

## بررسی تغییرات پارامترهای کیندلینگ در مدل آزمایشگاهی صرع الکتریکی کلاسیک پس از ضربه مغزی

صغری حسام<sup>۱،۲</sup>، محمد سیاح<sup>۲</sup>، وهاب باباپور<sup>۱</sup>، مرتضی زندهدل<sup>۱</sup>، حمید غلامی پور بدیع<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۱۵ آبان ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۱۰ بهمن ماه ۱۳۹۷)

### چکیده

زمینه مطالعه: آسیب‌های ناشی از ضربه‌های مغزی (Traumatic brain injury) یکی از مشکلات پزشکی است. یکی از پیامدهای آسیب مغزی، دچار شدن به بیماری صرع (Post Traumatic Epilepsy; PTE) می‌باشد. هدف: هدف از این مطالعه بررسی تغییرات پارامترهای کیندلینگ در مدل آزمایشگاهی صرع الکتریکی کلاسیک پس از ضربه مغزی می‌باشد. روش کار: ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با استفاده از مدل صرعی کیندلینگ الکتریکی کلاسیک صرعی شدند. جهت ایجاد کیندلینگ با جراحی استریوتاکسی یک الکتروود در ناحیه آمیگدال مغز موش‌ها کار گذاشته می‌شد. بعد از ۵ روز در روز ۶ ترومای مغزی به آن‌ها وارد شد. تروما بر اساس مدل (Controlled Cortical Impact) CCI ایجاد شد که آسیبی به قطر ۲mm الکتروود کاشته شده در آمیگدال مغز به موش‌ها انجام شد. شدت تحریکات در حد ۲۰۰ تا ۵۰۰  $\mu\text{A}$  با بسامد ۵۰ Hz و موج قطاری مربعی بود. در گروه شاهد، بدون ایجاد تروما موش‌ها فقط تحریک الکتریکی کیندلینگ دریافت کردند. در گروه شم، به جای تروما برشی به استخوان سر داده شد و ۲۴ ساعت بعد تحریکات کیندلینگ آغاز گردید. در این پژوهش شمار تحریکات لازم برای صرعی شدن، آستانه تحریک، امواج پس از تخلیه در مرحله ۵ (ADD۵)، مرحله ۳ (ADD۳)، طول دوره مرحله پنجم تشنج (S۵D) و طول دوره تشنج (SD) را بررسی شد. نتایج: در گروه شاهد و شم موش‌ها بطور میانگین بعد از ۱۴ تحریک صرعی شدند. تعداد تحریکات الکتریکی لازم برای صرعی شدن در موش‌های دچار تروما بطور معنی‌داری کاهش یافت (۵ تحریک) ( $P < 0/001$ ). امواج متعاقب تخلیه در مرحله ۵ (ADD۵)، مرحله ۳ (ADD۳)، طول دوره مرحله پنجم تشنج (S۵D) و طول دوره تشنج (SD) در گروه شم تغییر معنی‌داری با گروه کنترل نداشت ولی در گروه تروما بیشتر از گروه کنترل شد ( $P < 0/001$ ). در گروه شاهد و شم آستانه تحریکات در حد ۲۰۰ تا ۵۰۰  $\mu\text{A}$  بود ولی در موش‌های ترومایی شدت تحریکات در حد ۱۰۰ تا ۲۰۰  $\mu\text{A}$  بود ( $P < 0/001$ ). نتیجه گیری نهایی: شروع کیندلینگ الکتریکی کلاسیک متعاقب تروما باعث تغییر معنی‌داری در پارامترهای کیندلینگ می‌شود.

