



The effect of amygdala lesion on anterior claustrum kindled seizures in rats

Fariba Zafari², Masoumeh Sabetkasaie^{1*}, Yousef Sadeghi², Mohammad Mohammad-Zade³, Fateme Deljo⁴

1. Neuroscience Research center, Shahid Beheshti University (M.C.), Tehran. Iran

2. Dept. Anatomy, Shahid Beheshti University (M.C.), Tehran. Iran

3. Dept. Physiology, Faculty of Medical Sciences, Sabzewar, Iran

4. Dept. Clinical Research, Pasture Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 15 Jun 2007

Revised: 17 Jan 2008

Accepted: 27 Jan 2008

Abstract

Introduction: The claustrum interconnects with different regions and also projects to the hippocampus and the amygdala. The role of claustrum in the complex partial seizure is not clear. In the current study, the effect of amygdala lesion on anterior claustrum kindled seizures in rat was investigated.

Methods: Male Wistar rats, weighting 250-300 g, were received DC current via a bipolar electrode inserted in right basolateral amygdala. A tripolar electrode for stimulation and electroencephalography recording in the right anterior claustrum has been fixed. After a 10 days period of recovery, animals were daily received kindling stimulation (60 Hz, for 2s, with 1 ms pulse duration) and kindling parameters were measured. Control animals did not receive the DC current. Two lesion groups respectively received DC current before kindling stimulations and after full kindled statement achievement.

Results: Our results showed that amygdala lesion, was capable of delaying claustrum kindling with increasing the stimulation trials required to kindle to seizure stages. Furthermore the lesion reduced the severity of established kindled seizures by decreasing the stage 5 duration and after discharge durations.

Conclusion: Amygdala lesion had no effect on the expression of generalized seizures and claustrum play an important role in the propagation of epileptic seizure. Whereas the amygdala has a facilitators role in propagation claustrum kindled seizure.

Keywords: Anterior claustrum, kindling, Amygdala lesion.

* Corresponding Author Email: kasai@sbmu.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

تشنجات ناشی از کیندلینگ الکتریکی کلاستروم قدامی در موش صحرائی در شرایط تخریب یکطرفه آمیگدال

- فریبا ظفری^۱، معصومه ثابت‌کسائی^{۲*}، یوسف صادقی^۳، محمد محمدزاده^۴، فاطمه دلجو^۵
۱. گروه آناتومی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
 ۲. گروه فارماکولوژی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
 ۳. گروه آناتومی و مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
 ۴. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، سبزوار
 ۵. بخش تحقیقات بالینی، انستیتو پاستور ایران، تهران

دریافت: خرداد ۸۶ بازبینی: دی ۸۶ پذیرش: دی ۸۶

چکیده

مقدمه: هسته کلاستروم یکی از هسته‌های قاعده‌ای مغز است که با بیشتر نواحی قشری قدیم و جدید دارای ارتباط بوده و رشته‌های ارتباطی فراوانی به مناطق آمیگدال و هیپوکمپ می‌فرستد. عملکرد و اهمیت این هسته در خلال فرآیندهای فیزیولوژیک مغز از جمله صرع به خوبی روشن نیست. در این مطالعه بر آن شدیم تا با حذف یکطرفه هسته قاعده‌ای طرفی آمیگدال (BLA) تاثیر تخریب آمیگدال را بر تشنجات ناشی از کیندلینگ کلاستروم قدامی مورد تجزیه و تحلیل قرار دهیم.

روش‌ها: موشهای صحرائی نر بالغ در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. هسته قاعده‌ای طرفی آمیگدال در طرف راست از طریق جریان مستقیم و به کمک الکتروود ۲ قطبی که در آن کاشته شده بود تخریب گردید و سپس حیوان از طریق الکتروود ۳ قطبی موجود در کلاستروم به صورت روزانه تحریک می‌شد (جریان ۶۰ هرتز، به مدت ۲ ثانیه و مدت زمان هر پالس ۱ میلی ثانیه) و پارامترهای کیندلینگ ثبت گردید. در گروه کنترل تخریب انجام نمی‌شد و در گروههای تخریب (۲ گروه) یکی پیش از شروع تحریکات روزانه و دیگری پس از کیندل شدن تحت تخریب آمیگدال قرار می‌گرفتند.

یافته‌ها: یافته به تعویق افتادن کیندلینگ کلاستروم را پس از تخریب آمیگدال نشان داد و این تاخیر در افزایش تعداد تحریکات لازم جهت ظهور مراحل تشنج مشاهده گردید. همچنین کاهش شدت تشنج و مدت مرحله پنجم در حیوانات کیندل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: تخریب آمیگدال بر عمومی شدن تشنجات کلاستروم تنها نقش تسهیلی داشته و کلاستروم به تنهایی قادر به ایجاد، پیشبرد و عمومی شدن تشنجات دارد. بنابراین میتوان کلاستروم را به عنوان یکی از هسته‌های مهم در پیشبرد حملات تشنجی دانست.

واژه‌های کلیدی: کلاستروم قدامی، هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال، کیندلینگ، تخریب آمیگدال

مقدمه

می‌باشد که از حیث آناتومیکی ستون نازک و نا منظمی از ماده خاکستری در جهت قدامی _ خلفی نیمه دمی مغز قدامی است [۲۷] که توسط کپسول خارجی از هسته عدسی شکل و توسط کپسول خارجی تر از قشر جزیره (اینسولا) جدا می‌شود [۲۲]. عملکرد اختصاصی کلاستروم هنوز نا مشخص است. مطالعات

کلاستروم یکی از ناشناخته ترین هسته‌های قاعده‌ای مغز

kasai@sbmu.ac.ir
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

به همین دلیل شناخت هسته‌های مغزی مرتبط با آمیگدال و میزان تاثیر این ارتباطات در توانایی این هسته‌ها جهت القای صرع سبب شناخت هرچه بهتر مدارهای عصبی و کانونهای مستعد اینگونه حملات میگردد. استفاده از مدل کیندلینگ تاکنون کمک بسیار شایانی در جهت تحقق این هدف نموده است.

