فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۴، شماره ۱، بهار و تابستان ۷۹

تأثیر کیندلینگ شیمیایی بر انتقال سیناپسی بین انشعابات جانبی شافر و سلول‌های هرمی ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ در موش بیهوش

محمدرضا پالیزوان، یعقوب فتح الهی
دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

صرع یکی از اختلالات رایج عصبی در انسان است. مشاهدات بالینی نشان داده اند که بیماران صرعی اغلب نارسایی هایی را در یادگیری و حافظه از خود نشان می‌دهند. کیندلینگ بعنوان مدلی آزمایشگاهی جهت بررسی صرع و عوارض جانبی آن است. در این مدل تحریکات الکتریکی یا شیمیایی ضعیف که در ابتدا تشنج ایجاد نمی‌کند، به تدریج باعث ایجاد رفتار تشنجی در حیوان می‌شوند. در این تحقیق اثر کیندلینگ شیمیایی با پنتلین تترازول بر انتقال سیناپسی انشعابات جانبی شافر و نورون‌های هرمی ناحیه CA1 مورد بررسی قرار گرفته است. این تحقیق به دو گروه آزمایش مجزا تقسیم شده است. در آزمایش اول که جهت بررسی اثرات کوتاه مدت کیندلینگ شیمیایی (۱۴۴-۴۸ ساعت پس از پایان تحریکات) طراحی شده است هیچکدام از متغیرهای اندازه گیری شده یعنی شیب (Population Excitatory Postsynaptic Potential)، pEPSP اندازه پتانسیل عمل (Population Spike,PS) و فاصله زمانی بین شروع تحریک الکتریکی و حداکثر دامنه پتانسیل عمل در گروه‌های کنترل و کیندل شده اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهند اما در آزمایش دوم که جهت بررسی اثرات درازمدت کیندلینگ شیمیایی (۳۳-۳۰ روز پس از پایان کیندلینگ) انجام گرفت، اندازه PS در گروه کیندل بطور معنی‌داری ($P<0/01$) از اندازه آن در گروه کنترل بزرگتر بود. این موضوع نشان‌دهنده افزایش طولانی مدت تحریک‌پذیری نورون‌های ناحیه CA1 بدنبال کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول است.

واژه‌های کلیدی : تشنج، کیندلینگ، هیپوکمپ، پتانسیل‌های میدانی، موش صحرائی.

مقدمه

صرع یکی از اختلالات رایج عصبی در انسان است [۲۴] مشاهدات بالینی نشان داده است که بیماران صرعی اغلب نارسایی‌هایی را در یادگیری و حافظه از خود نشان می‌دهند[۱۱] اما به دلیل عدم شناخت کافی از آسیب زایی این اختلال، تاکنون راهی قطعی جهت درمان و یا کاهش عوارض جانبی آن یافت نشده است. از جمله مدل‌هایی که امروزه جهت بررسی صرع به شکل گسترده در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی مورد استفاده محققان قرار می‌گیرد، مدل کیندلینگ است [۱۲،۱۴،۱۹،۲۰،۲۸]. در این مدل، تحریکات زیر آستانه ای پشت سر هم مغز توسط جریان الکتریکی و یا مواد شیمیایی سبب ایجاد تشنجات

رفتاری می‌گردد که به تدریج بر شدت آنها افزوده شده و در نهایت به حملات Tonic/clonic منجر می‌گردد [۱۸].

پنتیلن تترازول (Pentylenetetrazol=PTZ) یکی از مواد تشنج‌زای سیستمیک است که به طور وسیعی برای ایجاد فعالیت صرعی در حیوانات آزمایشگاهی بکار می‌رود [۱،۲،۱۶].

