



Effect of different frequencies of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on acquisition of chemical kindling seizures in rats

Somayeh Mongabadi¹, S. M.P. Firoozabadi^{1*}, Javad Mirnajafi-Zadeh²

1. Dept. Medical Physics, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2. Dept. Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 20 Dec 2007

Revised: 5 Apr 2008

Accepted: 12 Apr 2008

Abstract

Introduction: Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) modulates the excitability of cortical neural networks. The effect of rTMS on excitability of cortical networks depends on its frequency. According to the previous reports, a distinction is made between low (<1 Hz) and high frequencies of rTMS. Low frequencies of rTMS inhibit seizure but high frequencies increase it. In the current study, we tried to investigate the effect of different frequencies of rTMS on chemical kindling induced seizure in rats.

Methods: Chemical kindling was induced by i.p. injections of pentylenetetrazol (PTZ) 45 mg/kg, 3 times per week. Effects of different frequencies of rTMS (0.25, 1 and 5 Hz) on kindling acquisition was investigated. rTMS was applied 30 minutes after PTZ injections. Stimulation was delivered at motor threshold intensity (4s, 4 stimulus interval of 10 s).

Results: Maximum stage of behavioral seizure decreased by 0.25 Hz rTMS and increased by 5 Hz rTMS. Stages 4 and 5 latencies were increased by 0.25 Hz rTMS and decreased by 5 Hz rTMS. Stage 5 duration was decreased by 0.25 Hz rTMS and increased by 5 Hz rTMS.

Discussion: Our results showed that application of rTMS had significant effect on seizure parameters in the acquisition period. Lower frequencies of rTMS seem to be more effective.

Key word: rTMS, Epilepsy, Seizure, Pentylenetetrazol, Chemical Kindling, Rat.

* Corresponding Author Email: Pourmir@modares.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

اثر فرکانس‌های مختلف تحریک مغناطیسی مغز (TMS) بر اکتساب تشنج‌های ناشی از کیندلینگ شیمیایی در موش‌های صحرایی

سمیه منگابادی^۱، سیدمحمد فیروزآبادی^{۱*}، سیدجواد میرنجفی زاده^۲
 ۱. گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
 ۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
 دریافت: دی ۸۶ بازبینی: فروردین ۸۷ پذیرش: فروردین ۷۸

چکیده

مقدمه: تحریک مغناطیسی مغز (rTMS) می‌تواند تحریک پذیری نورونهای کورتکس مغز را تغییر دهد. تحریک غیر تهاجمی مغز انسان، یک توالی پیچیده از رویدادها با اثرات بیابایی مهارتی و تحریکی را به دنبال دارد. عموماً فرکانس‌های پایین (کمتر از ۱ هرتز) مهارتی اند و فرکانس‌های بالا تحریک پذیری کورتکس را افزایش می‌دهند. در تحقیق حاضر اثرات فرکانس‌های مختلف rTMS بر تشنجات ناشی از کیندلینگ شیمیایی پنتیلن تترازول (PTZ) مورد بررسی قرار گرفته است.

روش‌ها: حیوانات در طی ۴ هفته (سه تزریق در هفته) تحریک تشنج زا (PTZ) را دریافت کردند. برای بررسی اثر rTMS، بر روند اکتساب کیندلینگ حیوانات ۳۰ دقیقه بعد از تزریق PTZ، rTMS با فرکانس‌های ۱/۲۵، ۱ و ۵ هرتز در شدت برابر با استانه حرکتی حیوان به مدت ۴ ثانیه (۴ دفعه با فاصله زمانی ۱۰ ثانیه) دریافت کردند. رفتار حیوان به مدت ۲۰ دقیقه پس از هر تزریق PTZ بررسی و حداکثر مرحله رفتاری تشنج، مدت زمان تأخیر مراحل ۲، ۴ و ۵ و طول دوره تشنج مرحله ۵ در هر مورد ثبت شد. اثر فرکانس‌های مختلف rTMS بر پارامترهای فوق در روند القای کیندلینگ بررسی شد. حیوانات به مدت ۴ هفته با تزریق PTZ کیندل شدند.

یافته‌ها: اعمال rTMS در فرکانس ۱/۲۵، هرتز حد اکثر مرحله رفتاری مشاهده شده را نسبت به گروه کنترل به طور معنی دار کاهش و در فرکانس ۵ هرتز افزایش داد. نتایج نشان داد rTMS در فرکانس ۱/۲۵، هرتز زمان تأخیر مرحله ۴ و ۵ تشنج را افزایش داد و در فرکانس ۵ هرتز آنها را کاهش داد. rTMS در فرکانس ۱/۲۵، هرتز مدت تشنج مرحله ۵ را با طور معنی داری کاهش و در فرکانس ۵ هرتز آن را افزایش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد فرکانس‌های پایین rTMS نقش تعیین کننده در بروز اثرات ضد تشنجی و ضد صرعی دارد. اعمال rTMS بر روند کیندلینگ در فرکانس ۱/۲۵، و ۱ هرتز اثرات مهارتی و در فرکانس ۵ اثر تحریکی دارد.

واژه‌های کلیدی: تحریک مغناطیسی، صرع، تشنج، پنتیلن تترازول، کیندلینگ شیمیایی، موش صحرایی.

مقدمه

بوسیله میدانهای الکترومغناطیسی خارجی متغیر با زمان، تحریک شوند. در TMS تحریک بوسیله پالسهای شدید و موثر جریان I(t) از کوئیل که در روی سر قرار می‌گیرد، ایجاد می‌شود. این جریان در شدت زیاد، باعث تولید میدان مغناطیسی متغیر با زمان با دوام $100 - 200 \mu s$ و با شدتی تقریباً برابر با ۲T می‌شود [۲۱].

