بررسی نقش گیرنده‌های 5-HT1A بر تقویت سیناپسی طولانی‌مدت مسیر پرفورنت به شکنج دندانه‌دار در مدل صرعی کیندلینگ در موش صحرایی

عاطفه کیانی‌نژاد [۱](M.Sc)، غلامحسن واعظی [۱](Ph.D)، حسن اژدری زرمهری [۲و۳](Ph.D)، محمد محمدزاده [۴*](Ph.D)

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- گروه علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

۳- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

۴- گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

چکیده

هدف: شواهد زیادی حاکی از نقش سیستم سرتونرژیک و تحریک گیرنده‌های سروتونینی در حملات تشنجی است. با توجه به نقش گیرنده سروتونینی 5-HT1A در فعالیت سیناپسی و مدل‌های تشنجی؛ و تشابه مکانیسم‌های درگیر در ایجاد حملات تشنجی و تقویت طولانی‌مدت (LTP)، هدف از مطالعه حاضر بررسی نقش این گیرنده در تقویت سیناپسی در مدل صرعی کیندلینگ است.

مواد و روش‌ها: ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۳۲۰-۲۲۰ گرم در شش گروه به صورت تصادفی تقسیم شدند. گروه ۱ (کنترل): بدون هیچ مداخله‌ای پس از جراحی استرئوتاکسیک و قرار دادن الکترودهای تحریک و ثبات به مدت ۲۰ دقیقه ثبت پایه پتانسیل‌های میدانی انجام گردید. پس از ثبت پتانسیل‌های میدانی، تحریک تتانیک جهت ایجاد LTP اعمال شد. گروه ۲ (کیندل): تمام مراحل مشابه گروه اول بود با این تفاوت که حیوانات قبل از جراحی طی دوره یک ماهه تزریق PTZ کیندل شده بودند. گروه ۳ تا ۵: مراحل انجام آزمایش مشابه گروه دوم بود با این تفاوت که آنتاگونیست گیرنده‌ی 5HT1A سرتونینی (WAY-100635) با غلظت ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ نانومولار قبل از القای LTP تزریق داخل بطنی شد. گروه ششم فقط دوز ۲۵ آنتاگونیست را دریافت کردند.

یافته‌ها: گروه کنترل و کیندل پس از اعمال تحریک تتانیک به منظور ایجاد LTP به طور معنی‌داری متفاوت از یک‌دیگر پاسخ دادند (p<۰/۰۰۱) fEPSP و PS در گروه‌های ۳ تا ۵ نسبت به گروه ۲، به طور معناداری کاهش یافت (p<۰/۰۰۱). تزریق WAY-100635 هم‌چنین باعث کاهش معنی‌دار fEPSP و PS شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که القای LTP در حیوانات صرعی در حضور آنتاگونیست سرتونینی 5- HT1A تضعیف می‌شود. به نظر می‌رسد که آگونیست سروتونینی القای LTP را تقویت و در نتیجه ممکن است در تقویت حافظه و یادگیری افراد صرعی مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: صرع، کیندلینگ، آنتاگونیست گیرنده 5 HT1A سروتونین، تحریک الکتریکی، موش صحرایی

مقدمه

صرع (Epilepsy) یکی از اختلالات رایج عصبی است که دانش بشری در مورد مکانیسم‌های ایجاد و درمان قطعی آن هنوز ناقص می‌باشد. از این‌رو با استفاده از مدل‌های

* نویسنده مسئول، تلفن: ۴۴۰۱۸۳۱۹ -۰۵۱

Email: mohamadzadehm@medsab.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۲۹

آزمایشگاهی ایجاد تشنج، مطالعات فراوانی در حال انجام است. یکی از مدل‌های ایجاد تشنج، کیندلینگ است که در آن با تحریک مکرر ناحیه خاصی از مغز در حیوانات آزمایشگاهی تشنج ایجاد می‌شود. به کمک این مدل آزمایشگاهی می‌توان نحوه ارتباط بین نواحی مختلف مغزی را بررسی کرد، و نقش داروها و مواد شیمیایی مختلف را بر تشنج ایجاد شده در یک ناحیه مشخص مغز مورد بحث قرار داد [۴-۱]. در میان نواحی مختلف مغز، شکنج دندانه دار به عنوان بخشی از تشکیلات هیپوکمپ نقش مهمی در صرع لوب گیجگاهی دارد و یکی از نواحی حساس برای ایجاد کیندلینگ است [۶،۵]. کیندلینگ باعث تقویت مدارهای مهاری و تحریکی در این ناحیه می‌شود [۷-۱۰].