تزریق مکرر غلظتی از PTZ که تشنج زا نیست، در موش‌های صحرائی به حساس شدگی و کیندلینگ شیمیایی آنها منجر می‌گردد [۲،۳،۶]. برای ایجاد فعالیت صرعی به صورت in vivo از غلظت PTZ بین ۴۰ تا ۷۰ میلیگرم به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان استفاده می‌کنند. مطالعات بیوشیمیایی و فارماکولوژیک نشان داده‌اند که اثرات تشنج‌زای PTZ به انسداد کانال کلر مرتبط با گیرنده $GABA_A$ مربوط می‌گردد [۱،۸،۲۲]. نشان داده شده است که کیندلینگ الکتریکی و کیندلینگ شیمیایی ناشی از بکاربردن PTZ می‌توانند سبب اختلال یادگیری در حیوانات تحت تجربه گردند [۱۰،۲۳]. هیپوکمپ نه تنها در حافظه و یادگیری [۵،۷] بلکه در شروع، انتشار و خاتمه تشنج نیز دخالت دارد [۲۷]. بعلاوه هیپوکمپ به دو دلیل جهت مطالعه تغییرات ایجاد شده در خصوصیات الکتروفیزیولوژیک مدارهای نورونی موضعی مناسب است.

الف ـ هیپوکمپ دارای ساختمان لایه ای است و به همین دلیل با دقت نسبتاً بالایی می‌توان محل قرارگیری الکترودهای تحریکی را تعیین و انواع مختلف پتانسیل‌های میدانی را ثبت نمود.

ب ـ اطلاعات نسبتاً خوبی در مورد خواص سلول‌های هیپوکمپ و اساس فیزیولوژیک مدارهای هیپوکمپ در موش صحرائی در دست است. در داخل هیپوکمپ، فیبرهای جانبی شافر را جهت تحریک و لایهٔ جسم سلولی نورون‌های هرمی را جهت ثبت انتخاب کردیم.

در حال حاضر علت نوروفیزیولوژیک اختلال یادگیری در حیوانات کیندل شده روشن نشده است. دژنراسیون نورونی مغز بخصوص در ناحیه CA1 هیپوکمپ [۲۵] و تغییر عمل سیناپس‌های قابل تغییری که اطلاعات جدید را ذخیره می‌کنند به عنوان توضیح احتمالی اختلال یادگیری مشاهده شده بدنبال کیندلینگ درنظر گرفته می‌شوند [۲۳]. هدف این تحقیق بررسی اثرات کوتاه مدت و دراز مدت کیندلینگ ناشی از PTZ بر روی فعالیت سیناپسی در ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ است.

مواد و روش‌ها

حیوانات : در این تحقیق از موش‌های صحرائی نر نژاد NMRI با وزن بین ۲۵۰ تا ۳۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در اتاقی با درجه حرارت حدود ۲۴ درجه سانتیگراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند و آب و غذا بطور آزاد در اختیار آنها قرار داشت.

ایجاد کیندلینگ در حیوانات : به منظور ایجاد کیندلینگ داروی PTZ (۴۵mg/kg ، داخل صفاقی، تهیه شده از شرکت Sigma) هر ۴۸ ساعت یکبار به موش‌ها تزریق شد. پاسخ‌های تشنجی بر اساس تحقیقات قبلی [۱۰] به شکل زیر طبقه بندی شده‌اند : مرحله صفر= عدم پاسخ؛ مرحله اول = انقباض عضلات صورت و گوش‌ها؛ مرحله دوم = موج انقباضی بدن؛ مرحله سوم = پرش‌های میوکلونیک و ایستادن روی دوپا؛ مرحله چهارم = افتادن به پهلو و مرحله پنجم = افتادن به پشت و حملات عمومی تونیک کلونیک. فعالیت تشنجی در طول ۲۰ دقیقه پس از تزریق PTZ مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. حیوانات گروه کنترل بجای PTZ، محلول سالین یک نرمال دریافت

می‌کردند. جهت بررسی اثرات کوتاه مدت و دراز مدت کیندلینگ PTZ بر روی انتقال سیناپسی ناحیه CA1، تحقیقات بر روی حیوانات بیهوش و در دو دوره زمانی انجام گرفت؛ دوره اول ١٤٤-٤٨ ساعت پس از پایان کیندلینگ (کوتاه مدت) و دوره دوم ٣٣-٣٠ روز پس از پایان کیندلینگ (دراز مدت).