تحریک مغناطیسی مغز (TMS) تحریک غیر تهاجمی وبدون درد را در سر انسان ایجاد می‌کند [۸]. نورونها می‌توانند

pourmir@modares.ac.ir
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

نشده است. یکی از مهمترین کمیت‌های rTMS فرکانس آن است [۱۰]. از طرف دیگر مدت زمان اعمال آن نقش مهمی در اثر بخشی می‌تواند داشته باشد. تحقیقات گذشته نشان داده است که rTMS با فرکانسهای کم نیز اثرات درمانی در صرع می‌تواند داشته باشد [۲۸،۲۵]. در تعدادی موارد صرع مقاوم به درمانهای دارویی حتی فرکانسهای بالای تحریک نیز قادر به کاهش فرکانسهای حملات صرعی بوده است [۵]. در تحقیقات گذشته پارامترهای مختلف تحریک (فرکانس، شدت میدان، دوره اعمال تحریک و...) به دقت مورد بررسی قرار نگرفته است. در حال حاضر، طبق بررسی‌های ما گزارشی مبتنی بر اثر فرکانسهای مختلف rTMS در شرایط یکسان و در تشنجهای مزمن در مدل کیندلینگ شیمیایی ناشی از PTZ که بعنوان مدلی برای صرع عمومی است وجود ندارد، لذا در این تحقیق سعی داریم اثر فرکانسهای مختلف rTMS را بر پارامترهای تشنجهای صرع ناشی از پنتیلن تترازول، بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر از نژاد Wistar خریداری شده از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی استفاده شد. به مدت دو هفته قبل از شروع آزمایشات حیوانات دست آموز شدند و داخل restrainer قرار گرفتند. حیوانات در اتاقی که شرایط نوری آن ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی بود، در دمای ۲۲-۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. حیوانات آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند و در زمان شروع فرآیند کیندلینگ در محدوده وزنی ۱۸۰-۲۳۰ گرم قرار داشتند. همه آزمایشات ساعت معین ۱۲-۸ انجام شدند. جهت کیندل کردن حیوان ۴۵ mg/kg پنتیلن تترازول به روش هر ۴۸ ساعت یکبار ۳ بار در هفته تزریق (داخل صفاقی) شد [۱].

پاسخهای تشنجی براساس تحقیقات قبلی به شکل زیر طبقه‌بندی شده‌اند [۱۴]: مرحله ۰ = بدون پاسخ، مرحله ۱ = انقباض عضلات صورت و گوش‌ها، مرحله ۲ = انتشار موج انقباضی به سرتاسر بدن، مرحله ۳ = پرش‌های میوکلونیک ایستادن روی دو پا، مرحله ۴ = افتادن به پهلو، مرحله ۵ = افتادن به پشت و حملات عمومی، تونیک و کلونیک. رفتار حیوان در

rTMS به اعمال منظم قطارهای پالس مغناطیسی فوق گفته می‌شود که برای یک دوره زمانی مشخصی تکرار می‌شود. فرکانسهای کم ($\geq 1 \text{ Hz}$) و فرکانسهای زیاد ($> 1 \text{ Hz}$) rTMS اثرات فیزیولوژیکی متفاوتی دارند [۶]. به طور کلی فرکانسهای کم rTMS باعث کاهش فعالیت عصبی و متابولیسم مغزی می‌شوند [۸]، اما فرکانسهای بالای rTMS فعالیت نورونی را افزایش می‌دهند [۲۰].

صرع شایعترین اختلال عصبی مزمن است که بیش از ۴۰ میلیون نفر در سراسر جهان به آن مبتلا هستند [۳]. حملات صرعی در نتیجه عدم توازن در مهار (inhibition) و تحریک (excitatory) ارتباطات نورونی ایجاد می‌شوند که خود به علت تخلیه‌های ناگهانی و کنترل نشده نورونها در سیستم عصبی مرکزی بوجود می‌آیند [۲۲،۳].

کیندلینگ یکی از مهمترین مدلها برای ایجاد تشنج به صورت مزمن می‌باشد. صرع ناشی از کیندلینگ حالتی است که در آن تحریک پذیری افزایش ومهار پذیری کم باشد. در این مدل، حیوان آزمایشگاهی توسط محرک ضعیفی که قادر به ایجاد تشنج نیست، به صورت مکرر و در فواصل زمانی مشخص تحریک می‌شود و به تدریج با گذشت زمان، همان محرک ضعیف باعث بروز رفتار تشنجی در حیوان می‌گردد [۵].

پنتیلن تترازول (PTZ) می‌تواند در موش سوری و موش صحرایی در اثر تزریق‌های مکرر دوزهای زیر آستانه، کیندلینگ شیمیایی ایجاد کند که حداقل ۸ ماه پس از تزریق باقی بماند. کیندلینگ شیمیایی با PTZ به عنوان مدلی برای صرع عمومی پذیرفته شده است [۱۶].

نتایج نشان داده‌اند که تحریک‌پذیری شبکه‌های قشری مخ می‌تواند بوسیله تحریک قطارهایی از پالسهای تکراری مغناطیسی تعدیل شود [۱۸]. تکنیک rTMS اجازه می‌دهد که نواحی قشری فعال شوند. قطار موج‌های تحریک‌کننده با فرکانس‌های مختلف اثرات مهار و تحریک را هم در زمان کاربرد و هم بعد از کاربرد آن ایجاد می‌کند. به نظر می‌رسد اثرات مهار rTMS در کاهش تحریک‌پذیری نورون‌ها مؤثر باشد. علی‌گم مطالعات زیادی که در مورد نقش ضد تشنجی rTMS در مدل‌های مختلف آزمایشگاهی ایجاد تشنج انجام شده است [۲۰]، هنوز در مورد الگوی بهینه rTMS اتفاق نظر وجود ندارد و نقش کمیت‌های مختلف آن در اثر بخشی به درستی مشخص

پروانه‌ای شکل با قطر ۷۰ میلی متر با قطر داخلی ۵۵ میلی متر و قطر خارجی ۹۲ میلی متر استفاده شد. پارامترهای تحریک مغناطیسی نظیر فرکانس، مدت زمان و فاصله تحریک توسط پورت BNC از تولید کننده الگوی تحریکی Nihon Kodan, Trigger in (SEN720, Japan) به قسمت تحریک کننده مغناطیسی اعمال شد.