در این تحقیق بر آن شدیم که با تخریب هسته قاعده‌ای طرفی آمیگدال، به بررسی نقش آمیگدال و کلاستروم در تشنجات ناشی از کیندلینگ الکتریکی کلاستروم قدامی بپردازیم، تا از یک سو به تاثیر ارتباطات نورونی آمیگدال با کلاستروم در جهت ایجاد، تقویت، توسعه و ثبات حملات تشنجی کلاستروم پرداخته و از سوی دیگر به اثبات یکی از نقشهای عملکردی این هسته در گسترش حمله تشنجی حتی در غیاب هسته مهمی چون آمیگدال بپردازیم. با توجه به مطالعاتی که پیش از این انجام شده است نقش کلاستروم قدامی در القای حملات تشنجی به اثبات رسیده است و این در حالی است که بخش خلفی کلاستروم در این زمینه بسیار ضعیف تر عمل میکند [۳۰]. به همین دلیل بخش قدامی کلاستروم جهت بررسی در این مطالعه انتخاب شده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه موشهای صحرانی (Rat) نر نژاد Wistar محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۳۰ گرم که از بخش پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند مورد استفاده قرار گرفتند (تعداد حیوانات در هر گروه حداقل ۶ سر می‌باشد). در مرحله جراحی ابتدا حیوانات توسط ماده بیهوش کننده کتامین با دوز 100 mg/kg و زیلازین با دوز 20 mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش شده و در دستگاه استرئوتاکسی به نحوی قرار داده می‌شدند که سر حیوان کاملاً ثابت و سطح جمجمه نیز افقی باشد. بعد از مشخص کردن مختصات ناحیه برگما، با استفاده از اطلس Paxinos [۲۰] مختصات هسته کلاستروم قدامی ($2/7 \text{ mm}$ جلوتر از برگما، $2/2 \text{ mm}$ در سمت راست برگما و در عمق $4/8 \text{ mm}$ نسبت به پرده سخت شامه) و هسته قاعده‌ای طرفی آمیگدال ($2/5 \text{ mm}$ عقب تر از برگما، $4/8 \text{ mm}$ در سمت راست برگما و در عمق $7/5 \text{ mm}$ نسبت به پرده سخت شامه) جهت نصب

فیزیولوژیکی پیشنهاد می‌کند که این هسته احتمالاً درطیف وسیعی از فرایندهای حسی و حرکتی somatosensory چون بلع ارادی، اجرای حرکت بینایی (Vasomotor performance) [۳]، درک درد، انتقال حس بینایی و شنوایی از نخاع و ساقه مغز به قشر حسی پیکری [۲] و برعکس و در شرایط ترس شرکت داشته و ضمناً به عنوان یکی از علل پاتولوژیکی موثر در بیماری‌های آلزایمر و پارکینسون و پدیده پیری مطرح است [۱۹,۱۴,۲۳]. در مورد عملکرد و اهمیت این هسته خصوصاً در خلال فرآیندهای پاتولوژیکی مغز از جمله صرع ابهامات فراوانی وجود دارد [۶]. اما با توجه به ارتباطات آناتومیکی وسیع آن با ساختارهای لوب گیجگاهی از جمله مجموعه آمیگدالوئید، و با توجه به تاخیر قابل توجه ایجاد شده در حملات تشنجی ناشی از کیندلینگ آمیگدال در شرایط تخریب این هسته، امروزه محققان این هسته را به عنوان یکی از عناصر مهم در شبکه القاء حملات تشنجی معرفی می‌کنند [۳۰]. با توجه به شیوع ۱ درصدی بیماری صرع که آن را در زمره شایعترین بیماریهای نورولوژیکی مزمن قرار داده و علیرغم مطالعات وسیع انجام شده بر روی این بیماری هنوز اتیولوژی دقیق و جزئیات مکانیسم‌های عصبی دخیل در این بیماری کاملاً شناخته شده نمی‌باشد [۸,۱۰]. در سالهای اخیر نقاط مختلف مغزی به عنوان مناطق مستعد در القاء حملات شناخته و معرفی شده‌اند که در این خصوص هسته‌های لوب گیجگاهی را می‌توان به عنوان قدیمی ترین و مهمترین مناطق دخیل در القاء اینگونه حملات دانست [۲۷]. در همین راستا وجود مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع در جهت شناخت هر چه بهتر مکانیسم‌ها و عوامل دخیل در این بیماری، ارزیابی داروهای ضد صرع و یافتن روشهای درمانی موثر ضروری است. مدل کیندلینگ یکی از رایجترین مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع لوب گیجگاهی محسوب می‌شود [۱۰]، که شایعترین نوع تشنج در بالغین که همان تشنجات موضعی پیچیده است را ایجاد می‌نماید [۱۷,۱]. با توجه به این نکته که نورونهای مجتمع جانبی آمیگدال به علت پایین بودن آستانه تحریک نورونی آمیگدال به کیندلینگ بسیار حساس می‌باشند [۱۲]، و در ایجاد و گسترش تشنجات حملات صرعی نقش مهمی دارند. امروزه این هسته را به عنوان یکی از حساس ترین کانون‌های ایجاد تشنج ناشی از تحریکات الکتریکی در حیوانات آزمایشگاهی معرفی می‌کنند [۵].