جراحی : حیوانات با تزریق اورتان (١/٢ g/kg ؛ داخل صفاقی) بیهوش شده و مطابق اطلس پاکسینوس و واتسون [٢١] در داخل دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. سوراخی به قطر یک میلیمتر (با مختصات ٣/٣mm به عقب ٢mm به سمت راست نسبت به برگما) برای قراردادن الکترود دو قطبی تحریکی و سوراخ دیگری به قطر یک میلی متر (با مختصات ٤/٥ mm به عقب و mm ٣ به سمت راست نسبت به برگما) برای قراردادن میکروالکترود شیشه ای ثبات ایجاد گردید. سپس توسط یکی از بازوهای دستگاه استریوتاکسی میکروالکترود شیشه ای حاوی محلول یک نرمال سالین که دارای مقاومت ظاهری ٢ تا ٥ مگااهم بود بر روی لایه سلول‌های هرمی قرار داده شد و توسط بازوی دیگر استریوتاکسی الکترود دو قطبی تحریکی از جنس فولاد زنگ نزن با پوشش تفلونی بر روی انشعابات جانبی شافر قرارگرفت. پس از قرار گیری مناسب الکترودها، با تحریک انشعابات جانبی شافر، ثبت از ناحیه جسم سلولی سلول‌های هرمی ناحیه CA1 امکان پذیر بود.

الکتروفیزیولوژی : هنگامی که الکترود ثبات به داخل مغز فروبرده می‌شود، ابتدا از ناحیه جسم سلولی نورون‌های هرمی ثبت انجام می‌گیرد. این ثبت به شکل یک (population Excitatory Postsyaptic Potential) pEPSP مثبت است که ممکن است بر روی آن یک پتانسیل عمل منفی نیز ثبت گردد (شکل ١). با فروبردن بیشتر الکترود ثبات، به تدریج pEPSP کوچکتر شده در نهایت محو می‌گردد. سپس فعالیت دندریت‌های سلول‌های هرمی ثبت می‌گردد که به شکل یک pEPSP منفی است که گاهی بر روی آن یک پتانسیل عمل مثبت دیده می‌شود. جهت انجام این آزمایش در تمام گروه‌ها الکترود ثبات بر روی لایه جسم سلولی نورون‌های هرمی ناحیه CA1 قرار داده شد. به منظور تحریک الکتریکی از موج‌های مربعی به پهنای ٢٠٠ میکروثانیه و فرکانس ٠/١ هرتز استفاده شد. جریان الکتریکی به کار رفته بین ١٠٠ تا ٥٠٠ میکروآمپر بود. پتانسیل‌های میدانی با سه شدت تحریک حداقل، متوسط و حداکثر ثبت می‌شدند.

کمیت‌های مورد بررسی : پاسخ‌ها پس از دریافت، تقویت و پالایش (در محدودهٔ ١ هرتز تا ١٠ کیلو هرتز) گردیدند. شکل نهایی پاسخ با استفاده از برد تبدیل سیگنال‌های آنالوگ به دیجیتال (Analoge to digital = A/D) به شکل رقمی تبدیل شده و با سرعت ٢٠ کیلوهرتز نمونه‌برداری و در حافظه کامپیوتر ذخیره گردید. نمونه برداری پس از اعمال تحریک ٦٤ میلی ثانیه بود. سپس میانگین ده پاسخ متوالی از ثبت‌ها محاسبه شده و از روی میانگین به دست آمده، شیب pEPSP، اندازه PS و فاصله زمانی بین تحریک و حداکثر اندازه PS محاسبه شد. نحوه اندازه گیری این متغیرها در شکل ١ آورده شده است.