برای هر فرکانس مدت زمان تحریک ۴ ثانیه با ۴ بار تحریک با فاصله زمانی ۱۰ ثانیه صورت گرفت [۴]. این تحریکات هر ۴۸ ساعت یکبار، بعد از تزریق PTZ در طی ۴ هفته و جمعاً ۱۲ بار انجام شد.

حیوانات به ۴ گروه آزمایشی تقسیم شدند: گروه اول: PTZ دریافت می‌کردند و رفتارها آنها ۲۰ دقیقه با دوربین ثبت می‌شد و بمدت ۱۰ دقیقه در زیر کویل خاموش در ثابت کننده حیوان بودند. گروه دوم تا چهارم: PTZ را دریافت می‌کردند و رفتار آنها ۲۰ دقیقه ثبت می‌شد و ۱۰ دقیقه در ثابت کننده حیوان قرار می‌گرفتند. بعد از ۴۰ - ۳۰ دقیقه پس از زمان تزریق در ثابت کننده حیوان تحت تابش rTMS با فرکانس‌های ۱/۲۵، ۱ و ۵ هرتز قرار می‌گرفتند.

مقادیر بدست آمده میانگین ۳ روز در هفته است. برای مقایسه هفتگی تفاوت بین آخرین مرحله رفتاری تشنج از آزمون نا پارامتریک Kruskal-Wallis و Mann-Whitney و مقایسه هفتگی بین گروه‌ها برای متغیر مدت زمان تأخیر ۲ و ۴ و ۵ از آنالیز واریانس (Analysis of variance) استفاده شد و بدنبال آنالیز واریانس جهت مقایسه میانگین گروه‌ها، از آزمون LSD و Dunnett استفاده شد. در همه محاسبات آماری $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. نتایج بصورت $Mean \pm SEM$ نشان داده شده است.

یافته‌ها

نتایج آستانه سنجی نشان داد میانگین شدت (آستانه حرکتی) در حدود ۴۱/۷٪ خروجی دستگاه تحریک کننده است. در این مطالعه اثر استفاده از فرکانسهای ۱/۲۵، ۱ و ۵ هرتز بر شاخصهای حد اکثر مرحله رفتاری تشنجی مشاهده شده (Max stage of convulsion)، مدت زمان تاخیر مرحله ۲، مدت زمان تاخیر مرحله ۴، مدت زمان تاخیر مرحله ۵ و طول

طول بیست دقیقه پس از تزریق PTZ مورد ارزیابی قرار گرفت و رفتارهای حیوانات با دوربین کنترل شد. تعداد تزریقات ثابت و ۱۲ تزریق در طول یکماه بود. قبل از انجام آزمایش و تزریق PTZ، آستانه سنجی برای تعیین شدت تحریک حیوانات توسط rTMS تعیین شد.

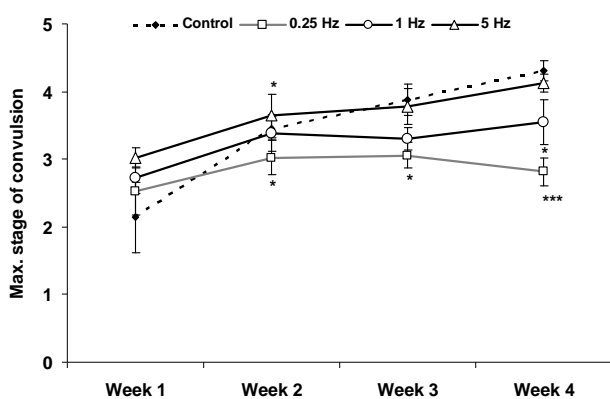
جهت ثابت کردن حیوان به هنگام اعمال تحریک rTMS از یک ثابت کننده حیوان (restrainer) از جنس شیشه فشرده (plexi glass) استفاده شد. کویل پروانه‌ای بصورت موازی بر سر حیوان و تقریباً مرکز کویل در وسط سر حیوان طوری قرار گرفت به نحوی که بیشینه تحریک در هیپوکمپ باشد. برای حداقل کردن اثر فاصله، کویل به restrainer تماس شد و حداکثر فاصله کویل تا سر حیوان ۰/۵ cm بود.

برای بدست آوردن شدت تحریک، آستانه حرکتی، ابتدا حیوان از دو هفته قبل از آزمایش روزانه به مدت ۲۰ دقیقه در داخل ثابت کننده قرار داده تا به آن عادت کند و از استرس آن کم شود. سپس حیوان داخل محفظه ثابت کننده قرار گرفته تا سرش بدون حرکت شود. با قرار دادن مرکز کویل روی سر حیوان در ناحیه حرکتی پشتی [Hindlimb area of Cortex] با شدتهای کم دستگاه تحریک کننده، تحریک تک پالسی داده، پاسخ رفتاری در عضلات پشتی حیوان مشاهده می‌شد. بتدریج شدت تحریک افزایش داده شد تا جائیکه اولین انقباض عضلات اندامهای حرکتی پشتی مشاهده شد. این شدت دستگاه تحریک به عنوان ۱۰۰٪ آستانه حرکتی حیوان در نظر گرفته شد [۱۱]. سپس حیوانات وزن می‌شدند و PTZ دریافت می‌کردند و رفتار حیوان با استفاده از دوربین به مدت ۲۰ دقیقه ثبت می‌شد [۴]. پارامترهای مدت زمان تاخیر مراحل ۲، ۴ و ۵ (فاصله زمانی بین تزریق و شروع مراحل ۲، ۴ و ۵) و طول دوره مرحله ۵ (تشنج‌های تونیک کلونیک) اندازه‌گیری می‌شد. پس از اتمام زمان ۲۰ دقیقه، حیوان به مدت ۱۰ دقیقه داخل محفظه ثابت کننده قرار می‌گرفت و ۳۰ دقیقه پس از زمان تزریق حیوانات در فرکانس‌های ۱/۲۵، ۱ و ۵ تحت تابش قرار می‌گرفتند. این مرحله آزمایشی یکماه بصورت ۳ بار در هفته و بصورت یک در میان و ۱۲ تزریق تکرار شد تا حیوانات کیندل شوند.

