوت آماری پارامترهای مختلف در بین گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون One-way ANOVA انجام شد. نتایج به‌صورت میانگین± انحراف استاندارد میانگین بیان شده‌اند. برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون Leven استفاده شد. درصورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها و همگن بودن واریانس‌ها از پس‌آزمون Tukey و درصورت همگن نبودن از آزمون ناپارامتری Kruskal-Wallis استفاده شد. همچنین، در تمامی موارد $P<۰/۰۵$ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار درنظر گرفته شد.

نتایج

به‌منظور بررسی اثر تحریک الکتریکی با فرکانس پائین در طی صرع‌زایی هیپوکامپ پشتی بر تعادل و فعالیت حرکتی در موش صحرایی نر بالغ به‌ترتیب از آزمون‌های رفتاری میله‌چرخان (الف) و جعبه باز (ب) استفاده شد.

الف) اثر تحریک الکتریکی با فرکانس پایین در طی صرع‌زایی هیپوکامپ پشتی بر تعادل: میانگین مدت زمان حفظ تعادل روی میله گرد در حال چرخش پس از سه بار آزمایش با استفاده از آزمون میله چرخان در گروه‌های کنترل، شاهد، کیندل، LFS و KLFSبه‌ترتیب ۱/۸±۱۸۵/۲، ۲/۹±۱۷۳/۳، ۴/۳±۱۱۶، ۹/۵±۱۶۴ و ۳/۷۵±۱۳۸ ثانیه بود. باتوجه به نتایج به‌دست آمده مدت زمان حفظ تعادل روی میله گرد در گروه کیندل نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) و تعادل در این گروه کاهش یافت، درحالی‌که سایر گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (نمودار شماره ۱).

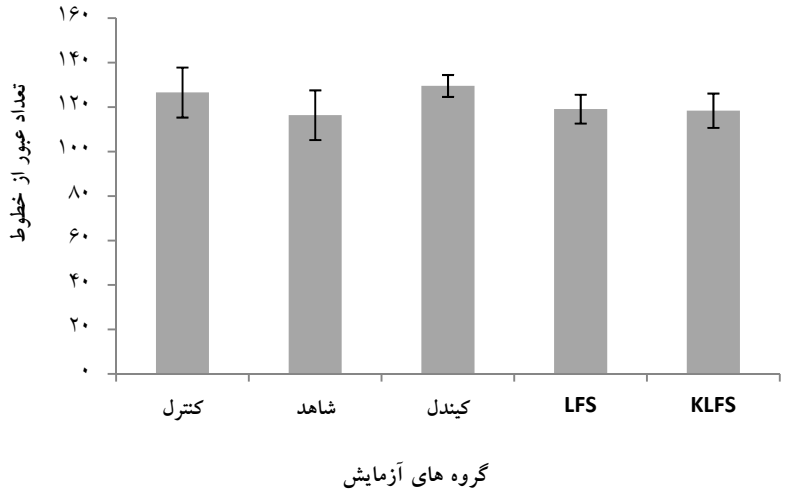


نمودار شماره ۱- بررسی اثر LFS بر تعادل از طریق مقایسه میانگین مدت زمان حفظ تعادل روی میله گرد در حال چرخش با استفاده از آزمون روتارود در گروه‌های مورد مطالعه

* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه کیندل با گروه کنترل است ($P<۰/۰۵$)(n=۱۰).

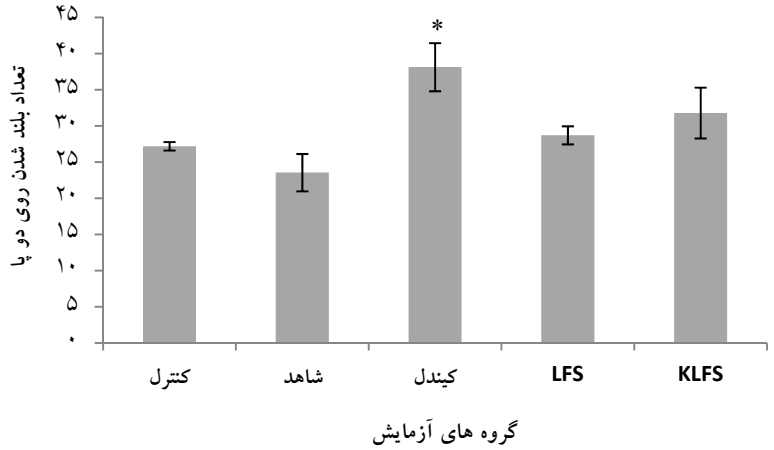
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]