بافت شناسی : تمامی حیوانات در پایان آزمایش‌ها کشته شده و مغز آنها در فرمالین قرار می‌گرفت تا پس از برش‌گیری موقعیت الکترودها مورد ارزیابی قرار گیرد.

تجزیه و تحلیل آماری : نتایج حاصل به صورت میانگین ± خطای معیار همراه با ذکر تعداد حیوانات مورد بررسی در هر آزمایش ارایه گردیده است. از آزمون ANOVA repetitive measures برای مقایسه زمان‌های

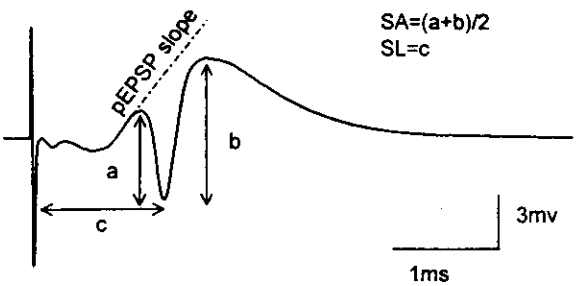
مختلف و شدت‌های متفاوت در هر گروه و completely randomized جهت مقایسه بین گروه‌ها) و بدنبال آن از آزمون Tukey برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید. اختلاف در سطح P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شده است.

نتایج

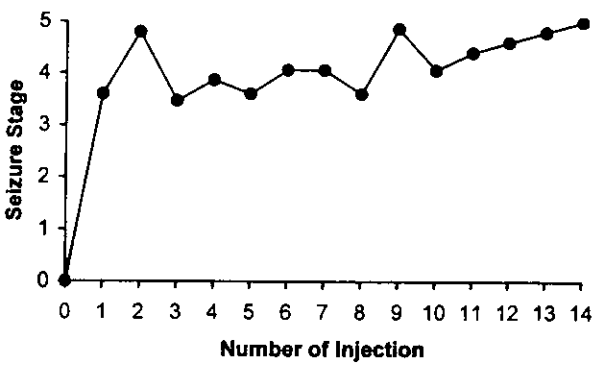
ایجاد کیندلینگ : با تزریق اولین دوز PTZ (٤٥mg/kg) برخی از موش‌ها مراحل مختلف تشنج را از خود نشان می‌دادند. با ادامه تزریقات بتدریج مراحل پیشرفته‌تر تشنج در حیوانات ظاهر می‌شد بطوری که پس از ۱۳ بار تزریق PTZ تمامی حیوانات مرحله پنجم تشنج را از خود نشان دادند (شکل ۲). در طول ایجاد کیندلینگ، تعداد ۳ موش از گروه ذکر شده در اثر شدت تشنج مردند.

اندازه گیری پتانسیل های میدانی ١٤٤-٤٨ ساعت پس از پایان کیندلینگ : در تمام متغیرهای اندازه‌گیری شده در این گروه یعنی شیب pEPSP (P=۰/۲٦ ، F ۱/٤٥=۱/۳۲)، اندازه متوسط PS (P=۰/٤٨، F ۱/٤٥=۰/٥) و فاصله زمانی بین تحریک الکتریکی و حداکثر اندازه PS (P=۰/۹۰، F ۱/٤٥=۰/۰۱٤) (Spike Latency)=SL گروه کنترل و کیندل شده تفاوت معنی داری را نشان نمی‌دهد (جدول ۱).