برای این تحقیق از تحریک کننده مدل Magstim Rapid استفاده شد. شدت خروجی دستگاه به عنوان درصدی از ماکزیمم توان خروجی دستگاه قابل ثبت است. در این تحقیق از کویل

جدول ۱- اثر اعمال rTMS بر مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۲ تشنج در طی روند القای کیندلینگ شیمیایی. در مقایسه هفتگی روند القای کیندلینگ، نتایج نشان دهنده اثر معنی داری rTMS بر تأخیر بروز مرحله ۲ تشنج نیست (Kruskall-Wallis: $p > 0.05$). اعداد نشان دهنده میانگین میزان تأخیر \pm خطای معیار میانگین است، $n = 10-12$.

Injections	مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۲ تشنج			
	Control	0.25Hz	1Hz	5Hz
۱	۱۷/۶±۱۱۱/۰	۱۳/۹±۹۷/۲	۳۴/۰±۱۴۶/۳	۱۰/۴±۹۷/۹
۲	۳۱/۷±۱۶۰/۲	۱۵/۵±۱۲۷/۶	۲۰/۱±۱۳۲/۶	۸/۱±۱۰۳/۸
۳	۷۲/۸±۸۸/۲	۷/۳±۱۰۲/۲	۲۸/۰±۱۵۳/۹	۱۱/۷±۱۰۹/۵
۴	۹۰/۱۶±۱۲۳/۶	۹۲/۱±۱۸۸/۴	۱۲۳/۲±۲۹۳/۵	۱۲۴/۱±۲۸۰/۴
۵	۱۲/۶±۱۰۸/۵	۹۲/۷±۱۸۵/۹	۹۸/۲±۲۵۴/۵	۱۲۵/۲±۲۷۲/۳
۶	۱۹/۹±۱۳۱/۸	۱۳۲/۹±۳۱۱/۹	۲۶/۶±۱۵۷/۷	۱۲۵/۶±۲۶۹/۳
۷	۱۶/۴±۱۱۳/۴	۹۹/۳±۲۴۴/۲	۱۰۲/۰±۲۲۸/۷	۲۰/۱±۱۲۶/۷
۸	۳۱۶/۸±۴۳۵/۸	۱۰/۹±۱۰۹/۶	۷۶/۷±۱۶۱/۱	۱۱/۰±۱۰۸/۳
۹	۷/۸±۹۴/۴	۸/۹±۱۰۸/۸	۹/۴±۱۰۱/۹	۱۳۴/۸±۳۶۸/۹
۱۰	۵/۵±۸۱/۱	۴/۳±۷۳/۲	۲۴/۷±۱۳۰/۲	۱۰/۹±۱۰۴/۰
۱۱	۴/۱±۸۴/۱	۱۳۳/۹±۳۰۴/۱	۶۳/۸±۱۵۶/۳	۲۵/۲±۱۰۹/۳
۱۲	۸/۱±۱۰۰/۸	۲۴/۵±۱۲۴/۶	۸۳/۹±۱۸۶/۴	۱۰/۱±۹۷/۶

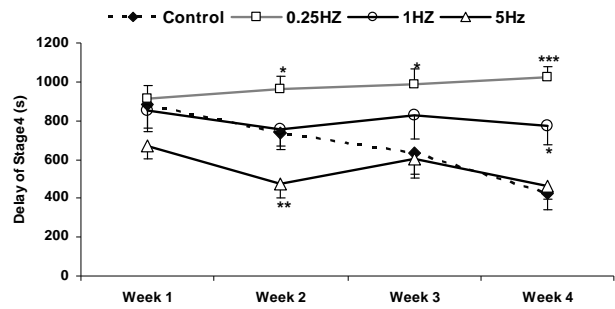
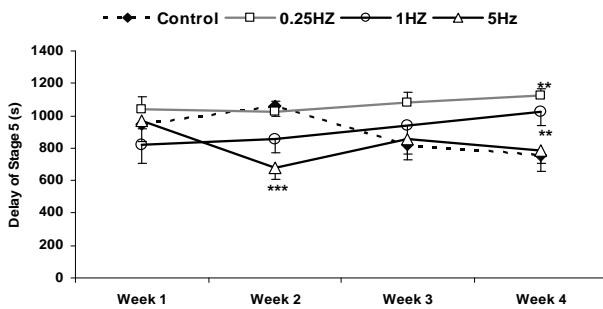


دوره مرحله ۵ تشنج بررسی شد.

شکل ۱ نتایج آنالیز و میانگین هفتگی حد اکثر مرحله رفتاری تشنجی مشاهده شده در هفته‌های اول تا چهارم از دوره القای کیندلینگ شیمیایی را نشان می‌دهد. آزمون Kruskal-Wallis و Mann-Whitney نشان داد اعمال rTMS با فرکانس ۵ هرتز حد اکثر مرحله رفتاری تشنجی مشاهده شده را به طور معنی دار در هفته دوم نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($p < 0.05$). در فرکانس ۲۵/ هرتر حداکثر مرحله رفتاری تشنجی مشاهده شده را به طور معنی دار در هفته‌های دوم، سوم و چهارم نسبت به گروه کنترل کاهش داد ($p < 0.001$) و در فرکانس ۱ هرتز حد اکثر مرحله رفتاری مشاهده شده در هفته چهارم را به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل کاهش داد ($p < 0.05$).