ب) اثر تحریک الکتریکی با فرکانس پایین در طی صرع‌زائی هیپوکامپ پشتی بر فعالیت حرکتی: در این بخش با استفاده از دستگاه میدان باز تعداد عبور از خطوط، تعداد بلند شدن روی دو پا و خودتیماری در گروه‌های مختلف بررسی و مورد مقایسه قرار گرفت. میانگین تعداد عبور از خطوط متقاطع در گروه‌های کنترل، شاهد، کیندل، LFS و KLFS به‌ترتیب ۱۲۶/۶±۲/۱۴، ۱۱۶/۴±۲/۳، ۱۲۹/۵±۰/۸۱، ۱۱۹/۱±۱/۶ و ۱۱۸/۴±۱/۹۸ بود. در این پارامتر بین هیچ‌یک از گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (نمودار شماره ۲). میانگین کل تعداد بلند شدن روی دو پا در گروه کنترل ۲۷/۲±۰/۴ و در گروه‌های شاهد، کیندل، LFS و KLFS به‌ترتیب ۲۳/۵±۲/۷۵، ۳۸/۱±۳/۲۱، ۲۸/۷±۱/۳۵ و ۳۱/۸±۳/۷۴ به‌دست آمد. مقایسه میانگین تعداد بلند شدن روی دو پا بیان‌گر افزایش معنی‌دار گروه کیندل نسبت به گروه شاهد بود (P<۰/۰۵) (نمودار شماره ۳). میانگین تعداد خودتیماری در گروه‌های کنترل، شاهد، کیندل، LFS و KLFS به‌ترتیب ۶/۶±۰/۷، ۵±۰/۹۸، ۶/۸±۱/۸۴، ۵±۰/۶۴ و ۴/۳±۱/۷۲ بود. نتایج بیان‌گر افزایش معنی‌دار تعداد خودتیماری در گروه کیندل نسبت به گروه‌های شاهد و LFS (P<۰/۰۵) و KLFS (P<۰/۰۱) بود (نمودار شماره ۴).



نمودار شماره ۲- بررسی اثر LFS بر میزان فعالیت حرکتی از طریق مقایسه میانگین تعداد عبور از خطوط متقاطع با استفاده از آزمون جعبه باز در گروه‌های مورد مطالعه

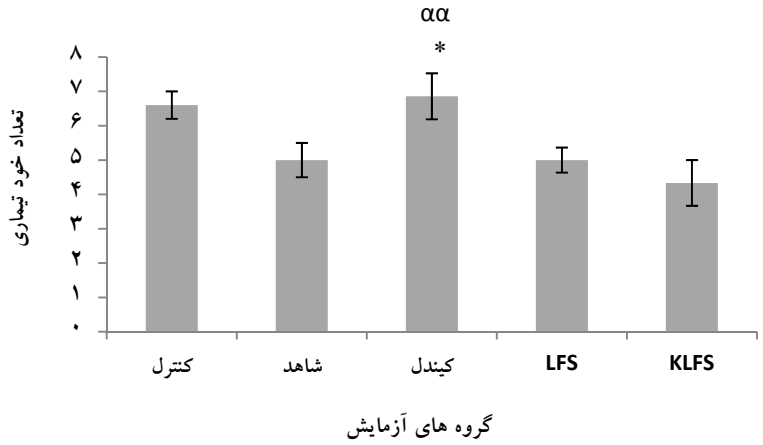
تفاوت معنی دار بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. داده‌ها به‌صورت میانگین± خطای معیار نشان داده شده‌اند (n=۱۰).