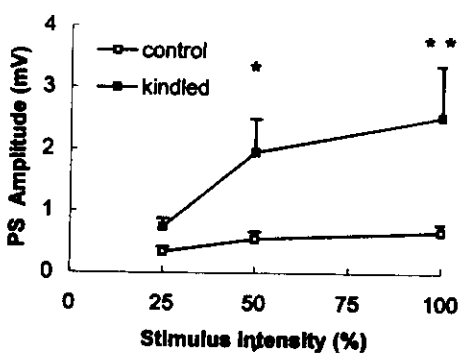
اندازه گیری پتانسیل‌های میدانی ۳۳-۳۰ روز پس از پایان کیندلینگ : اندازه متوسط PS در موش‌های کیندل شده بطور معنی داری از موش‌های گروه کنترل بزرگتر است (P=۰/۰۰۱ ، F ۱/٤۲=۱۲/٦۰) (شکل ۳و٤). متغیرهای دیگر مورد اندازه گیری یعنی SL (P=۰/۲۸ F ۱/٤۲=۱/۲۲) و شیب pEPSP (P=۰/۲٤ ، F۱/٤۲=۱/٤٤) گروه کنترل و کیندل شده تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲).



شکل ۱ - نمونه پاسخ ثبت شده از لایه جسم سلولی نورون‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکمپ موش صحرایی بیهوش. در شکل، روش اندازه گیری PS، SL و شیب pEPSP نشان داده شده است.



شکل ۲ - .افزایش پیش‌رونده تشنجات به دنبال تزریق مکرر پنتیلن تترازول (n=۱٥).



شکل ۳ - مقایسه میانگین اندازه PS در گروه‌های کنترل (n=۸) و کیندل شده (n=۸) ۳۳-۳۰ روز پس از پایان کیندلینگ. *P<۰/۰٥ و **P<۰/۰۱

جدول ١ - شیب pEPSP ، اندازه PS و اندازه SL ١٤٤-٤٨ ساعت پس از پایان کیندلینگ

شدت تحریک	اندازه SL		اندازه PS		شیب pEPSP	
	کنترل	کیندل شده	کنترل	کیندل شده	کنترل	کیندل شده
حداقل	٧/٥٣±٠/٦	٧/٧٠±٠/٨٦	٠/٣٤±٠/٠٧	٠/٣٠±٠/١٠	٠/١٢±٠/٠٢	٠/٠٨±٠/٠٢
متوسط	٦/٩٧±٠/٦	٦/٦٧±٠/٥٢	٠/٥٧±٠/١٠	٠/٧١±٠/٢٦	٠/١٦±٠/٠٣	٠/١٣±٠/٠٣
حداکثر	٦/٤٣±٠/٤٥	٦/٧٢±٠/٣٩	٠/٧٠±٠/٣٣	٠/٩٠±٠/٣٢	٠/١٨±٠/٠٤	٠/١٦±٠/٠٤

اعداد نشان دهنده میانگین ± خطای معیار میانگین در گروههای کنترل (n=٩) و کنیدل شده (n=٨) می‌باشد.

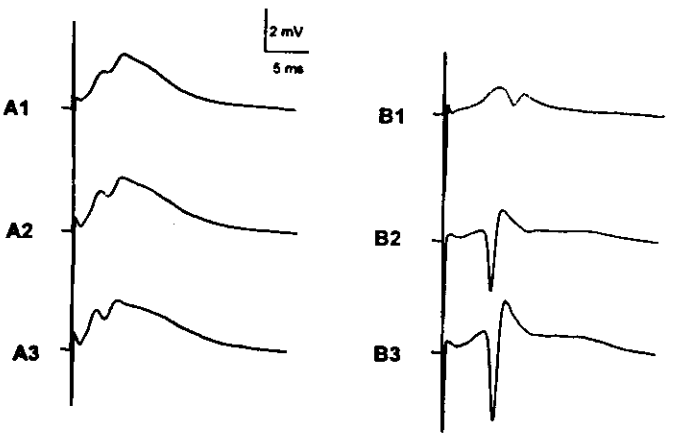
جدول ٢ - شیب pEPSP و اندازه SL در ٣٣-٣٠ روز پس از پایان کیندلینگ