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، rTMS در فرکانس‌های مختلف در آنالیز تزیق به تزیق روند القای کیندلینگ، اثر بارزی بر میزان تأخیر بروز مرحله ۲ تشنج نداشت. شکل ۲ نتایج آنالیز میانگین هفتگی مدت زمان تأخیر مرحله ۴ تشنج در هفته‌های اول تا چهارم از دوره القای کیندلینگ شیمیایی را نشان می‌دهد. آزمون تجزیه و تحلیل واریانس و آزمون LSD نشان داد اعمال rTMS با فرکانس ۵ هرتز زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج را نسبت به گروه کنترل در هفته دوم به طور معنی دار کاهش داد ($p < 0.05$). آزمون تجزیه و تحلیل واریانس و آزمون LSD نشان داد اعمال rTMS با فرکانس ۲۵/

شکل ۱- اثر اعمال rTMS بر میانگین هفته‌ای حد اکثر مرحله رفتاری مشاهده شده در دوره القای کیندلینگ شیمیایی. آزمون Kruskal-Wallis نشان دهنده اثر معنی دار rTMS بر حد اکثر مرحله رفتاری در هفته‌های دوم تا چهارم دوره القای کیندلینگ است ($p < 0.001$). آزمون Mann-Whitney نشان داد: در هفته دوم اعمال rTMS با فرکانس ۵ هرتز ($n = 12$) حد اکثر مرحله رفتاری مشاهده شده را به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل ($n = 11$) افزایش داد ولی اعمال rTMS در فرکانس ۲۵/ هرتر ($n = 12$) حد اکثر مرحله رفتاری مشاهده شده را به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل ($n = 11$) کاهش داد ($p < 0.05$). در هفته سوم اعمال rTMS در فرکانس ۲۵/ هرتر ($n = 12$) حد اکثر مرحله رفتاری مشاهده شده نسبت به گروه کنترل ($n = 11$) را به طور معنی دار کاهش داد. در هفته چهارم اعمال rTMS در فرکانس ۲۵/ هرتر ($n = 11$) حد اکثر مرحله رفتاری مشاهده شده را به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل ($n = 10$) کاهش داد ($p < 0.001$). اعمال rTMS در فرکانس ۱ هرتز ($n = 11$) حد اکثر مرحله رفتاری مشاهده شده را نسبت به گروه کنترل ($n = 10$) به طور معنی دار کاهش داد ($p < 0.05$). در نمودار داده‌ها بصورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده است. *، ** و *** به ترتیب نشان دهنده $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ و $p < 0.001$ است.



شکل ۳- اثر اعمال rTMS بر میانگین هفته‌ای مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۵ تشنج در طی دوره القای کیندلینگ شیمیایی. آزمون ANOVA نشان دهنده اثر معنی دار rTMS بر مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۵ تشنج در هفته‌های دوم و چهارم دوره القای کیندلینگ است ($p < 0.05$). آزمون LSD نشان داد: در هفته دوم اعمال rTMS، در فرکانس ۵ هرتز ($n=12$) مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۵ تشنج را نسبت به گروه کنترل ($n=11$) به طور معنی دار کاهش داد ($p < 0.001$). در هفته چهارم اعمال rTMS، در فرکانس ۱ و ۲۵ هرتز ($n=11$) مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۵ تشنج را نسبت به گروه کنترل ($n=10$) به طور معنی دار افزایش داد ($p < 0.01$) در نمودار داده‌ها بصورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده است. *، ** و *** به ترتیب نشان دهنده $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ و $p < 0.001$ است.

شکل ۲- اثر اعمال rTMS بر میانگین هفته‌ای مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج در طی دوره القای کیندلینگ شیمیایی. آزمون ANOVA نشان دهنده اثر معنی دار rTMS بر میزان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج در هفته‌های یک تا چهار دوره القای کیندلینگ است ($p < 0.05$). آزمون LSD نشان داد در هفته دوم اعمال rTMS، با فرکانس ۵ هرتز ($n=12$) مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج را به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل ($n=11$) کاهش داد ($p < 0.01$) ولی اعمال rTMS، در فرکانس ۲۵ هرتز ($n=12$) زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج را نسبت به گروه کنترل ($n=11$) به طور معنی دار افزایش داد ($p < 0.05$). در هفته سوم اعمال rTMS، در فرکانس ۲۵ هرتز ($n=12$) مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج را به طور معنی دار افزایش داد ($p < 0.05$). در هفته چهارم اعمال rTMS، در فرکانس ۲۵ هرتز ($n=11$) مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج را نسبت به گروه کنترل ($n=10$) به طور معنی دار افزایش داد ($p < 0.001$). اعمال rTMS، در فرکانس ۱ هرتز مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج را به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل ($n=10$) افزایش داد ($p < 0.05$). در نمودار داده‌ها بصورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده است. *، ** و *** به ترتیب نشان دهنده $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ و $p < 0.001$ است.

تشنج در هفته‌های اول تا چهارم از دوره القای کیندلینگ شیمیایی را نشان می‌دهد. آزمون تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد. بین طول دوره مرحله ۵ تشنج در هفته اول دوره القای کیندلینگ در فرکانس‌های مختلف rTMS و نیز گروه کنترل در هفته اول کیندلینگ تفاوت معنی داری وجود ندارد. آزمون تجزیه و تحلیل واریانس و Dunnett نشان داد با اعمال rTMS، با فرکانس ۵ هرتز طول دوره مرحله ۵ تشنج را در هفته دوم به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($p < 0.05$). اعمال rTMS، در فرکانس ۲۵ هرتز طول دوره مرحله ۵ تشنج را در هفته چهارم به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل کاهش داد ($p < 0.05$).

هرتز زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج را به طور معنی دار در هفته‌های دوم تا چهارم افزایش داد (به ترتیب $p < 0.001$ ، $p < 0.05$ ، $p < 0.05$) آزمون تجزیه و تحلیل واریانس و آزمون LSD نشان داد که اعمال rTMS، در فرکانس ۱ هرتز زمان تأخیر بروز مرحله ۴ تشنج را به طور معنی دار در هفته چهارم افزایش داد ($p < 0.001$).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد rTMS در فرکانس ۲۵ و ۱ هرتز اثرات مهارتی و در فرکانس ۵ اثر تحریکی بر روند کیندلینگ دارد. اعمال rTMS در فرکانس ۲۵ هرتز حداکثر مرحله رفتاری تشنجی را در طی روند کیندلینگ نسبت به گروه کنترل کاهش اما در فرکانس ۵ هرتز، آن را افزایش داد. زمان بروز مراحل ۴ و ۵ نشان دهنده سرعت کیندل شدن است. با بروز

شکل ۳ نتایج آنالیز و میانگین هفتگی مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۵ تشنج در هفته‌های اول تا چهارم از دوره القای کیندلینگ شیمیایی را نشان می‌دهد. آزمون تجزیه و تحلیل واریانس و آزمون LSD نشان داد در هفته دوم، اعمال rTMS، در فرکانس ۵ هرتز مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۵ تشنج را به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل کاهش داد ($p < 0.001$). در هفته چهارم اعمال rTMS، در فرکانس ۱ و ۲۵ هرتز مدت زمان تأخیر بروز مرحله ۵ تشنج را به طور معنی دار افزایش داد ($p < 0.01$).