نمودار شماره ۳- بررسی اثر LFS بر میزان فعالیت حرکتی از طریق مقایسه میانگین تعداد بلند شدن روی دو پا در گروه‌های مورد مطالعه

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه کیندل با گروه کنترل است (P<۰/۰۵). داده‌ها به‌صورت میانگین± خطای معیار نشان داده شده‌اند (n=۱۰).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]



نمودار شماره ۴- بررسی اثر LFS بر میزان فعالیت حرکتی از طریق مقایسه میانگین تعداد خود تیماری در گروه های مورد مطالعه

* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه کیندل با گروه شاهد و LFS است ($P<۰/۰۵$). αα بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین گروه کیندل و KLFS است ($P<۰/۰۱$). داده‌ها به صورت میانگین± خطای معیار نشان داده شده‌اند (n=۱۰).

بحث

یافته‌های حاصل از آزمون میدان باز و میله چرخان بیان‌گر این مطلب است که فعالیت حرکتی در گروه کیندل افزایش یافته، ولی تعادل کاهش یافته است. آزمون میدان باز برای ارزیابی پاسخ-های رفتاری مانند فعالیت حرکتی، بیش‌فعالی، فعالیت جستجوگرانه و اندازه‌گیری میزان اضطراب در جوندگان به‌کار می‌رود [۲۰]. یافته‌های آزمایشگاهی درباره فعالیت حرکتی، اضطراب، حساسیت و رفتارهای جستجوگرانه موش‌های صرعی متناقض است. برخی مطالعات نشان می‌دهند که کیندلینگ آمیگدال باعث افزایش فعالیت حرکتی، افزایش فعالیت جستجوگرانه و کاهش تعادل در موش‌های صحرایی می‌شود که در راستای نتایج این تحقیق است. از طرف دیگر، کیندلینگ آمیگدال باعث کاهش تعادل در آزمون میله چرخان می‌شود و تزریق دوز مناسب مینوسیکلین، ماده شیمیایی محافظت کننده سیستم عصبی، باعث کاهش شدت تشنج و افزایش مدت زمان تعادل می‌شود [۱۱]. بررسی‌های دیگر نیز نشان می‌دهد که کیندلینگ هیپوکامپ پشتی موش صحرایی باعث افزایش رفتار جستجوگرانه و فرکانس ایستادن روی دو پا در موش‌های کیندل نسبت به گروه کنترل می‌شود [۲۱]. در مطالعه انجام شده توسط Lado و همکاران اثرات ضد تشنجی گاباپنتین بر پاسخ‌های حرکتی در موش‌های کیندل شده بررسی شد و نتایج آنها نشان داد که کیندلینگ آمیگدال باعث کاهش تعادل در موش-های نابالغ می‌شود، درحالی‌که گاباپنتین به‌روش وابسته به دوز باعث افزایش تعادل در موش‌های کیندل شده می‌شود [۲۲]. در برخی مطالعات دیگر کاهش فعالیت حرکتی در موش‌های کیندل شده مشاهده شده است. در بررسی پاسخ‌های رفتاری موش‌های ترانسژنیک WAG/Rij که دچار صرع غیابی شده بودند، فرکانس ایستادن روی دو پا در آزمون جعبه باز کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد [۲۳]. مطالعات غفوری و همکاران نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان مسافت پیموده شده، سرعت حرکت و مدت زمان توقف موش‌ها در مرکز میدان باز بین گروه-های کیندل شده و گروه کنترل وجود ندارد [۲۴]. شاید این تفاوت از اثرات متناقض کیندلینگ بر اساس موقعیت الکترودهای تحریکی و برنامه‌زمانی آزمایش (دوره کیندلینگ و فاصله‌های بدون تشنج) باشد [۲۵،۲۴]. Bruin و همکاران با بررسی و مقایسه میزان حرکت با استفاده از آزمون میدان باز در دو نژاد ژنتیکی صرعی (WAG/Rij و APO-SUS) مشاهده کردند که میزان اضطراب در موش‌های صرعی افزایش یافته و فعالیت حرکت کاهش می‌یابد [۲۶]. به‌دنبال کیندلینگ تعادل بین نوروترانسمیترهای تحریکی و مهاری از بین می‌رود و تشابه زیادی بین LTP و کیندلینگ وجود دارد؛ از جمله اینکه فرکانس‌های تحریکی که باعث ایجاد LTP می‌شوند مشابه فرکانس‌هایی هستند که برای ایجاد کیندلینگ لازم است و هر دو پدیده منجر به افزایش پاسخ دهی نورون‌ها در درازمدت می‌شوند و LTP به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های سلولی ایجاد کیندلینگ مطرح شده است [۲۷]. به‌نظر می‌رسد کیندلینگ با افزایش تحریک‌پذیری نورون‌های مسیر حرکتی باعث افزایش پاسخ دهی این نورون‌ها و افزایش فعالیت حرکتی و اختلال تعادل می‌شود. مشخص شده است که عقده‌های قاعده‌ای از جمله استریاتوم در گسترش امواج تشنج نقش مهمی دارند و نورون‌های تغییر شکل یافته در افرادی که لوب فرونتال آنها به‌همراه بخش قدامی استریاتوم برداشته شده بود، مشاهده می‌شود. در افراد