شدت تحریک	اندازه SL		شیب pEPSP	
	کنترل	کیندل شده	کنترل	کیندل شده
حداقل	٧/١٥±٠/٥٣	٦/٩٢±٠/٦٦	٠/١١±٠/٠٣	٠/١٣±٠/٠٥
متوسط	٦/٦٣±٠/٥٧	٦/٠٦±٠/٤٤	٠/١٤±٠/٠٣	٠/٢٠±٠/٠٨
حداکثر	٦/٢٠±٠/٤٣	٥/٥٧±٠/٤٧	٠/١٧±٠/١١	٠/٢٥±٠/٠٧

اعداد نشان دهنده میانگین ± خطای معیار میانگین در گروههای کنترل (n=٨) و کیندل شده (n=٨) می‌باشد.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که کیندلینگ شیمیایی دردراز مدت (٣٣-٣٠ روز) سبب تغییر ارتباط سیناپسی بین انشعابات جانبی شافر و سلول‌های CA1 هیپوکمپ می‌گردد. اگر چه اختلاف معنی‌داری بین شیب pEPSP در گروه کنترل و کیندل شده وجود ندارد اما شیب pEPSP در گروه کیندل شده (٣٣-٣٠ روز) بزرگتر از گروه کنترل مربوطه است. از طرف دیگر دامنه PS در گروه کیندل (٣٢-٣٠ روز) بطور معنی داری از دامنه PS در گروه کنترل بزرگتر است، در حالیکه دامنه PS بین گروه کیندل شده (١٤٤-٤٨ ساعت) و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری ندارد. دامنه PS نشان دهنده تعداد و همزمانی تخلیه‌های نورون‌های هرمی هیپوکمپ است. افزایش pEPSP می‌تواند به افزایش فعالیت همزمان نورون‌ها کمک کند [١٧] که نتیجه این اثر افزایش



شکل ٤- نمایش پاسخ‌های ثبت شده از گروه کنترل (A) و کیندل شده (B) در سه شدت تحریک حداقل (1) ، متوسط (2) و حداکثر (3) : ٣٠ تا ٣٣ روز پس از پایان کیندلینگ.

دامنه PS خواهد بود. در ٦ موش از موش‌های گروه‌های کنترل (١٤٤-٤٨ ساعت و ٣٣-٣٠ روز) بر روی pEPSP پتانسیل عمل تجمعی مشاهده نشد ولی در تمام موش‌های گروه‌های کیندل شده بر روی pEPSP پتانسیل عمل تجمعی وجود داشت. در تحقیقات قبلی بر روی کیندلینگ الکتریکی نیز مشخص شده بود که بعداز تحریکات هفتم تا دهم پتانسیل عمل تجمعی بر روی pEPSP ظاهر می‌گردد که نشان دهنده افزایش تحریک پذیری نورون‌ها به علت کیندلینگ است [١٥] افزایش تحریک پذیری نورون‌ها را در درازمدت بدنبال کیندلینگ بوسیله ثبت تک واحدی نیز نشان داده اند [١٣]. در گروههای کیندل شده (١٤٤-٤٨ ساعت و ٣٣-٣٠ روز) علاوه بر PS مربوطه، اسپایک‌های اضافه‌ای نیز در ثبت‌ها مشاهده شده است که همانند نتایج بدست آمده از تحقیقات قبلی است. Stringer نشان داده است که بدنبال تزریق سیستمیک PTZ با هر تحریک دو PS ثبت می‌گردد [٢٦]. Barkal و همکارانش نیز پتانسیل‌های میدانی تشنجی را پس از کیندلینگ شیمیایی با PTZ نشان داده اند [٤]. همین پدیده را نیز ما پس از کیندلینگ شیمیایی با PTZ بر روی اسلایس نشان داده‌ایم [٩]. پیدایش PS اضافی ممکن است ناشی از افزایش تحریک‌پذیری که بدنبال کیندلینگ در CA1 ایجاد می‌گردد باشد که البته این پدیده ٣٠ تا ٣٣ روز پس از پایان کیندلینگ نیز باقی می‌ماند. این حالت احتمالاً می‌تواند ناشی از تغییرات پایدار در مدارهای نورونی مهاری ویا تغییر ساختمانی در غشاء سلول‌های هرمی ناحیه CA1 باشد.