با وجود تحقیقات گسترده در زمینه صرع و تشنج در حدود ۷۵ درصد موارد، دلایل ایجاد تشنج روشن نیست [۱۱]. اما شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد سیستم سرتونرژیک و تحریک گیرنده‌های سروتونینی شدت حملات تشنجی را کاهش می‌دهد و شروع تشنج‌ها را به تأخیر می‌اندازد [۱۲-۱۴]. در مطالعاتی که در مورد اثر آنتاگونیست گیرنده‌های سروتونینی صورت گرفت نشان داده شد که آنتاگونیست گیرنده‌های $5HT_{2A}$, $5HT_3$, $5HT_{2B,C}$ آستانه تشنجات ناشی از کیندلینگ شکنج دندانه‌دار را تغییر نمی‌دهند؛ اما آنتاگونیست گیرنده 5-HT1A شدت تشنجات را افزایش می‌دهد [۱۵]. از طرف دیگر گزارشاتی مبنی بر نقش گیرنده‌های 5HT1A در ایجاد LTP وجود دارد [۱۷،۱۶]. از آن‌جایی‌که انتظار می‌رود مکانیسم‌های درگیر در LTP و ایجاد کیندلینگ شباهت‌هایی دارند؛ اما تحریک گیرنده‌های 5-HT1A در این دو پدیده اثرات متضاد دارد، در این مطالعه نقش این گیرنده‌ها در ایجاد LTP حیوانات کیندلینگ شده مورد نظر است.

پنتیلن تترازول به عنوان آنتاگونیست گیرنده $GABA_A$، یک ماده شیمیایی تشنج‌زاست. تزریق متناوب غلظتی از این دارو که به تشنج منجر نمی‌شود، به عنوان روشی برای تهیه مدل‌های حیوانی مطالعات مربوط به صرع به کار برده می‌شود. این روش به عنوان کیندلینگ شیمیایی معرفی شده است [۱۸].

با توجه به نقش گیرنده 5-HT1A در فعالیت سیناپسی و معدود گزارشاتی در این خصوص [۱۹] و هم‌چنین اهمیتی که این گیرنده‌ها در مدل‌های تشنجی دارد، هدف از مطالعه حاضر بررسی نقش گیرنده‌های سروتونینی بر تقویت سیناپسی طولانی‌مدت در مسیر پرفورنت به شکنج دندانه‌دار در مدل صرعی کیندلینگ در موش صحرایی است. در صورت روشن شدن این موضوع، تا حدی نقش سیستم سرتونرژیک در مدل‌های صرعی و در گام بعدی در بیماران صرعی بیش‌تر مشخص می‌شود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر از نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۲۰-۳۲۰ گرم استفاده شد. پس از آماده کردن وسایل جراحی استریل شده، حیوان توسط سدیم پنتوباربیتال (۴۰mg/kg، داخل صفاقی) بی‌هوش می‌گردید [۲۰]. سپس موهای سر حیوان تراشیده شده و حیوان در دستگاه استریوتاکس قرار می‌گرفت. بعد از ثابت کردن سر حیوان، برشی در خط وسط با تیغ جراحی ایجاد می‌شد و سطح استخوان جمجمه با الکل تمیز می‌گردید تا نقطه برگما مشخص شود. موقعیت مسیر پرفورنت برای قرار دادن الکترودهای تحریکی در سطح جمجمه نسبت برگما (بر حسب میلی‌متر: AP=-۶/۹ L=+۴/۱ و ۲/۷ تا V=۲/۴ نسبت به سطح استخوان جمجمه) و هم‌چنین ژیروس دندانه‌دار برای قرار دادن الکترود ثبات نسبت به برگما (بر حسب میلی‌متر: AP=-۲/۸، L=+۱/۸ و ۳/۵ تا V=۳/۲ نسبت به سخت شامه) تعیین می‌گردید. موقعیت بطن جانبی راست (برای قرار دادن کانول راهنما) نیز مشخص می‌شد (بر حسب میلی‌متر: AP=-۰/۹، L=+۱/۵ نسبت به برگما و V=۳/۲ نسبت به سطح سخت شامه) [۲۱]. پس از تعیین دقیق نقطه‌های فوق بر روی جمجمه با استفاده از مته دستی، جمجمه را در آن نقطه سوراخ کرده و

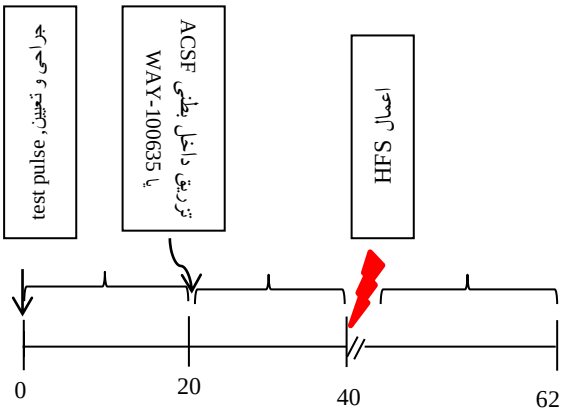
سپس الکترودهای تحریک و ثبات و کانول راهنما بـه ترتیـب در محل‌های تعیین شده قرار می‌گرفتند.