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]

مصروعی که نیاز به جراحی دارند برداشت بخش عمده‌ای از تالاموس، عقده‌های قاعده‌ای و استریاتوم توصیه می‌شود [۲۸]. یک ارتباط مثبت بین نسبت حجم استریاتوم و اختلال حرکت وجود دارد. همچنین، تکامل ساختارها و مسیرهای حرکتی نیز به موازات فعالیت شبکه نورونی استریاتوم صورت می‌گیرد. بنابراین، هرگونه تغییر در حجم این ساختار مهم مغزی می‌تواند باعث اختلال حرکت شود [۲۹]. لذا، احتمال می‌رود که کیندلینگ هیپوکامپ با تغییر ساختار استریاتوم باعث اختلال حرکت و کاهش تعادل می-شود. در مورد تاثیر تحریک الکتریکی با فرکانس پایین بر تعادل و فعالیت حرکتی تاکنون مطالعه‌ای انجام نشده و یافته‌های ما نشان داد که اعمال LFS در طی روند کیندلینگ هیپوکامپ باعث کاهش فعالیت حرکتی در موش‌های کیندل شده و افزایش تعادل شد. طی ۱۰ سال اخیر روش‌های مختلف تحریک عمقی مغز مانند استفاده از امواج الکتریکی با فرکانس پائین به‌عنوان درمان جایگزین برای کاهش فعالیت مغز و حملات تشنجی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۳۰]. در مورد اثر ضد تشنجی LFS تاکنون مطالعات زیادی انجام شده است، به‌طوری‌که Velíšek و همکاران نشان دادند که اعمال LFS در طی روند کیندلینگ موش‌های نابالغ باعث کوتاه شدن تخلیه‌های متعاقب و کاهش رفتار تشنجی می‌شود [۳۱]. یک مطالعه دیگر نشان می‌دهد که اعمال LFS برای مدت ۳۰ ثانیه در طی روند کیندلینگ به آمیگدال موش‌های بالغ علاوه بر کوتاه شدن تخلیه‌های متعاقب و کاهش رفتار تشنجی باعث کاهش قابل توجه در احتمال بروز تخلیه‌های متعاقب به‌دنبال تحریک کیندلینگ می‌شود [۳۲]. امروزه سازوکار دقیق عمل LFS مشخص نشده است، اما چهار سازوکار اصلی برای عملکرد آن پیشنهاد شده است: کاهش تحریک‌پذیری نورون‌ها، افزایش آستانه تشنج، افزایش در انتقال سیناپس‌های مهاری و کاهش در انتقال سیناپس‌های تحریکی. به‌نظر می‌رسد که مکانیسم ضد تشنجی LFS مشابه با مکانیسم‌های دخیل در LTD (Long term depression) و با تضعیف طولانی‌مدت می‌باشد [۱۴] و احتمالا با همین مکانیسم‌ها باعث بهبود حرکت و تعادل در طی روند کیندلینگ می شود.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کیندلینگ هیپوکامپ پشتی باعث افزایش فعالیت حرکتی در آزمون میدان باز و کاهش تعادل در آزمون میله چرخان شده و اعمال تحریک الکتریکی با فرکانس پایین در طی صرع‌زایی هیپوکامپ پشتی باعث کاهش فعالیت حرکتی و بهبود تعادل می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله برخود لازم می‌دانند از مسئولین و کارکنان گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز کمال تشکر و قدردانی را به‌عمل آورند.