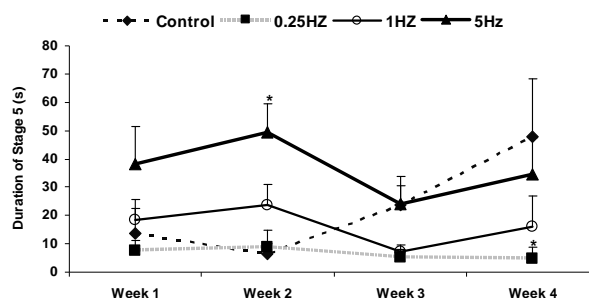
شکل ۴ نتایج آنالیز و میانگین هفتگی طول دوره مرحله ۵

در این تحقیق بررسی هفتگی حاکی از آنست که زمان اثر فرکانس‌های ۰/۲۵، ۱ و ۵ متفاوت است. اعمال rTMS در هفته دوم در فرکانس ۵ هرتز در هفته دوم اثر بارزی بر پارامترهای تشنج دارد اما طی روند کیندلینگ ناپایدار است. در فرکانس ۰/۲۵، هرتز نسبت به ۱ هرتز اثر مهارى سریع تر به وجود می‌آید و طی روند کیندلینگ پایدار است. به نظر می‌رسد مکانیزم‌های ناشی از فرکانس ۱ هرتز برای اعمال اثر، به گذشت زمان نیاز دارد. شاید تعداد تحریکات و یا زمان تحریکات برای ایجاد مهار و یا کاهش تحریک پذیری طی روند کیندلینگ کافی نبوده است.

بر اساس گزارش‌های قبلی احتمالاً فاصله کوتاه بین قطار موج‌ها، تحریک پذیری را افزایش می‌دهد [۱۲]. گزارش‌های قبلی بیان کرده‌اند که قطار موج‌های طولانی مدت (long trains) از فرکانس‌های پایین موجب کاهش تحریک پذیری کورتکس می‌شود [۹، ۲۳]. اما نتایج این تحقیق نشان داد تعداد کم تحریکات در فرکانس ۰/۲۵ هرتز می‌تواند در کاهش تشنجات مؤثر باشد.

اثر فرکانس‌های مختلف rTMS را میتوان با پدیده فیزیکی تشدید توجیه نمود. هر گاه سیستمی قابل نوسان تحت نیروی متناوب با فرکانس مساوی یا نزدیک به فرکانس‌های طبیعی سیستم قرار بگیرد، با دامنه نسبتاً بزرگی نوسان می‌کند [۲]. اثر مهارى فرکانس‌های کمتر از ۱ و اثر تحریکى فرکانس‌های بیشتر از ۱ به دلیل پدیده تشدید باشد. ممکن است فرکانس نوروئ‌های مهارى به فرکانس ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱ هرتز نزدیک باشد و اعمال میدان‌هایی با فرکانس‌های کمتر از ۱ باعث می‌شود نوروئ‌های مهارى با دامنه نسبتاً بزرگی نوسان کنند و اثرات مهارى خود را اعمال نماید. اما فرکانس نوروئ‌های تحریکى به فرکانس ۱۰، ۵ و ۱۵ نزدیک باشد. اعمال میدان‌هایی با فرکانس‌های بیشتر از ۱ هرتز باعث می‌شود نوروئ‌های تحریکى با دامنه نسبتاً بزرگی نوسان کنند و اثرات تحریکى خود را نشان دهند و در فرکانس‌های خیلی بالاتر منجر به خستگی نوروئ‌ی شوند و تشنجات را متوقف کنند.

با توجه به یکپارچگی نیروهای الکتریکی و مغناطیسی و اثر نهایی rTMS که ایجاد میدان الکتریکی می‌نماید به نظر می‌رسد مکانیزم فرکانس‌های پایین rTMS با مکانیزم‌های تحریکات الکتریکی فرکانس پایین (Low frequency Stimulation) قابل توجیه است. تحریکات



شکل ۴- اثر اعمال rTMS بر میانگین هفته‌ای طول دوره مرحله ۵ تشنج در طی دوره القای کیندلینگ شیمیایی. آزمون ANOVA نشان دهنده اثر معنی دار rTMS بر طول دوره مرحله ۵ تشنج در هفته‌های دوم، سوم و چهارم دوره القای کیندلینگ است ($p < 0.05$). آزمون Dunnett نشان داد در هفته دوم اعمال rTMS با فرکانس‌های ۵ هرتز ($n=12$) طول دوره مرحله ۵ تشنج را نسبت به گروه کنترل ($n=11$) به طور معنی دار افزایش داد ($p < 0.05$). در هفته چهارم اعمال rTMS با فرکانس ۰/۲۵ هرتز ($n=11$) طول دوره مرحله ۵ تشنج را نسبت به گروه کنترل ($n=10$) به طور معنی دار کاهش داد ($p < 0.05$). در نمودار داده‌ها بصورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده است. * نشان دهنده $p < 0.05$ است.