الکترودهای سه و دو قطبی به صورت یکطرفه و در سمت راست، مشخص می‌شد. توسط مته دندانپزشکی نقاط مزبور سوراخ شده و الکترودها با ارتفاع مناسب از سطح جمجمه به داخل هسته مورد نظر هدایت و سپس با کمک آکريل دندانپزشکی بر سطح جمجمه محکم و ثابت می‌شدند. دو الکتروم تک قطبی به عنوان Earth و Differential و دو پیچ عینک به عنوان لنگرگاه جهت سهولت اتصال سیمان بر سطح جمجمه نصب می‌شد. در پایان قرارگیری الکترودها در محل‌های مورد نظر، پین‌های متصل به آنها داخل مادگی سوکت مخابراتی وارد و سوکت توسط سیمان دندانپزشکی به روی سر حیوان متصل می‌شد. حداقل یک هفته پس از جراحی و اطمینان از بهبود زخم‌ها، شدت جریان آستانه جهت تحریک الکتریکی حیوانات تعیین می‌گردید. برای این کار از موج‌های مربعی دو فازی با مدت پالس ۱ میلی ثانیه و فرکانس ۶۰ هرتز به مدت ۲ ثانیه استفاده می‌شد. در ابتدا حیوان توسط جریانی با شدت ۱۰ میکروآمپر تحریک شده اگر امواج تخلیه متعاقب (حداقل به مدت ۵ ثانیه) در امواج الکتروانسفالوگراف (EEG) ثبت می‌شد، این شدت به عنوان شدت آستانه در نظر گرفته می‌شد. در غیر این صورت، هر ۵ دقیقه یک بار شدت جریان ۱۰ میکروآمپر افزایش می‌یافت تا اینکه امواج تخلیه متعاقب ثبت گردد. پس از آن حیوان با شدت جریان آستانه هر ۲۴ ساعت یکبار تحریک می‌شد. متعاقب تحریک الکتریکی اعمال شده توسط شدت جریان آستانه، امواج تخلیه متعاقب تولید می‌گردید. بر اساس تقسیم‌بندی Racine تشنجهای ایجاد شده در طی تحریکات مکرر الکتریکی در حیوان به پنج مرحله تقسیم می‌شود: ۱- حرکات موزون صورت و دهان (مرحله ۱) ۲- حرکات منظم سر شامل جلو و عقب بردن (مرحله ۲) ۳- کلونوس اندام فوقانی طرف مقابل نسبت به محل الکتروم (مرحله ۳) ۴- کلونوس دو طرفه اندام‌های فوقانی و ایستادن روی دو پا (مرحله ۴) ۵- ایستادن روی هر دو پا، از دست دادن تعادل و افتادن (مرحله ۵) [۲۱].

کمیت‌هایی که در این تحقیق مورد اندازه‌گیری و ارزیابی قرار گرفتند عبارتند از: مدت امواج تخلیه متعاقب (ADD; After discharge duration)، مدت زمان تأخیری بین تحریک الکتریکی تا شروع مرحله ۴ تشنج (S4L; Stage 4 latency)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S5D; Stage 5 duration)، تعداد تحریکات لازم برای رسیدن به هر مرحله تشنج.

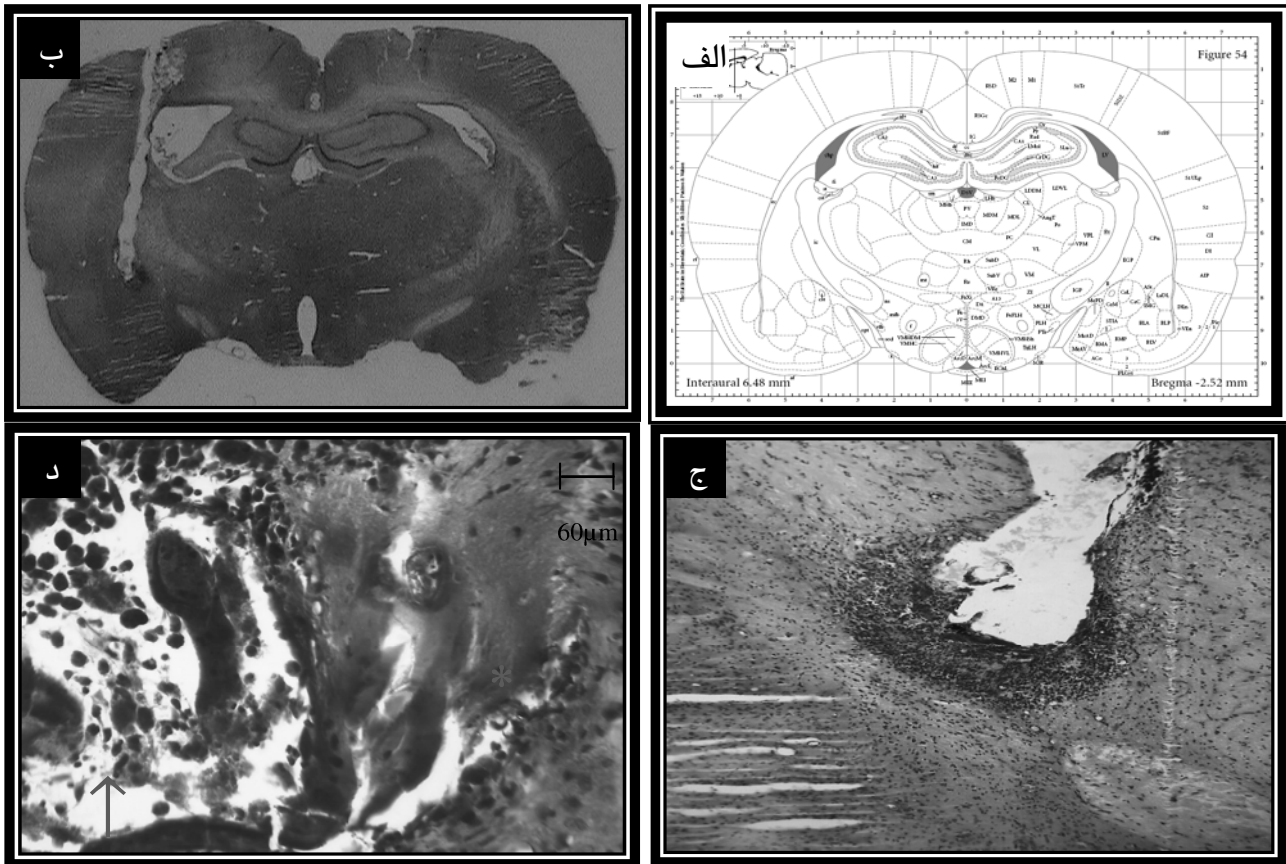
در آزمایش اول جهت بررسی تاثیر تخریب آمیگدال بر روند تشنج‌های ناشی از کیندلینگ کلاستروم قدامی، سه گروه از