برای ثبت پتانسیل‌هـای میـدانی از سـلول‌هـای گرانـولی ژیروس دندانه‌دار مسیر پرفورنت تحریک (۱ms، ۰/۱ HZ بـا شدت test pulse) می‌شد. الکترودهـای تحریـک و ثبـت بـه نحوی در محل مورد نظر قرار می‌گیرند که بزرگ‌تـرین پاسـخ (پتانسیل‌های تجمعی) ثبت شود. برای اطمینان از محـل ثبـت (سلول‌های گرانولی شکنج دندانه‌دار) تضـعیف زوج پـالس در پاسخ به تحریک زوج پالس ۳۰ تا ۵۰ و تسـهیل زوج پـالس در پاسخ به تحریک زوج پالس ۷۰ میلی‌ثانیه انجام می‌گرفت. هم‌چنین برای تزریق دارو و یا ACSF به داخل بطن جانبی، از لوله پلی‌اتیلنی PE-20 که یک سـر آن بـه سـر سـوزن G 27 متصل شده بود، استفاده گردید.

در گروه‌های دوم تا پنجم به منظور ایجاد کیندلینگ تزریق داخل صـفاقی PTZ (۳۷ mg/kg) هـر ۴۸ سـاعت یـک بـار صورت می‌گرفت. به دنبال تزریـق PTZ مراحـل تشـنجی در حیوان ظاهر می‌شد.

گروه اول (کنترل): این حیوانات بدون هیچ‌گونه مداخله‌ای برای جراحی استرئوتاکسیک آماده شـدند. نقـاط مربـوط بـه تحریک (مسیر پرفورنت) و ثبت (شکنج دندانـه‌ای) و تزریـق دارو یا ACSF بطن جانبی چپ) بر اساس اطلس پاکسـینوس مشخص شد. پس از قرار دادن الکترودهای دوقطبی در مسـیر پرفورنت و الکترود ثبات در شکنج دندانـه‌دار، شـدت پـالس آزمون تعیین می‌گردید. سپس تزریق ACSF صـورت گرفـت. پس از آن به مدت ۲۰ دقیقه ثبت پایه پتانسیل‌های میدانی بـا تک پالس (Field Potential;) انجام گردید. بلافاصـله بعـد از ثبت پتانسیل‌های میدانی، تحریک با فرکانس بالا Hz (HFS) (۲۵۰)۱۰ قطار امواج به مدت ۵۰ میلی‌ثانیه و فواصـل زمـانی ۱۰ ثانیه) جهت ایجاد LTP اعمال شد. پس از اعمال تحریک HFS، دوباره ثبت پتانسیل‌های میدانی به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت. گروه دوم (کیندل): تمام مراحل انجام آزمـایش مشـابه گروه اول بود با این تفاوت که حیوانات قبل از جراحـی طـی دوره یک ماهه تزریق PTZ کیندل شده بودند.

گروه سوم تا پنجم: تمامی مراحل انجـام آزمـایش مشـابه گروه دوم بود بـا ایـن تفـاوت کـه آنتاگونیسـت گیرنـده‌ی ۵-HT1A سرتونینی (WAY-100635) بـا غلظـت ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ نانومولار تزریق داخل بطنی می‌شد، هم‌چنین بعد از تزریق آنتاگونیست و قبل از القای LTP ۲۰ دقیقـه ثبـت نیـز گرفتـه می‌شد (شکل ۱).



شکل ۱. محور زمانی انجـام آزمایشـات (ـــــ = ثبـت پتانسـیل هـای میدانی با شدت test pulse) (اعداد بر حسب دقیقه می باشد).

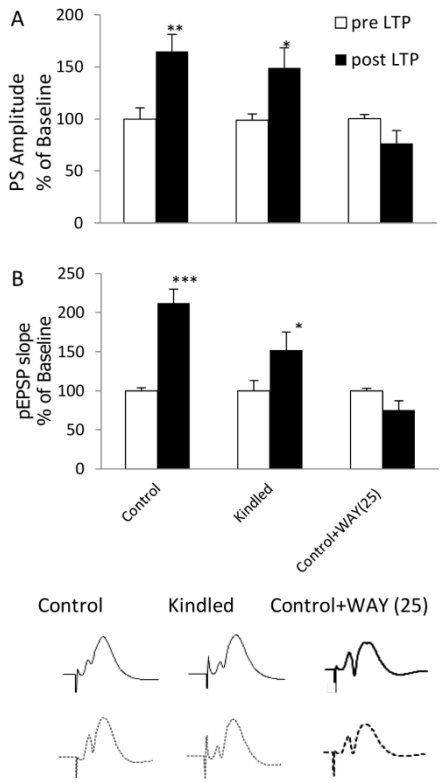
گروه ششم: تمام مراحل مشابه گروه اول (کنترل) بـود بـه اسـتثنای ایـن‌کـه بـه جـای ACSF از WAY-100635 (25) استفاده شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار Statistica استفاده شد. برای مقایسه غلظـت‌هـای مختلـف WAY-100635 بـر کمیت‌های تشنج از آزمون ANOVA دو طرفه و پس آزمـون Tukey استفاده شد. جهـت نمـایش اخـتلاف بـین داده‌هـا، از آزمون t – غیر زوج‌ها هر یک از کمیت‌ها با کنتـرل مربوطـه، مقایسه گردید.

نتایج

ارزیابی بافت‌شناسی نشان داد که الکترودهـا در موقعیـت خود (شکنج دندانه‌دار) قرار داشتند و در محل تحریک و ثبت هیچ‌گونه آسیب بافتی مشاهده نشد. هم‌چنین تحریـک‌پـذیری سیناپسی در گروه‌های مختلف در شروع آزمایش‌هـا یکسـان بود.