مراحل ۴ و ۵ تشنج، عمومی می‌شود و بنابراین rTMS می‌تواند در فرکانس ۰/۲۵ هرتز از عمومی شدن تشنج ناشی از PTZ جلوگیری کند. این مطالعه در راستای برخی مطالعات قبلی است که اثرات ضد صرعی اعمال rTMS را در فرکانس‌های پایین نشان داده‌اند [۲۳، ۲۹، ۱۵، ۱۹، ۱۳]. همچنین مطالعات بالینی بسیار محدودی، اثرات ضد تشنجی اعمال rTMS را در انسان گزارش کرده‌اند. کاهش تحریک پذیری قشر حرکتی مغز به دنبال تحریک مغناطیسی (TMS) با فرکانس پایین (فرکانس ۰/۹ هرتز به مدت ۱۵ دقیقه) گزارش شده است، در حالیکه TMS با فرکانس ۰/۱ هرتز به مدت یک ساعت قادر به اعمال این اثر نبوده است [۲۵]. در یک مطالعه اولیه که توسط Tergau و همکاران صورت گرفت [۲۴]، rTMS با فرکانس ۰/۳۳ هرتز و شدت ۱۰۰٪ آستانه فرکانس تکرار حملات صرعی، در مقایسه با دوره قبل از شروع آزمایش کاهش داد. نتایج تحقیقات نشان داده است که تحریک پذیری شبکه‌های نوروئ قشر مغز بوسیله تحریک‌های مغناطیسی تعدیل می‌شود TMS یک پتانسیل درمانی در بیماران صرعی می‌باشد [۱۸]. کاربرد rTMS با فرکانس ۰/۵ هرتز زمان تاخیر بروز تشنج ناشی از PTZ در موش صرعی را افزایش می‌دهد [۴]. به علاوه پانزده دقیقه تحریک rTMS با فرکانس ۱ هرتز بعد از تحریکات ایجاد کننده کیندلینگ، تخلیه‌های متعاقب در طول مرحله تشنج را در موش‌های کیندل شده را متوقف کرد. [۷].

منابع

- [۱] اله دادی سلمانی محمودی، ارزیابی اثر تحریک پالس تتا بر سیناپس های ناحیه CA1 برشهای زنده هیپوکمپ موش های صحرایی مستعد به حملات صرع در اثر تزریق مکرر پنتیلن تترازول. پایان نامه کارشناسی ارشد، تهران: دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۸۲.
- [۲] دیوید هالیدی، رابرت رزنیك، مبانى فیزیك. ترجمه نعمت اله گلستانیان و محمود بهار، جلد اول، قسمت دوم، فصل ۱۷، تهران، انتشارات مبتکران، ۱۳۷۴.
- [3] Abel MS, Candless DW, The kindling model of epilepsy. In: Boulton A, Backer G, Butterworth RF (editors) *Animal models of neurobiological disease*. Ottawa, New Jersey: Humana Press, 1992, p. 153-67.
- [4] Akamatsu N, Fueta Y, Endo Y, Decreased susceptibility to pentylentetrazol-induced seizures after low-frequency transcranial magnetic stimulation in rats. *Neurosci Lett* 310 (2001) 153-6.
- [5] Akamatsu N, Fueta Y, Endo Y, Tamagawa A, Yuhi T, Uozumi T, Tsuji S, The therapeutic effects of high frequency Transcranial magnetic stimulation on pentylentetrazol-induced status epilepticus in rats. *Int Congr Ser* 1278 (2005) 423-6.
- [6] Ališauskienė M, Truffert A, Vaičienė N, Magistris MR, Transcranial magnetic stimulation in clinical practice. *Medicina (Kaunas)* 41 (2005) 10-6.
- [7] Anschel DJ, Pascual-Leone A, Holmes GL, Anti kindling effect of slow repetitive Transcranial magnetic stimulation in rats. *Neurosci Lett* 351 (2003) 9-12.
- [8] Barker AT, Jalinous R, Freeston IL, Jarratt JA, Magnetic stimulation of the human brain and peripheral nervous system: an introduction and the results of an initial clinical evaluation. *Neurosurgery* 20 (1987) 100-10.
- [9] Chen R, Classen J, Gerloff C, Celnik P, Wassermann EM, Hallett M, Cohen LG, Depression of motor cortex excitability by low frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 48 (1997) 1398-403.
- [10] Cincotta M, Borgheresi A, Gambetti C, Balestrieri F, Zaccara G, Ulivelli M, Rossi S, Civardi C, Cantello R, Suprathreshold 0.3 Hz repetitive TMS prolonged the cortical silent period: potential implications for therapeutic trails in epilepsy. *Clin Neurophysiol* (2003) 114-123.
- [11] Perminder S, Bride R, Colleen L, Mitchell P M,

الکتریکی فرکانس پایین نظیر آنچه باعث ایجاد تضعیف طولانی مدت (LTD) و تقویت زدایی (Depotentiation) در محیط *in vitro* می شود می تواند سبب اثرات مهاری و حفاظتی در مقابل روند گسترش فعالیت صرعی شود [۳۱].

مطالعات نشان می دهد اعمال LFS در آمیگدال روند اکتساب کیندلینگ این ناحیه را کند کرده است و باعث تاخیر در بروز مراحل رفتاری تشنج می گردد [۳۰]. به نظر می رسد تعدیل طولانی مدت (long lasting modulation) تحریک پذیری کورتکس تولید شده با rTMS به دلیل تغییر در کارایی سیناپسها باشد [۲۷،۳۱]. یکی از مکانیسم های احتمالی کیندلینگ، تقویت طولانی مدت (LTP) است. PTZ از طریق مهار گابا اثرات خود را اعمال می کند [۱۴]. علاوه بر این وقوع LTP با گیرنده های NMDA در ارتباط است. آنتا گونیست های رقابتی و غیر رقابتی NMDA از کیندلینگ پیشگیری می کنند و یا آن را به تاخیر می اندازد [۱۴]. بنظر می رسد مهار زدایی سیستم مهاری گابا و یا فعال سازی گیرنده های NMDA فاکتورهای دخیل در شروع و عمومی شدن تشنجات ناشی از PTZ باشد [۱۷]. با توجه به اثرات مهاری LFS بر LTP [۱] و اثر نهایی rTMS- میدان الکتریکی القایی- احتمال دارد rTMS با کاهش پاسخدهی سیناپسهای مدارهای صرعی از طریق مکانیسم هایی از قبیل LTD و تضعیف پس از تقویت سبب مهار تشنج شود. همچنین ممکن است rTMS با فعال کردن شبکه های مهاری بجای مسیرهای تحریکی، اثرات ضد تشنجی خود را نشان دهد. به نظر می رسد rTMS با فرکانس ۲۵٪ هرتز با کاهش LTP، افزایش LTD و یا تقویت زدایی اثرات خود را اعمال نماید. همچنین شاید rTMS در این الگوی تحریک، مهار زدایی گابا و یا فعال سازی گیرنده های NMDA را کاهش دهد.