حیوانات مورد ارزیابی قرار گرفتند: حیوانات گروه اول تحت عمل جراحی و کاشت الکتروم سه قطبی در کلاستروم قدامی قرار گرفتند و از طریق اعمال جریان الکتریکی از منطقه کلاستروم قدامی، کیندل شدند و پارامترهای تشنجی ناشی از کیندلینگ این هسته ثبت گردید. در گروه دوم حیوانات تحت عمل جراحی و کاشت الکتروم سه قطبی در کلاستروم قدامی و الکتروم دو قطبی در ناحیه آمیگدال قرار گرفتند ولی بدون ایجاد هر گونه مداخله در ناحیه آمیگدال، از طریق اعمال جریان الکتریکی از منطقه کلاستروم قدامی، کیندل شدند و پارامترهای تشنجی ناشی از کیندلینگ کلاستروم در این شرایط ثبت گردید. در گروه سوم نیز حیوانات تحت عمل جراحی مشابه گروه قبل قرار گرفتند ولی پس از ثبت شدت جریان آستانه، ناحیه آمیگدال از طریق جریان DC با شدت ۲ میلی آمپر به مدت ۲۰ ثانیه [۲۴] تخریب شده و از ۲۴ ساعت پس از ایجاد تخریب، به صورت روزانه با همان شدت جریان آستانه از ناحیه کلاستروم قدامی تحریک شدند [۲۴].

آزمایش دوم جهت بررسی تاثیر تخریب آمیگدال پس از تثبیت مرحله پنجم تشنج ناشی از کیندلینگ کلاستروم قدامی طراحی شده بود. در این آزمایش پس از اینکه حیوانات از طریق الکتروم سه قطبی موجود در کلاستروم قدامی تحریک شدند، تا سه بار مرحله ۵ تشنج را نشان دادند. پس از کیندل شدن کامل حیوانات، تخریب آمیگدال همانند آزمایش اول ایجاد می‌شد و پس از گذشت ۲۴ ساعت از ایجاد تخریب، مجدداً حیوانات با همان شدت جریان آستانه تحریک شدند و کمیت‌های تشنجی با زمان پیش از تخریب ثبت و مقایسه شدند.

در پایان هر آزمایش جهت اطمینان از قرار داشتن الکتروم در محل مورد نظر، مغز حیوانات پس از پرفیوژن با سرم فیزیولوژیک و فرمالدئید خارج و در فرمالدئید ۱۰ درصد قرار می‌گرفت. بعد از یک هفته از محل الکترودها برش‌گیری می‌شد و پس از تهیه لام و انجام رنگ آمیزی نیسل از طریق رنگ کریزل و بوله و بررسی‌های میکروسکوپی محل صحیح الکترودها تأیید می‌گردید و در نهایت داده‌های مربوط به محل صحیح الکتروم مورد ارزیابی قرار می‌گرفت.

کمیت‌های تشنجی اندازه‌گیری شده در گروه‌های کنترل و تجربی کیندلینگ با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همچنین جهت مقایسه مولفه‌های آماری مورد نظر از آزمون t-test زوجها (در حالت



شکل ۱- رنگ آمیزی نیسل بروی برشهای مغزی پس از ایجاد تخریب در هسته آمیگدال الف: تصویر شماتیک برش کرونال مغز موش صحرایی در برگمای ۲/۵-، منطقه خاکستری رنگ محل هسته قاعده‌ای طرفی آمیگدال بر اساس اطلس Paxinos می‌باشد ب: برش مغزی تهیه شده از گروه تخریب جهت تهیه بلوک رنگ آمیزی نیسل، ج: تصویر از نوک الکتروود و محل ایجاد تخریب، د: تصویر از محل تخریب با بزرگنمایی بیشتر، تصویر نشان دهنده از هم گسیختگی بافت عصبی در اثر ورود الکتروود و ایجاد تخریب، نکروز نورونهای منطقه در اثر اعمال تخریب و خون‌ریزی در اثر آسیب بافتی.

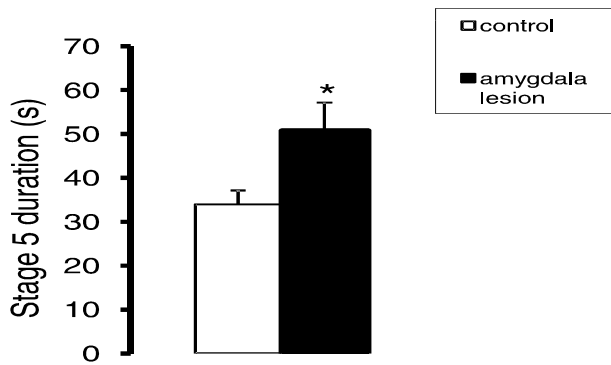
استناد به نتایج موجود می‌توان علت تاخیر افتادن حملات تشنجی کلاستروم پس از تخریب آمیگدال را به آسیب این نورونها مربوط دانست (شکل ۱).