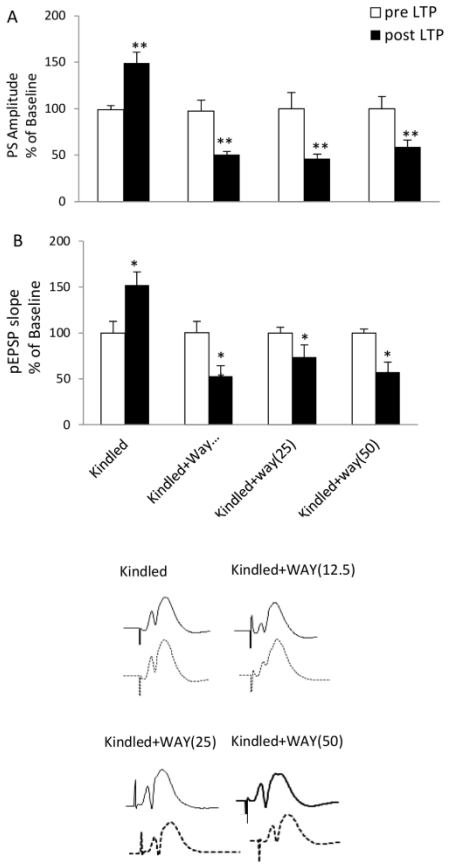
اثر اعمال تحریک تتانیک بر پتانسیل‌های میدانی در گروه کنترل و کیندل: در این گروه پس از تحریک با فرکانس بالا (القای LTP)، شیب پتانسیل‌های میدانی (fEPSP) و دامنه اسپایک‌های تجمعی (PS) به طور معناداری نسبت به قبل از آن افزایش یافت (p<۰/۰۰۱). پاسخ‌های ثبت شده نشان داد که گروه‌های کنترل و کیندل به تحریک تتانیک واکنش یکسانی نشان نمی‌دهند. تجزیه و تحلیل آماری از نوع آنووا نشان داد که کمیت fEPSP و PS وابسته به تحریک تتانیک است. به این معنی که دامنه PS شیب پتانسیل‌های میدانی در گروه کیندل به طور معنی‌دار کم‌تر از گروه کنترل بود (p<۰/۰۰۱) (شکل ۲).



شکل ۲. درصد تغییرات دامنه اسپایکهای تجمعی (A) و شیب پتانسیل های میدانی (B) قبل و بعد ازاعمال تحریک تتانیک در گروه های کنترل، کیندل و کنترل+ WAY-100635 . نمونه ثبت های انجام شده در گروههای کنترل، کیندل و کنترل+ WAY-100635(25) . قبل (خطوط توپر) و بعد از LTP (خطوط نقطه چین). * نشان دهنده P<۰/۰۵ ، ** نشان دهنده P<۰/۰۱ و *** نشان دهنده P<۰/۰۰۱ در مقایسه با قبل از LTP است (n=۴).

بررسی تزریق آنتاگونیست گیرنده 5-HT1A سرتونینی (WAY-100635) با غلظت ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ نانومولار بر اثر بخشی تحریک تتانیک در حیوانات کیندل.

دامنه اسپایک‌های تجمعی (PS) و شیب پتانسیل‌های میدانی (fEPSP) این حیوانات بعد از تزریق دارو و ایجاد LTP نسبت به قبل از آن کاهش معناداری را نشان داد (p<۰/۰۰۱). تجزیه و تحلیل آماری از نوع آنووا نشان داد که کمیت PS و fEPSP وابسته به دوز و تحریک تتانیک است [F(۱۶۵،۸) =۱۰۱/۳ ،p<۰/۰۰۱] همچنین پاسخ در گروه‌های دارو نسبت به گروه کیندل کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۰۱) (شکل ۳).



شکل ۳. درصد تغییرات دامنه اسپایکهای تجمعی (A) و شیب پتانسیل های میدانی (B) قبل و بعد ازاعمال تحریک تتانیک در گروه های کنترل، کیندل و کنترل+ WAY-100635. نمونه ثبت های انجام شده در گروههای کیندل، درمان (WAY-100635 با دوز های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰) . نمونه ای از نمونه های ثبت هر یک از گروهها قبل (خطوط توپر) و بعد از LTP (خطوط نقطه چین) در سمت راست نشان داده شده است. * نشان دهنده P<۰/۰۵، ** نشان دهنده P<۰/۰۱ و *** نشان دهنده P<۰/۰۰۱ در مقایسه با قبل از LTP است (n=۴).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج آزمایشات نشان داد که تقویت طولانی‌مدت گروه کیندل پس از اعمال تحریک تتانیک به منظور ایجاد LTP نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کم‌تر بود. هم‌چنین شیب پتانسیل‌های میدانی (fEPSP slope) و دامنه اسپایک‌های تجمعی (PS) در گروه‌های ۳ تا ۵ نسبت به گروه کیندل، کم‌تر بود. علاوه بر این تزریق WAY-100635 به حیواناتی که تحریکات کیندلینگ را دریافت نکردند، پارامترهای fEPSP slope و دامنه PS کاهش معنی‌دار داشت.