References:

[1] Minjarez B, Camarena HO, Haramati J, Rodríguez-Yañez Y, Mena-Munguía S, Buriticá J, et al. Behavioral changes in models of chemoconvulsant-induced epilepsy: A review. ***Neurosci Biobehav Rev*** 2017; 83: 373-80.

[2] Ullah G, Schiff SJ. Models of epilepsy. ***Scholarpedia*** 2009; 4(7): 1409.

[3] Ludmyla K, Priscila AB, Cleiton L, Rafael NR, Eduardo HU, Norberto GC, et al. Animal models of epilepsy: use and limitations. ***Neuropsychiatr Dis Treat*** 2014; 10: 1693.

[4] Rubio C, Rubio-Osornio M, Retana-Márquez S, Verónica Custodio ML, Paz C. In vivo experimental models of epilepsy. ***Cent Nerv Syst Agents Med Chem*** 2010; 10(4): 298-309.

[5] Sarkisian MR. Overview of the current animal models for human seizure and epileptic disorders. ***Epilepsy Behav*** 2001; 2(3): 201-16.

[6] Wasterlain CG, Farber DB. Fairchild D. Cholinergic kindling: What has it taught us about epilepsy? ***J Neural Transm*** 1985; 63(2): 119-32.

[7] Bausch SB. Axonal sprouting of GABAergic interneurons in temporal lobe epilepsy. ***Epilepsy Behav*** 2005; 7(3): 390-400.

[8] Zhong XL, Yu JT, Zhang Q, Wang N, Tan L. Deep brain stimulation for epilepsy in clinical practice and in animal models. ***Brain Res Bull*** 2011; 85(3-4): 81-8.

[9] Tedeschi DH, Benigni JP, Elder CJ, Yeager JC, Flanigan JV. Effects of various phenothiazines on minimal electroshock seizure threshold and spontaneous motor activity of mice. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1958; 123(1): 35-8.

[10] Ehlers CL, Koob GF. Locomotor behavior following kindling in three different brain sites. ***Brain Res*** 1985; 326(1): 71-9.

[11] 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. ***Epilepsia*** 2013; 54(7): 1186-94.

[12] Albertson TR, Joy RM, Stark LG. A pharmacological study in the kindling model of epilepsy. ***Neuropharmacology*** 1984; 23(10): 1117-23.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]