نتایج این تحقیق نشان داد فرکانس های پایین rTMS نقش تعیین کننده در بروز اثرات ضد تشنجی و ضد صرعی دارد. اعمال rTMS بر روند کیندلینگ در فرکانس ۲۵٪ و ۱ هرتز اثرات مهاری و در فرکانس ۵ اثر تحریکی دارد. اثرات بر روند کیندلینگ در فرکانس ۵ و ۲۵٪ سریع تر صورت می گیرد ولی نا پایدار است به نظر می رسد اثر مفید rTMS در فرکانس ۱ با تاخیر بیشتری بروز نماید و پایدار باشد. استفاده از rTMS به عنوان روش درمانی در بیماران صرعی نیازمند دستیابی به بهترین الگوی مهار تشنج است.

- University of Technology, 1998, p. 2-35.
- [22] Schrader LM, Stern JM, Koki L, Newer MR, Engel J, Seizure incidence single- and -paired pulse transcranial magnetic stimulation (TMS) in individual with epilepsy. *Clin Neurophysiol* 115 (2004) 115-22.
- [23] Steinhoff BJ, Stodiek SR, Zivcec Z, Schreiner R, Von Maffei C, Plendl H, Paulus W, Transcranial magnetic stimulation (TMS) of brain in the patients with mesiotemporal epileptic foci. *Clin Electroencephalogr* 24 (1993)1-5. 200.
- [24] Tergua F, Naumann U, Paulus W, Steinhoff BJ, Low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation improves intractable epilepsy. *Lancet* 353 (1999) 2209-14.
- [25] Theodore WH, Hunter K, Chen R, Vega-Bermudez F, Boroojerdi B, Reeves-Tyer P, Werhahn K, Kelley KR, Cohen L, Transcranial magnetic stimulation for the treatment of seizures. *Neurology* 59 (2002) 560-62.
- [26] Touge T, Gerschlager W, Brown P, Rothwell JC, Are after-effect of low-frequency rTMS on motor cortex excitability due to changes in the efficacy of cortical synapses? *Clin Neurophysiol* 112 (2001) 2138-45.
- [27] Wang H, Wang X, Scheich H, LTD and LTP induced by transcranial magnetic stimulation in auditory cortex. *Neuroreport* 93 (1996) 521-25.
- [28] Wassermann EM, Lisanby SH, Therapeutic application of repetitive transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* 112 (2001) 1367-77.
- [29] Wedegaertner F, Garvey M, Cohen LG, Hallet M, Wassermann EM, Low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation can reduce action myoclonus. *Neurology* 48 (1997) 119.
- [30] Weiss SRB, Li X, Rosen J, Li H, Heynen T, Post RM, Quenching: in hibition of development and expression of amygdala kindled seizure with low-frequency stimulation. *Neuroreport* 6 (1995) 2171 -6.
- [31] Ziemann U, Hallet M, Cohen LG, Mechanisms of deafferentation-induced plasticity in motor cortex. *Neuroscience* 18 (1998) 7000-7.
- Gurjhinder S, Croker V, Effects of different frequencies of transcranial magnetic stimulation (TMS) on the forced swim test model of depression in rats. *Biol Psychat* 51 (2002) 474-79.
- [12] Fregni F, Schchter SC, Pascual-Leone A, Transcranial magnetic stimulation for epilepsy. *Epilepsy Behav* 2 (2005) 81-87.
- [13] Ji RR, Schlaepfer TE, Aizenmann CD, Epstein CM, Qui D, Hung J, Rupp F, repetitive transcranial magnetic stimulation activate specific regions in rat brain. *Proc Natl Acad. Sci USA* 95 (1998) 15635-40.
- [14] Kaputl I, Uzbay T, L-NAME inhibits pentylentetrazol and strychnine-induced seizure in mice. *Brain Res* 753 (1997) 98-101.
- [15] Kinoshita M, Ikeda A, Begum T, Yamamoto J, Hitomi T, Shibasaki H, Low-frequency repetitive Transcranial magnetic stimulation for seizure suppression in patient with exeratemporal lobe epilepsy-A pilot study. *Seizure* (2005) 14-20.
- [16] Krug M, Koch M, Grecksch G, Schulzec K, Pentylentetrazol kindling changes the ability to induced potentiation phenomena in the hippocampal CA1 region. *Physiol Behav* 62 (1997) 721- 27.
- [17] Lopez da silva FH, Kamphius Wadman WJ, Epileptogenesis as aplastic phenomenon of the brain. *Acta Neurol Scand* 140 (1992) 34-40.
- [18] Maeda F, Keennan JP, Tormos JM, Topka H, Pascual-Leone A, Modulation of corticospinal excitability by repetitive transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* 57 (2001) 706-8.
- [19] Ogiue-Ikeda M, Kawato S, Ueno`Sh, The effect of repetitive Transcranial magnetic stimulation on long - term potentiation in rat hippocampus depends on stimulse intensity. *Brain res* 993 (2003) 222-6.
- [20] Post RM, Speer AM, Weiss SRB, Li H, Seizure models: anticonvulsant effects of ECT and rTMS. *Prog Neuro-psychoh Biol Psychiatry* 24 (2000) 1251-73.
- [21] Ruohonen J, Transcranial Magnetic Stimulation: Modeling and New Techniques [dissertation], Helsinki