امروزه به خوبی شناخته شده است که آگونیست گیرنده 5HT1A اثرات ضد فشار خون، ضد اضطراب و اثرات ضد افسردگی دارد [۲۴-۲۲]. اگر چه گیرنده 5HT1A در تعدیل تشنج نیز دخالت دارد، اما نتایج به دست آمده مورد بحث است. در مطالعه‌ای اثرات حفاظتی آگونیست گیرنده 5HT1A وابسته به نوع تشنج گزارش شده است [۲۵]. هم‌راستا با نتایج این مطالعه اثرات ضد تشنجی این گیرنده را گزارش شده است. به عنوان مثال استفاده از WAY100635، (آنتاگونیست گیرنده 5HT1A)، سبب جلوگیری از اثر حفاظتی ناشی از تزریق سروتونین در پیشرفت تشنج ناشی از پیلوکارپین شده است [۲۶]. تزریق آگونیست گیرنده 5HT1A، تعداد و مدت زمان تشنج الکتروگرافیک ناشی از تزریق درون هیپوکامپی اسید کاینیک را کاهش داده است و سبب افزایش تخلیه و کاهش مدت زمان تشنج شده است. هم‌چنین سبب جلوگیری از تشنج ناشی از کیندلینگ هیپوکمپ و تاخیر پیشرفت روند کیندلینگ آمیگدال شده است [۲۹-۲۷]. از طرفی شکنج دندانه‌دار نقش مهمی در صرع دارد و یکی از نواحی حساس برای ایجاد کیندلینگ است. کیندلینگ باعث تقویت مدارهای مهاری و تحریکی در شکنج دندانه‌دار می‌شود. به‌طور مثال نشان داده شده است که کیندلینگ شیب پتانسیل‌های پس سیناپسی میدانی و دامنه اسپایک‌های دسته جمعی را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، کیندلینگ در ناحیه شکنج دندانه‌دار تضعیف اولیه زوج تضعیف تأخیری زوج پالس را تقویت می‌کند، که ممکن است ناشی از تقویت در انتقال سیناپسی نورن‌های مهاری باشد. کیندلینگ تسهیل زوج پالس را نیز در این ناحیه کاهش می‌دهد [۳۰-۳۴]. تحقیقات نشان داده است که مکانیسم‌هایی که در بروز پدیده LTP تجربی دخالت دارند، در آماده‌سازی حیوانات مستعد به حملات صرع نیز بسیج می‌گردند. از این‌رو عده‌ای از دانشمندان LTP را به عنوان پایه و اساس عصبی این پدیده فرض کردند [۳۶،۳۵]. نتایج آزمایش‌های ما تأییدکننده مطالعاتی است که نشان داده‌اند LTP باعث افزایش شدت تشنجات در حیوانات صرعی می‌شوند. این افزایش در گروه کیندل مشاهده شد. هم‌چنین LTP در گروه کنترل نیز باعث افزایش دامنه اسپایک‌های تجمعی و شیب پتانسیل‌های میدانی شد. این دو گروه بعد از اعمال LTP به طور متفاوتی نسبت به یک‌دیگر پاسخ دادند که این تفاوت احتمالاً به خاطر این است که یک گروه دست نخورده ولی گروه کنترل طی دوره یک ماهه کیندل شده بودند. در گروه کنترل نسبت به گروه کیندل این افزایش بیش‌تر بود؛ که احتمال داده می‌شود چون این گروه کیندل نشده بودند LTP روی آن‌ها اثر بیش‌تری گذاشته است. در همین راستا نشان داده شده است که در دو ناحیه آمیگدال و CA1 هیپوکمپ در مدل صرعی کیندلیگ که کیندلینگ موجب اختلال در القای LTP در هر دو ناحیه می‌شود. در واقع فرایند کیندلینگ سبب اشباع LTP و شکل‌پذیری سیناپسی شده به همین دلیل در آزمایشات ما، دامنه اسپایک‌های تجمعی و شیب پتانسیل‌های میدانی در گروه شاهد که کیندل نشده بودند افزایش بیش‌تری داشت [۳۷].

بخش دوم آزمایش‌های ما نشان داد که تزریق آنتاگونیست گیرنده‌ی 5-HT1A سرتونینی (WAY-100635) با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ نانومولار در گروه‌های ۳ تا ۵ نسبت به گروه کیندل، شیب fEPSP و دامنه PS را به طور معناداری کاهش می‌دهد. از آن‌جا که مطالعات قبلی نشان داده بود که آنتاگونیست گیرنده 5-HT1A شدت تشنجات را افزایش می‌دهد [۲۶-۲۹]، انتظار می‌رود که WAY-100635 باعث افزایش شیب fEPSP و دامنه PS می‌شود. اما WAY-100635 نه تنها نتوانست باعث افزایش شیب این