[13] Albensi BC, Oliver DR, Toupin J,Odero G. Electrical stimulation protocols for hippocampal synaptic plasticity and neuronal hyper-excitability: are they effective or relevant? ***Exp Neurol*** 2007; 204(1): 1-13.
[14] Lopez-Meraz M, Neri-Bazan L, Rocha L. Low frequency stimulation modifies receptor binding in rat brain. ***Epilepsy Res*** 2004; 59(2-3): 95-105.
[15] Albensi BC, Gabrielle A, Erin W, Joseph D, Janigro D. Activation of long-term synaptic plasticity causes suppression of epileptiform activity in rat hippocampal slices. ***Brain Res*** 2004; 998(1): 56-64.
[16] McNamara JO, Byrne MC, Dasheiff RM, Fitz J. Pursuit of the mechanisms of kindling. ***Trends Neurosci*** 1988; 11(1): 33-36.
[17] Racine R, Rose PA, Burnham WM. After-discharge thresholds and kindling rates in dorsal and ventral hippocampus and dentate gyrus. ***Can J Neurol Sci*** 1977; 4(4): 273-8.
[18] Ghotbedin Z, Janahmadi M, Mirnajafi-Zadeh J, Behzadi G, Semnanian S. Electrical low frequency stimulation of the kindling site preserves the electrophysiological properties of the rat hippocampal CA1 pyramidal neurons from the destructive effects of amygdala kindling: the basis for a possible promising epilepsy therapy. ***Brain Stimul*** 2013; 6(4): 515-23.
[19] Sohrabi asadabad J, Ghotbeddin Z, Tabandeh MR. study the effect of crocin on avoidance memory and motor activity impairment induced by doxorubicin administration in adult male rats. ***J Arak Uni Med Sci*** 2017; 20(9): 45-56.
[20] Walsh RN, Cummins RA. The open-field test: a critical review. ***Res bull*** 1976; 83(3): 482.
[21] Hannesson DK, Howland J, Michael M, Paul W, Amy E, Corcoran ME. Dorsal hippocampal kindling produces a selective and enduring disruption of hippocampally mediated behavior. ***J Neurosci*** 2001; 21(12): 4443-50.
[22] Lado FA, Sperber EF, Moshe SL. Anticonvulsant efficacy of gabapentin on kindling in the immature brain. ***Epilepsia*** 2001; 42(4): 458-63.
[23] Subedee L, Suresha RN, Sibgatullah MD, Siddamma A, Brahadeesh M. Role of multiple ion channel blocker-amiodarone in model of convulsion, locomotor activity and cognition in albino rats. ***Intl J Pharm Pharm Sci*** 2014; 6: 690-2.
[24] Ghafouri S, Fathollahi Y, Semnanian S, Shojaei A, Mirnajafi-Zadeh J. Effects of Low Frequency Stimulation on Spontaneous Inhibitory and Excitatory Post-Synaptic Currents in Hippocampal CA1 Pyramidal Cells of Kindled Rats. ***Cell J (Yakhteh)*** 2017; 18(4): 547.
[25] Midzyanovskaya IS, Shatskova AB, Sarkisova K, Luijtelaar G, Tuomisto L, Kuznetsova GD. Convulsive and nonconvulsive epilepsy in rats: effects on behavioral response to novelty stress. ***Epilepsy Behav*** 2005; 6(4): 543-51.
[26] De Bruin N, Van Luijtelaar E, Cools AR, Ellenbroek BA. Dopamine characteristics in rat genotypes with distinct susceptibility to epileptic activity: apomorphine-induced stereotyped gnawing and novelty/amphetamine-induced locomotor stimulation. ***Behav Pharmacol*** 2001; 12(6-7): 517-25.
[27] Vreugdenhil M, Wadman WJ. Enhancement of calcium currents in rat hippocampal CA1 neurons induced by kindling epileptogenesis. ***Neurosci*** 1992; 49(2): 373-81.
[28] Kaido T, Otsuki T, Kaneko Y, Takahashi A, Kakita A, Takahashi H, et al. Anterior striatum with dysmorphic neurons associated with the epileptogenesis of focal cortical dysplasia. ***Seizure Europ J Epilepsy*** 2010; 19(4): 256-9.
[29] Dehorter N, Michel FJ, Marissal T, Rotrou Y, Matrot B, Lopez C, et al.Constance Onset of pup locomotion coincides with loss of NR2C/D-mediated cortico-striatal EPSCs and dampening of striatal network immature activity. ***Front Cell neurosci*** 2011; 5: 24.
[30] Bikson M, Lian J, Hahn PJ, Stacey WC, Sciortino C, Durand D. Suppression of epileptiform activity by high frequency sinusoidal fields in rat hippocampal slices. ***J Physiol*** 2001; 531(1): 181-91.
[31] Velíšek L, Velíšková J, Stanton PK. Low-frequency stimulation of the kindling focus delays basolateral amygdala kindling in immature rats. ***Neurosci Lett*** 2002; 326(1): 61-3.
[32] Wu DC, Xu ZH, Wang SH, Fang QI, Hu D, Li Q, et al. Time-dependent effect of low-frequency stimulation on amygdaloid-kindling seizures in rats. ***Neurobiol Dis*** 2008; 31(1): 74-9.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-19]