بر اساس نتایج حاصل، تخریب آمیگدال تاثیر معنی داری را بر روند توسعه تشنجات ناشی از کیندلینگ کلاستروم ایجاد نمود. این یافته‌ها بر اساس تفاوت برخی پارامترهای تشنجی بدست آمده در گروههایی که آمیگدال آنها تخریب شد، بدست آمد. آزمون t زوجها نشان داد که تعداد متوسط تحریک برای کیندل شدن (مرحله ۵) یا مراحل دیگر تشنج به طور معنی داری در گروه تخریب آمیگدال نسبت به گروه کنترل (شکل ۲) افزایش یافت ($P < 0.001$). همچنین داده‌ها نشان می‌دهد که مدت زمان امواج تخلیه‌های متعاقب در گروه تخریب آمیگدال نسبت به گروه کنترل (در طی مدت زمان لازم برای رسیدن حیوانات گروه کنترل تا کیندل شدن: ۱۰ روز) به طور معنی داری کاهش یافته است (شکل ۳) و مدت زمان مرحله پنجم

توزیع طبیعی داده‌ها) یا Wilcoxon's test) در حالت توزیع غیر طبیعی داده‌ها) استفاده شد. ضمناً برای مقایسه میزان تفاوت تعداد تحریکات لازم جهت رسیدن به هر یک از مراحل کیندلینگ در گروه شاهد و تجربی از آزمون‌های آماری t-test غیر زوجها (در حالت توزیع طبیعی داده‌ها) و Mann-Whitney (در حالت توزیع غیر طبیعی داده‌ها) استفاده شد. تمام آنالیزها بصورت دو دامنه بوده و $P < 0.05$ عنوان ملاک تفاوت معنی دار آماری، انتخاب شده است.

یافته‌ها

نتایج مطالعات بافت شناسی صحت محل الکتروود را در هسته‌های مورد نظر تایید کرد. همچنین با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی نیسل تخریب نورون‌های هسته قاعده‌ای طرفی آمیگدال به وسیله میکروسکوپ به وضوح مشاهده شد که با

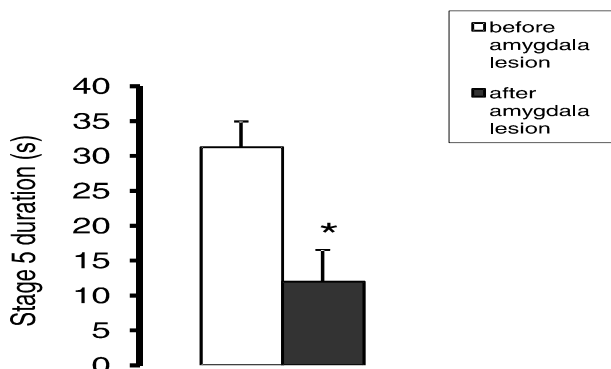


شکل ۴- تاثیر تخریب یکطرفه آمیگدال بر مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S5D). تخریب آمیگدال این کمیت را به طور معنی داری کاهش داد. $P < 0.05$ P^* به گروه کنترل با استفاده از آزمون آماری t-test غیر زوجها می باشد. اعداد نشان دهنده میانگین \pm خطای انحراف معیار بوده و تعداد حیوانات در گروه حداقل ۶ سر می باشد.

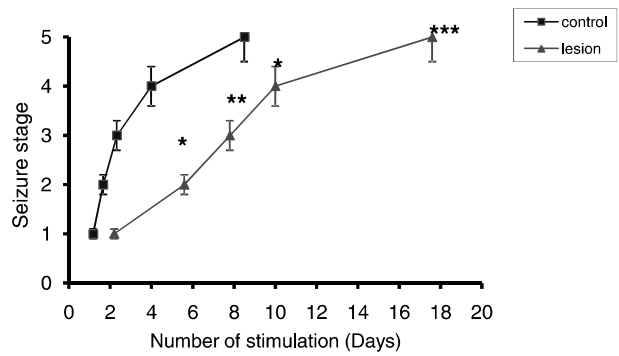
نتایج حاصل از این آزمایش عدم ثبات مرحله پنجم تشنج را در اثر تخریب آمیگدال نشان داد به طوری که در تعدادی از حیوانات مرحله پنجم به طور کلی محو و در برخی دیگر کاهش معنی دار مدت زمان این مرحله دیده شد (شکل ۵، ۷)، مدت زمان تاخیری ظهور مرحله چهارم اگرچه افزایش یافته بود ولی تغییر معنی داری را نشان نداد.

بحث

نتایج این بخش از تحقیق نشان داد که تخریب آمیگدال پیش از کیندلینگ کلاستروم قدامی سبب کند شدن روند کیندلینگ این هسته شده و تخریب آمیگدال پس از کیندلینگ کلاستروم سبب عدم ثبات این حملات گردید.