نتایج قبلی بر روی اسلایس نشان داده است که در موش‌های کیندل شده (٣٣-٣٠ روز) میزان PS تغییر پیدا نمی‌کند در حالیکه شیب pEPSP به شکل معنی‌داری افزایش می‌یابد [٩]. این اختلاف می‌تواند ناشی از قطع مدارهای مهاری عرضی در هیپوکمپ باشد که بدنبال تهیه اسلایس ایجاد می‌گردد. بطور خلاصه نتایج ما نشان می‌دهند که قرار گرفتن مکرر نورون‌ها و مدارهای نورونی هیپوکمپ در معرض PTZ تحریک پذیری طولانی را در این ناحیه افزایش می‌دهد که احتمالاً در اثر سازماندهی مجدد مدارهای عصبی بوده و بصورت افزایش PS بروز می‌کند و با ثبت پتانسیل میدانی در موش‌های بیهوش قابل بررسی است.

منابع

[1] Angelatu, F., Pagnopoulou, D, and Kastopoulous, G., Alteration of A1 adenosine receptor in different mouse brain after pentylenetetrazol-induced seizures, but not in the epileptic mutant tottering, ***Brain Res.***, 534 (1990) 251-256.

[2] Angelatu, F., Pagnopoulou D. and Kostopoulus, G., Changes in seizure latency correlate with alteration in A1 adenosine receptor binding during daily repeated pentylenetetrazol-induced convulsion in different mouse brain area. ***Neurosci. Lett.***, 13 (1991) 203-206.

[3] Bakay, R.E. and Harris, A.B. Neurotransmitter receptor and biochemical change in monkey cortical epileptic foci, ***Brain Res.***, 206 (1981) 41-44.

[4] Barkal, E., Grossman, Y. and Gutnick, M.J., Long-term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentyleneterazol an in vitro study, ***J. Neurophysiol.***, 72 (1994) 72-83.

[5] Barnes, C.A., Spatial learning and memory processes: the search for their neurobiological mechanisms in the rat, ***TINS***, 11 (1988) 163-169.

[6] Becker, A., Grecksch, G, and Brosz, M., Naloxone ameliorates the learning deficit induced by pentylenetetrazol kindling in rats, ***Eur. J. Neurosci.***, 6 (1994) 1512-1515.

[7] Bliss, T.V.P. and Colingridge, G.L., A

synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus, ***Nature,*** 361 (1993) 31-39.

[8] Corda, M.G., Giorgi, D., Longoni, B., Orlandi, M. and Biggio, G., Decrease in the function of 8 amino butyric acid coupled chloride channel produced by repeated administration of pentylenetetrazol to rat, ***J. Neurochem.,*** 55 (1990) 1216-1221.

[9] Fathollahi, Y., Motamedi, F., Semnanian, S. and Zardoshti, M., Examination of persistent effects of repeated administration of pentylenetetrazol on rat hippocampal CA1: evidence from in vitro study on hippocampal slices, ***Brain Res.,*** 758 (1997) 92-98.

[10] Grecksh, G., Becker, A., Godau, C. and Matthies, H., Gangliosides improve a memory deficit in pentylenetetrazol-kindled rats, ***Pharmacol. Biochem. Behav.,*** 39 (1991) 825-828.

[11] Holmes, G.L., The long-term effects of seizures on the developing brain: Clinical and laboratory issues, ***Brain Dev.,*** 13 (1991) 393-409.