کمیت‌ها شود، بلکه این پارامترهای سیناپسی بعد از تزریق آنتاگونیست و القای LTP به طور معناداری کاهش پیدا کرد. از آن‌جایی‌که در این تحقیق بلافاصله بعد جراحی و در حین بی‌هوشی حیوان ثبت گرفته می‌شد به همین دلیل بعد از تزریق WAY-100635 مقدار تقویت طولانی‌مدت کاهش پیدا کرده است در حالی‌که در مطالعات مرتبط با تشنج و گیرنده‌های سرتونینی حیوانات به هوش بوده‌اند. هم‌چنین گزارشاتی وجد دارند که تأییدکننده نتایج این تحقیق است. مطالعات قبلی گزارش کردند که آزاد شدن سروتونین پاسخ سلول‌های شکنج دندانه‌ای را به تحریک مسیر پرفرنت تسریع می‌کند [۳۹،۳۸]. این اثر احتمالاً از طریق گیرنده 5HT1A وساطت می‌شود که می‌تواند اثر مستقیم بر گیرنده‌ها باشد [۴۱،۴۰]، یا ممکن است از طریق مهار مسیر گاباارژیک باشد [۴۲-۴۶]. در این راستا مطالعات دیگری نیز نشان داده است که آنتاگونیست گیرنده‌ی 5-T1A سرتونینی (WAY-100635) در شکنج دندانه‌دار باعث تضعیف القای LTP به صورت وابسته به دوز می‌شود [۴۷]. در تحقیق دیگر نشان داده شده است که افزایش ۲۰ درصد در گیرنده‌های 5-HT1A شکنج دندانه‌دار در هیپوکامپ حیوان کیندل شده دیده شده است اگر چه WAY-100635، ۳۰ دقیقه قبل از هر تحریک الکتریکی، به طور قابل توجهی تغییری در پیشرفت کیندلینگ ایجاد نکرده است و از وقوع مرحله ۵ تشنج در موش جلوگیری نکرده است. تغییرات تراکم گیرنده 5-HT1A در شکنج دندانه‌دار بخشی از تغییرات پلاستیکی در طول کیندلینگ رخ می‌دهد و ممکن است به تعدیل افزایش تحریک‌پذیری در فرایند گیندلینگ کمک کند [۴۸].

بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان چنین بیان کرد که گیرنده‌های سرتونینی 5HT1A در القای LTP نقش دارند و در شکنج دندانه‌دار کیندل شده نه تنها ایجاد LTP سخت‌تر می‌شود بلکه در حضور آنتاگونیست گیرنده سرتونینی 5HT1A به سختی تقویت بلندمدت سیناپسی رخ می‌دهد. به بیان دیگر با توجه به این که مکانیسم فرضی حافظه LTP می‌باشد و مشاهده شد که القای آن در حیوانات صرعی در حضور آنتاگونیست سرتونینی 5HT1A تضعیف می‌شود به نظر می‌رسد که آگونیست سروتونینی القای LTP را تقویت و در نتیجه ممکن است در تقویت حافظه و یادگیری افراد صرعی مفید باشد. لذا در این زمینه هنوز نیاز به تحقیقات بیش‌تری است.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم صندوق حمایت از پژوهش‌گران و فناوران کشور بابت حمایت مالی این طرح (گرنت شماره ۹۰۰۰۳۳۰۷) تشکر و قدردانی می شود. همچنین از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سبزوار بابت فراهم کردن شرایط آزمایشگاهی انجام این مطالعه کمال تشکر را داریم.

منابع

[1] Sato M, Racine RJ, McIntyre DC. Kindling: basic mechanisms and clinical validity. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1990; 76: 459-472.

[2] Gloor P. Role of the amygdala in temporal lobe epilepsy. Wiley-Liss 1992; 505-538.

[3] Fisher RS. Animal models of the epilepsies. Brain Res Brain Res Rev 1989; 14: 245-278.

[4] Engel J Jr. Classifications of the international league against epilepsy: time for reappraisal. Epilepsia 1998; 39: 1014-1017.

[5] Ang CW, Carlson GC, Coulter DA. Massive and specific dysregulation of direct cortical input to the hippocampus in temporal lobe epilepsy. J Neurosci 2006; 26: 11850-11856.

[6] Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. Prog Neurobiol 2004; 73: 1-60.

[7] Adamec RE, McNaughton B, Racine R, Livingston KE. Effects of diazepam on hippocampal excitability in the rat: action in the dentate area. Epilepsia 1981; 22: 205-215.

[8] de Jonge M, Racine RJ. The development and decay of kindling-induced increases in paired-pulse depression in the dentate gyrus. Brain Res 1987; 412: 318-328.

[9] Maru E, Goddard GV. Alteration in dentate neuronal activities associated with perforant path kindling. I. Long-term potentiation of excitatory synaptic transmission. Exp Neurol 1987; 96: 19-32.

[10] Gilbert ME. Potentiation of inhibition with perforant path kindling: an NMDA-receptor dependent process. Brain Res 1991; 564: 109-116.

[11] Mlodzikowska-Albrecht J, Steinborn B, Zarowski M. Cytokines, epilepsy and antiepileptic drugs--is there a mutual influence? Pharmacol Rep 2007; 59: 129-138.

[12] Lazarova M, Przewlocka B, Mogilnicka E, Stala L. The effect of L-DOPA and L-5-hydroxytryptophan on the pentetrazole seizures in rats after lesions of the median raphe nucleus and substantia nigra. Pol J Pharmacol Pharm 1979; 31: 547-554.