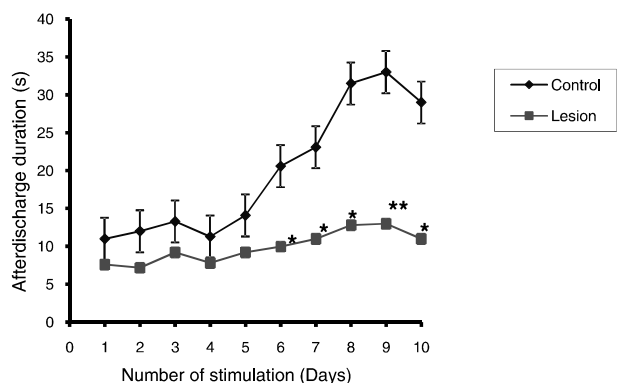


شکل ۵- تاثیر تخریب آمیگدال بر مدت زمان تاخیری ظهور مرحله ۴ تشنج (S4L). تخریب آمیگدال این مدت زمان را کاهش داد ولی این کاهش تفاوت معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد. اعداد نشان دهنده میانگین \pm خطای معیار میانگین می باشد.

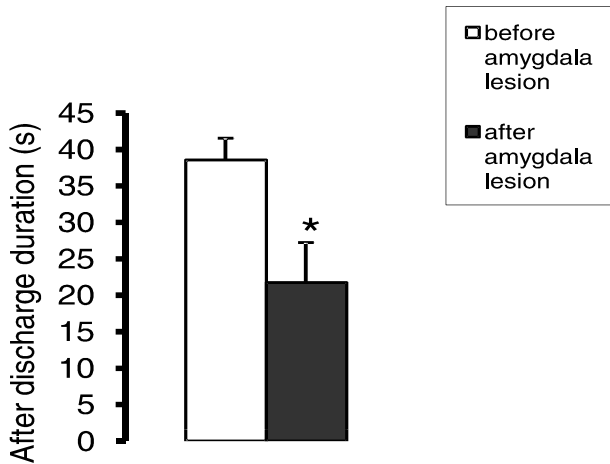


شکل ۲- تاثیر تخریب آمیگدال بر تعداد تحریکات لازم جهت رسیدن به مراحل پنجگانه تشنج. تخریب آمیگدال تعداد تحریکات لازم جهت رسیدن به مرحله ۲، ۳، ۴ و ۵ را به طوری کاهش داد. * نشان دهنده $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$ و *** $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل می باشد. تعداد حیوانات در گروه ۶ سر می باشد.

تشنج نیز به طور معنی داری کاهش یافت (شکل ۴). پس از کیندل شدن حیوانات گروه تخریب آمیگدال مدت زمان امواج تخلیه متعاقب مرحله پنجم تشنج که قبل از تخریب آمیگدال $31/285 \pm 3/68$ بود به $4/561 \pm 12/00$ پس از تخریب آمیگدال کاهش یافت که آزمون آماری t غیر زوجها با در نظر گرفتن $P < 0.05$ به عنوان حداقل سطح معنی دار بودن داده ها، تفاوت فوق را معنی دار بیان نمود (شکل ۵)، ولی نکته قابل توجه کاهش شدت تشنجات در گروه تخریب می باشد بدین معنا که با طولانی شدن مدت زمان دریافت تحریک و تخلیه های متعاقب از شدت تشنجات کاسته می شود. همچنین داده های بدست آمده نشان داد که افزایش در مدت زمان تاخیری تا ظهور مرحله ۴ تشنج در گروه تخریب آمیگدال به صورت معنی داری افزایش یافته بود (شکل ۶).

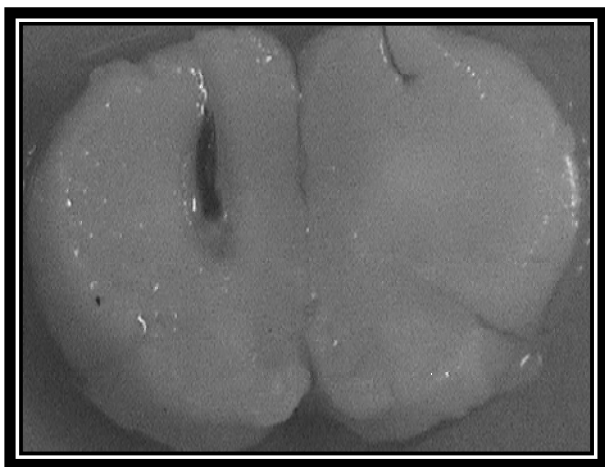


شکل ۳- تاثیر تخریب آمیگدال بر مدت زمان امواج تخلیه های متعاقب (ADD) در طی تحریکات روزانه برای ایجاد کیندلینگ تا روز دهم. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین است. * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$ می باشد. تعداد حیوانات در گروه ۶ سر می باشد.

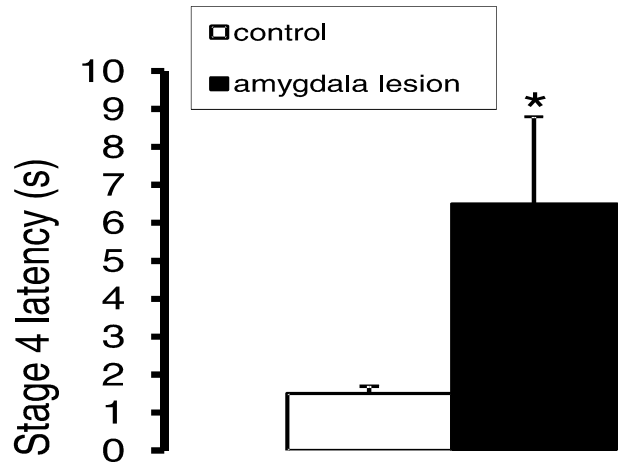


شکل ۷- تاثیر تخریب آمیگدال پس از تثبیت مرحله پنجم تشنج بر مدت زمان تخلیه‌های الکتریکی مرحله پنجم ناشی از کیندلینگ کلاستروم (ADD of stage5). تخریب آمیگدال سبب کاهش معنی دار مدت زمان تخلیه‌های مرحله پنجم تشنج گردید که آنالیز آماری این تفاوت را در مقایسه با مدت زمان مشابه پیش از تخریب آمیگدال معنی دار بیان نمود، * $P < 0.01$ می باشد.