[12] Kamphuis, W., Deriyk, T. C., Talamini, L. M. and Lopes da Silva, F.H., Rat hippocampal kindling induces changes in the glutamate receptor mRNA expression patterns in dentate granule neurons, ***Eur. J. Neurosci.,*** 6 (1994) 1119-1127.

[13] Kamphuis, W., Gorter J.A., da Silva F.L., A long-lasting decrease in the inhibitory effect of GABA on glutamate responses of hippocampal pyramidal neurons induced by kindling epileptogenesis, ***Neuroscience,*** 41 (1991) 425-431.

[14] Kamphuis, W., Huisman. E., Veerman. M.J. and Lopes da Silva, F.H., Development of changes in endogenous GABA release during kindling epileptogenesis in rat hippocampus, ***Brain Res.,*** 545 (1997) 33-40.

[15] Kamphuis, W., Lopes da Silva, F.H. and Wadman, W.J., Changes in local evoked potentials in the rat hippocampus (CA1) during kindling epileptogenesis. ***Brain Res.,*** 440 (1988) 205-215.

[16] Klocker, N., Mubhaff. U., Madeja, M. and Speckmann, E.J., Activation of ATP-sensitive potassium channels in follicle-enclosed xenopus oocytes by the epileptogenic agent pentylenetetrazol., ***Eur. J. Physiol.,*** 431 (1996) 736-740.

[17] Leung, L.S. and Au, A.S., Long term potentiation as a function of test pulse intensity: a study using input/output profiles, ***Brain Res. Bull.,*** 33 (1994) 453-460.

[18] Luthman, J. and Humpel, C., Pentylenetetrazol kindling decreases N-methyl-D-aspartate and Kainate but increases gamma-aminobutyric acid-A receptor binding in discrete rat brain areas, ***Neurosci, Lett.,*** 239 (1997) 9-12.

[19] Mody, I. and Heinemann, U., NMDA receptors of dentate gyrus granule cells participate in synaptic transmission following kindling, ***Nature,*** 326 (1987) 701-704.

[20] Morrisett, R.A., Chow, C., Nadler, J.V. and McNamara, J.O., Biochemical evidence for enhanced sensitivity to N-Methyl-D-aspartate in the hippocampal formation of kindled rats ***Brain Res.,*** 496 (1988) 25-28.

[21] Paxinos, G. and Watson, C., ***The rat brain in sterotaxic coordinates,*** Academic press, New York, 1982.

[22] Psarropoulou, C., Matsokis, n., Angelatou, F. and Kostopoulous, G. Pentylenetetrazol-induced seizures decrease γ-aminobutyric acid-mediated recurrent inhibition and enhance adenosine-mediated depression, ***Epilepsia,*** 35 (1994) 12-19.

[23] Robinson, G.B., McNeil H.A.and Reed, G.D., Comparision of the short and long-lasting effects of perforant path kindling on radial maze learning, ***Behav. Neurosci.,*** 107 (1993) 988-995.

[24] Rall, T.W. and Shleifer, L.S., Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In: ***The Pharmacological Basis of Therapeutics,*** Eds. Goodman Gilman, A., Rall, T.W., Nies, A.S. and Taylor, P., Pergamon Press, New York, (1991) 456-462.

[25] Rogers, B.C., Barnes. M.I., Clifford, L.M. and Tilson, H.A., Functional deficits after sustained stimulation of the perforant path, ***Brain Res.,*** 493 (1989) 41-50.

[26] Stringer, J.L., Pentylenetetrazol causes polysynaptic responses to appear in the dentate gyrus, ***Neuroscience,*** 68 (1995) 407-413.

[27] Taylor, C.D., How do seizures begin? Clues from hippocampal slices. ***TINS,*** 11 (1988) 375-378.

[28] Yamada, N. and Bilkey. D., K., Kindling-induced persistent alterations in the membrane and synaptic properties of CA1 pyramidal neurons, ***Brain Res.,*** 561 (1991) 324-331.