[13] Loscher W, Czuczwar SJ. Evaluation of the 5-hydroxytryptamine receptor agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin in different rodent models of epilepsy. Neurosci Lett 1985; 60: 201-206.

[14] Yan QS, Jobe PC, Dailey JW. Evidence that a serotonergic mechanism is involved in the anticonvulsant effect of fluoxetine in genetically epilepsy-prone rats. Eur J Pharmacol 1994; 252: 105-112.

[15] Watanabe K, Ashby CR Jr., Katsumori H, Minabe Y. The effect of the acute administration of various selective 5-HT receptor antagonists on focal hippocampal seizures in freely-moving rats. Eur J Pharmacol 2000; 398: 239-246.

[16] Edagawa Y, Saito H, Abe K. Stimulation of the 5-HT1A receptor selectively suppresses NMDA receptor-mediated synaptic excitation in the rat visual cortex. Brain Res 1999; 827: 225-228.

[17] Edagawa Y, Saito H, Abe K. 5-HT1A receptor-mediated inhibition of long-term potentiation in rat visual cortex. Eur J Pharmacol 1998; 349: 221-224.

[18] Pericic D, Lazic J, Jazvinscak Jembrek M, Svob Strac D. Stimulation of 5-HT 1A receptors increases the seizure threshold for picrotoxin in mice. Eur J Pharmacol 2005; 527: 105-110.

[19] Moreau AW, Amar M, Callebert J, Fossier P. Serotonergic modulation of LTP at excitatory and inhibitory synapses in the developing rat visual cortex. Neuroscience 2013; 238: 148-158.

[20] Watanabe K, Ashby CR Jr., Katsumori H, Minabe Y. The effect of the acute administration of various selective 5-HT receptor antagonists on focal hippocampal seizures in freely-moving rats. Eur J Pharmacol 2000; 398: 239-246.

[21] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates: Academic press 2007.

[22] E. Hong, T.P. Singer, R. Ondarza. A serotonergic antihipertensive agent. Molecular Basis of Drug Action, Elsevier, Amsterdam 1981; 247-252.

[23] Fernández-Guasti A, López-Rubalcava C, Pérez-Urizar J, Castañeda-Hernández G. Evidence for a postsynaptic action of the serotonergic anxiolytics: ipsapirone, indorenate and buspirone. Brain Res Bull 1992; 28: 497-501.

[24] Martínez-Mota L1, Estrada-Camarena E, López-Rubalcava C. Indorenate produces antidepressant-like actions in the rat forced swimming test via 5-HT1A receptors. Psychopharmacology (Berl) 2002; 165: 60-66.

[25] Lopez-Meraz Ma L, Gonzoílez-Trujano Ma E, Neri-Bazoín L, Hong E, Rocha LL. 5-HT1A receptor agonists modify epileptic seizures in three experimental models in rats. Neuropharm 2005; 49: 367-375.

[26] Clinckers R, Smolders I, Meurs A, Ebinger G, Michotte Y. Anticonvulsant action of hippocampal dopamine and serotonin is dependently mediated by D2 and 5-HT1A receptors. J Neurochem 2004; 89: 834-843.

[27] Wada Y, Nakamura M, Hasegawa H, Yamaguchi N. Role of serotonin receptor subtype in seizures kindled from the feline hippocampus. Neurosci Lett 1992; 14: 121-24.

[28] Wada Y, Nakamura M, Hasegawa H, Yamaguchi N. Intra-hippocampal injection of 8-hidroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) inhibits partial and generalized seizures induced by kindling stimulation in cats. Neurosci Lett 1993; 15: 9179-9182.

[29] Wada Y, Shiraishi J, Nakamura M, Koshino Y. Role of serotonin receptor subtypes in the development of amygdaloid kindling in rats. Brain Res 1997; 747: 338-342.

[30] Behr J, Lyson KJ, Mody I. Enhanced propagation of epileptiform activity through the kindled dentate gyrus. J Neurophysiol 1998; 79: 1726-1732.

[31] Golarai G, Sutula TP. Functional alterations in the dentate gyrus after induction of long-term potentiation, kindling, and mossy fiber sprouting. J Neurophysiol 1996; 75: 343-353.

[32] Heinemann U, Beck H, Dreier JP, Ficker E, Stabel J, Zhang CL. The dentate gyrus as a regulated gate for the propagation of epileptiform activity. Epilepsy Res Suppl 1992; 1981: 273-280.

[33] Köhr G, Mody I. Kindling increases N-methyl-d-aspartate potency at single N-methyl-d-aspartate channels in dentate gyrus granule cells. Neuroscience 1994; 62: 975-981.

[34] Sayin Ü, Rutecki P, Sutula T. NMDA-dependent currents in granule cells of the dentate gyrus contribute to induction but not permanence of kindling. J Neurophysiol 1999; 81: 564-574.

[35] Dragunow M, Currie RW, Faull RL, Robertson HA, Jansen K. Immediate-early genes, kindling and long-term potentiation. Neurosci Bio Behav Rev 1989; 13: 301-313.

[36] Cain DP. Long-term potentiation and kindling: how similar are the mechanisms? Trends Neurosci 1989; 12: 6-10.