اغلب آناتومیست‌ها تاکنون کلاستروم قدامی را یکی از هسته‌های قاعده‌ای مغز میدانند که ارتباط مهمی با دیگر هسته‌های قاعده‌ای ندارد [۲۵]. ولی مطالعات اخیر ارتباط عصبی بین کلاستروم قدامی و آمیگدال را مطرح می‌نماید. نتایج اینگونه تحقیقات نشان داده است که تخریب یک طرفه کلاستروم پیش از کیندلینگ آمیگدال، تعداد تحریکات لازم جهت رسیدن حیوانات (گربه و میمون) به مرحله ۴ و ۵ تشنج را افزایش می‌دهد [۲۸]. تخریب کلاستروم در موش صحرایی نیز کیندلینگ آمیگدال راتا رسیدن به مرحله ۵ دچار تاخیر نموده ولی افزایش معنی داری در تعداد تحریکات لازم برای رسیدن به این مرحله دیده نشد.



شکل ۸- برش کرونال مغز موش صحرایی در محل هسته کلاستروم پس از اعمال تحریکات روزانه تا کیندل شدن.



شکل ۶- تاثیر تخریب آمیگدال پس از تثبیت مرحله پنجم تشنج بر مدت زمان تخلیه‌های الکتریکی در مرحله پنجم ناشی از کیندلینگ کلاستروم (ADD at stage5). تخریب آمیگدال سبب کاهش معنی دار مدت زمان تخلیه‌ها در مرحله پنجم تشنج گردید که آنالیز آماری t زوجها این تفاوت را در مقایسه با مدت زمان مشابه پیش از تخریب آمیگدال معنی دار بیان نمود، * $P < 0.01$ می باشد.

آمیگدال بخشی از هسته‌های قاعده‌ای مغز و یکی از مهمترین ساختارهای القاء کننده حملات تشنجی است [۵]. اغلب محققان حضور این هسته را در القاء، گسترش و تثبیت حملات تشنجی ضروری می‌دانند. با توجه به تحقیقات مختلف، کیندلینگ در بسیاری از ساختارهای مغز قدامی وابسته به ارتباطات ترانس سیناپتیک این نواحی با آمیگدال میباشد. مطالعات نشان داده است که کیندلینگ از هیپوتالاموس تنها زمانی اتفاق می‌افتد که آمیگدال نیز تحریک شود [۷]. همچنین ثابت شده است که کیندلینگ Audiogenic (القای تشنج در موشهای مستعد از طریق تحریک صوتی) ساقه مغز نیازمند تحریک آمیگدال می‌باشد [۱۱]. نتایج اینگونه تحقیقات نشان داده که کیندلینگ در هسته‌های قرمز استریاترمینالیس و همچنین بولب بویایی [۴] پس از تخریب آمیگدال به طور معنی داری کاهش می‌یابد و بدین ترتیب حضور آمیگدال را جهت کیندلینگ این ساختارها ضروری می‌دانند. لازم به ذکر است که نقش آمیگدال در توسعه تشنجات ناشی از TLE (temporal lobe epilepsy)، تشنجاتی که بوسیله مدل کیندلینگ ایجاد می‌شود از نوع تشنجات موضعی پیچیده می‌باشد که با توجه به نقش بسیار مهم عناصر لوب تمپورال در القای این نوع از تشنجات آنها را به این نام می‌خوانند). به قدری است که امروزه تخریب بخشهایی از آمیگدال را به عنوان یک روش درمانی در صرع لوب گیجگاهی مورد استفاده قرار می‌دهند [۲۹].

- cat. *Brain Res Bull* 54 (2001) 485-498.
- [4] Cain DP, Seizure development following repeated electrical stimulation of central olfactory structures. *Ann N Y Acad Sci* 290 (1977) 200-216.
- [5] Cahill L, McGaugh JL, Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends Neurosci* 21 (1998) 294-299.
- [6] Crick FC, Koch CH, What is the function of the claustrum? *Philos Transac* 360 (2005) 1271-1278.
- [7] Cullen n, Goddard GV, Kindling in the hypothalamus and transfer to the ipsilateral amygdala. *Behav Biol* 15 (1975) 119-131.
- [8] Engel J, Causes of human epilepsy. In: Plum F, Gilman S, Martin JB, editors. **Seizures and Epilepsy**. Philadelphia, 1989, p.112-134.
- [9] Ettinger AB, Structural causes of epilepsy. *Neurol Clin* 12 (1994) 41-56.
- [10] Godard GV, McIntyre DC, Leech CK, A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol* 25 (1969) 295-330.
- [11] Hirsch E, Danover L, Simler S, Pereira de vasconcelos A, Maton B, Nehlig A, Marescaux C, Vergnes M, The amygdala is critical for propagation from brainstem to forebrain. *Neuroscience* 77 (1997) 975-984.
- [12] Kluver H, Bucy PC, Psychic blindness and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in rhesus monkeys. *Am J Physiol* 119 (1937) 352-353.
- [13] Le G, La Salle G, Kindling of motor seizures from the red nucleus of the stria terminalis. *Exp Neurol* 66 (1979) 309-318.
- [14] Majak K, Kowianski P, Dziewiatkowski J, Karwacki Z, Luczynska A, Morys J, Claustrorhinal connections in the rabbit and rat- a stereological study. *Folia Morphol* 59 (2000) 47-56.
- [15] McIntyre DC, Stukeley GN, Stokes KA, Effect of amygdala lesions on dorsal hippocampus kindling in rats. *Exp Neurol* 75 (1982) 184-190.
- [16] McNamara JO, Emerging insight into genesis of epilepsy. *Nature* 399 (1999) A15-A22.
- [17] McNamara JO, Byrne MC, Dasheiff RM, Fitz JG, The kindling model of epilepsy: a review. *Prog Neurobiol* 15 (1980) 139-157.
- [18] Mohapel P, Hannesson DK, Armitage LL, Gillespie GW, Corcoran ME, Claustral lesions delay amygdaloid kindling in the rat. *Epilepsia* 41 (2000) 1095-1101.