[37] Schubert M , Siegmund H, Pape HC, Albrecht D. Kindling-induced changes in plasticity of the rat amygdala and hippocampus. Learn Mem 2015; 12: 520-526.

[38] Winson, J. Influence of raphe nuclei on neuronal transmission from perforant pathway through dentate gyrus. J Neurophysiol 1980; 4: 937-950.

[39] Richter-Levin, G., and Segal, M. Effects of serotonin releasers on dentate granule cell excitability in the rat. Exp Brain Res 1990; 82: 199-207.

[40] Levkovitz Y, Segal M. 5-HT1A receptors modulate hippocampal reactivity to afferent stimulation. J Neurosci 1997; 17: 5591-5598.

[41] Freund TF, Gulyás AI, Acsady L, Gorcs T, Toth K. Serotonergic contro of the hippocampus via local inhibitory interneurons. Proc Natl Acad Sci 1990; 87: 8501-8505.

[42] Freund TF. GABAergic septal and serotonergic median raphe afferents preferentially innervate inhibitory interneurons in the hippocampus and dentate gyrus. Epilepsy Res Suppl 1992; 7: 79-91.

[43] Halasy K, Miettinen R, Szabat E, Freund TF. GABAergic interneurons are the major postsynaptic targets of median raphe afferents in the rat dentate gyrus. Eur J Neurosci 1992; 4: 144-153.

[44] Kao K, Sanders MJ, Green E. Physiological evidence for hippocampal disinhibition resulting from the activation of the median raphe. Brain Res 1997; 752: 90-98.

[45] Gulyás AI, Acsády L, Freund TF. Structural basis of the cholinergic and serotonergic modulation of GABAergic neurons in the hippocampus. Neurochem Intl 1999; 34: 359-372.

[46] Nitz DA, McNaughton BL. Hippocampal EEG and unit activity responses to modulation of serotonergic median raphe neurons in the freely behaving rat. Learn Mem 1999; 6: 153-167.

[47] Sanberg CD, Jones FL, Do VH, Dieguez D, Derrick BE. 5-HT1a receptor antagonists block perforant path-dentate LTP induced in novel, but not familiar, environments. Learn Mem 2006; 13: 52-62.

[48] Cagnotto A1, Crespi D, Mancini L, Manzoni C, Presti ML, Gariboldi M, Vezzani A, Mennini T. Lasting increase in serotonin 5-HT1A but not 5-HT4 receptor subtypes in the kindled rat dentate gyrus: dissociation from local presynaptic effects. J Neurochem 1998; 70: 850-857.

Role of 5HT1A receptor on potentiation of field potentials in dentate gyrus of pentylenetetrazol -kindled rats

Atefeh Kiani Nejad (M.Sc)[1], Gholamhassan Vaezi (Ph.D)[1], Hassan Azhdari-Zarmehri (Ph.D)[2,3], Mohammad Mohammad-Zadeh (Ph.D)[4]

1- Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Damghan Branch Islamic Azad University, Damghan, Iran

2 - Dept. of Basic Sciences, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat heydariyeh, Iran

3 - Neuroscience Research Center, Torbat heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat heydariyeh, Iran

4 - Dept. of Physiology & Pharmacology, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

(Received: 10 Sep 2015; Accepted: 19 Dec 2016)

***Introduction**:* There are many evidence to indicate the role of serotoninergic system and serotoninergic activation in seizure attacks. Given the role of serotonin 5-HT1A receptors in synaptic activity and seizure models, and, the similarity of the mechanisms involved in causing seizures and long term potentiation (LTP), the purpose of this study was to investigate the role of this receptor in pentylenetetrazol (PTZ)-induced synaptic strengthening.

***Materials and Methods**:* 24 Male Wistar rats (n=20, 220-320 g) were divided into 6 groups; Group1 (control); without any interference after surgery stereotoxic placement of stimulation electrode, Local Field Potential (LFP) was recorded for 20min .Then; the LTP was induced with tetanic stimulation. Group2: All experimental procedures were similar to the group 1, the difference was that the one-month period before the surgery, the animals kindled with PTZ injection. Groups 3-5: All experimental procedures were similar to the group 2, the difference was that the serotonin receptor antagonist (WAY-100635; at a concentration 12.5, 25 and 50nM) was injected intraventricularly. Group 6 received WAY-100635 only.

***Results**:* The results showed that groups 1 and 2 were different responded from one another after LTP induction of LTP with tetanic pulse ($p<0.001$). Field Excitatory Post-synaptic Potential (fEPSP) and Population Spike (PS) decreased significantly in groups of 3-5 compared to group 2($p<0.001$). Also, administration of WAY-100635 reduce fEPSP and PS.

***Conclusion**:* The results showed that 5HT1A receptor antagonist attenuated the induction of LTP in kindled animals. It seems that serotonin agonist that enhances LTP induction and thus may be useful in enhancing learning and memory in people with epilepsy.

***Keywords**:* Epilepsy, Kindling, Serotonin 5HT1A Receptor Antagonist, Electric Stimulation, Rats

❊ Corresponding author. Tel: +98 51 44018319

mohamadzadehm@medsab.ac.ir