بررسی‌های فوق ارتباطات نورونی کلاستروم با آمیگدال را سبب تسریع در گسترش حملات تشنجی ناشی از کیندلینگ آمیگدال دانسته است [۱۸]. نتایج تحقیق حاضر نشان داده است که تخریب هسته‌های قاعده‌ای جانبی آمیگدال سبب تاخیر قابل توجه در کیندلینگ کلاستروم قدامی می‌شود به طوری که تعداد تحریکات لازم جهت رسیدن به مراحل تشنج به طور معنی داری افزایش یافته و از طرفی از شدت تشنجات ایجاد شده کاسته می‌شود. این یافته‌ها در ادامه مطالعات ذکر شده وجود ارتباطات نورونی میان کلاستروم و آمیگدال را تایید نموده و از طرفی این ارتباطات را در کیندلینگ کلاستروم تسهیل کننده می‌داند. از سوی دیگر با توجه به عدم ثبات حملات تشنجی مرحله پنجم کیندلینگ کلاستروم قدامی پس از تخریب آمیگدال می‌توان کلاستروم را نیز به عنوان یکی از هسته‌های وابسته به آمیگدال که نقش مهمی در عمومی شدن تشنجات دارد، معرفی نمود. اگرچه نمی‌توان آمیگدال را تسهیل کننده کیندلینگ همه هسته‌ها دانست زیرا برخی تحقیقات نشان داده که با تخریب آمیگدال گسترش تشنجات ناشی از کیندلینگ هیپوکمپ نه تنها کند نشده بلکه سریعتر نیز می‌گردد [۱۵]. همچنین در مطالعه ذکر شده تخریب آمیگدال بر کیندلینگ هیپوکمپ تنها زمانی موثر بوده است که تخریب آمیگدال و تحریک هیپوکمپ هم جهت (Ipsilateral) باشند [۱۵].

مطالعات اخیر کلاستروم را نیز به عنوان یکی از ساختارهای مغزی مستعد به حملات تشنجی ناشی از کیندلینگ معرفی نموده است [۱۸]. نورونهای این هسته نسبت به حملات تشنجی از حساسیت بالایی برخوردار می‌باشند. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داده است که کلاستروم قدامی در غیاب آمیگدال همان طرف حملات تشنجی ایجاد کند و آنها را تا عمومی شدن تشنج پیش ببرد و این نکته اهمیت کلاستروم را در القاء و گسترش حملات تشنجی در صرع نشان می‌دهد.

منابع

- [1] Abel MS, McCandless DW, The kindling model of epilepsy. *Neuromethods* 22 (1992) 153-167.
- [2] Baizer JS, Serotonergic innervation of the primate claustrum. *Brain Res Bull* 55 (2001) 431-434.
- [3] Beneyto M, Prieto JJ, Connections of the auditory cortex with the claustrum and the endopiriform nucleus in the

- intracellular staining study. *Neuroscience* 85 (1998) 1037-1049.
- [26] Sloniewski P, Morys J, The claustrum as the structure related to the somatosensory evoked potentials in the man. *Verh Anat Ges* 81 (1987) 891-982.
- [27] Sloviter RS, The neurobiology of temporal lobe epilepsy: too much information not enough knowledge. *C R Biol* 328 (2005) 143-153.
- [28] Wada JA, Tsuchimochi H, Role of the claustrum in convulsive evolution of visual afferent and partial nonconvulsive seizure in primates. *Epilepsia* 38 (1997) 897-906.
- [29] Yang WD, Yu Q, Zhang JN, Shen CH, Wang FL, Cui LY, Li H, Yang SY, Stereotactic combined amygdala and hippocampus lesions for treatment of medial temporal lobe epilepsy. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 43 (2005) 616-619.
- [30] Zhang X, Hannesson DK, Saucier DM, Wallace AE, Howland J, Corcoran ME, Susceptibility to kindling and neuronal connection of the anterior claustrum. *Neuroscience* 21 (2001) 3674-3687.
- [19] Morys J, Narkiewicz O, Wisniewki HM, The human claustrum in some congenital malformations of the brain. *Folia Morphol* 49 (1990) 177-184.
- [20] Paxinos G, Watson C, editors. The rat Brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press, 1986.
- [21] Racine RJ, Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 32 (1972) 281-294.
- [22] Rae ASL, The form and structure of the human claustrum. *J Comp Neurol* 100 (1954) 15-39.
- [23] Real MA, Davila JC, Guirado S, Expression of calcium-binding proteins in the mouse claustrum. *J Chem Neuroanat* 25 (2003) 151-160.
- [24] Shahabi P, Mirnajafi-Zade, Fatholahi Y, Hoseinmardi N, Rezvani ME, Eslami-far A, Amygdala adenosine A1 receptors have no anticonvulsant effect on piriform cortex-kindled seizures in rat. *Can J Physiol Pharm* 84 (2006) 1-9.
- [25] Shibuya H, Yamamoto T, Electrophysiological and morphological features of rat claustral neurons: an