واژه‌های کلیدی: صرع، تروما، کیندلینگ، موش صحرایی، پارامترهای کیندلینگ

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

\* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۶۴۱۱۲۶۳، شماره: ۰۲۱-۶۴۱۱۲۶۳، Email: Sayyahm2@pasteur.ac.ir

### How to Cite This Article

Hesam, S., Sayyah, M., Babapour, V., Zendehei, M., Gholami Pour Badei, H. (2019). Survey of Changes Kindling Parameters in the Model of the Classical Electrical Kindling Following Traumatic Brain Injury. J Vet Res, 74(2), 247-253. doi: 10.22059/jvr.2017.240992.2693



## مقدمه

آسیب‌های ناشی از ضربات مغزی (Traumatic brain injury) یکی از مشکلات جدی پزشکی است که به رغم کارهای فراوان جهت افزایش ایمنی، هنوز سالیانه بیش از ۲ میلیون نفر در جهان درگیر پیامدهای فوری و تأخیری ناشی از تروما هستند که هزینه زیادی را برای سیستم دارو و درمان کشورها ایجاد می‌کند (۱۰). کشور ما ایران نیز از دو جنبه در این مسئله درگیر است. یکی بالا بودن آمار تصادف‌های جاده‌ای است که از این نظر جزو چند کشور اول در جهان است و شمار زیاد مصدومین آسیب‌های مغزی را بدنبال داشته است و دیگری شمار قابل توجه جانبازان آسیب مغزی ناشی از جنگ ایران و عراق می‌باشد. صرع با شیوع جهانی ۱ درصد سومین نارسائی شایع نورولوژیک بعد از سکته مغزی و بیماری آلزایمر است و تروما مسئول ۲۰ درصد صرع‌های علامتی (symptomatic epilepsy) است (۱۰). در آمریکا و اروپا بیش از نیم میلیون نفر مبتلا به صرع ناشی از تروما هستند. استراتیژی فعلی در درمان صرع، دارو درمانی علامتی است. داروهای موجود ضد صرع شمار حملات را کاهش می‌دهند بدون این که عامل ایجاد صرع را تحت تأثیر قرار دهند. علاوه بر این ۳۰ درصد بیماران مصروع به هیچ نوع درمان دارویی پاسخ نمی‌دهند و به اصطلاح دچار مقاومت دارویی می‌شوند. به رغم پژوهش‌های گسترده‌ای که در زمینه صرع صورت گرفته، هنوز پاتوفیزیولوژی آن به خوبی شناخته شده نیست. یکی از پیامدهای آسیب‌های مغزی، ابتلا به بیماری صرع (Post Traumatic Epilepsy; PTE) می‌باشد (۱۰). آسیب مغزی ناشی از ضربه و ایسکمی از عوامل خطر شناخته شده در ایجاد این بیماری هستند. به دنبال ضربه مغزی سیستم ایمنی فعال می‌شود و با ایجاد آماس عصبی علاوه بر صدمات جبران ناپذیر بر سیستم عصبی، شکل پذیری سیناپس‌های مغزی (Neuronal plasticity) بطور برگشت ناپذیر تغییر می‌یابد و این امر زمینه ابتلا به صرع را فراهم می‌کند (۹).

مطالعات قبلی نشان دادند که ایجاد تروما به روش CCI در موش صحرایی در دو مدل کیندلینگ شیمیایی و الکتریکی از نوع سریع سبب آسان شدن فرآیند صرعی شدن می‌شود (۳). با توجه به پژوهش‌های بالا در این مطالعه از کیندلینگ الکتریکی کلاسیک استفاده شد به این ترتیب که روزانه یک تحریک تا مرحله صرعی شدن کامل داده شد اما در کیندلینگ الکتریکی سریع هر روز ۱۲ تحریک با فاصله زمانی ۵ دقیقه داده می‌شود. در مدل کیندلینگ شیمیایی نیز با تزریق داخل صفاقی پنتیلن تترازول صرع ایجاد می‌کنند. با توجه به اینکه اثر تروما بر کیندلینگ الکتریکی کلاسیک که بیشتر شبیه به مدل‌های انسانی است تا کنون بررسی نشده است لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تشنجات الکتریکی بر پارامترهای کیندلینگ کلاسیک بعد از دریافت ضربه و ایجاد آسیب بود.

## مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه از ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ ۲۷۰ گرمی

Wistar که در ۳ گروه ۸ تایی پرورش یافته انستیتو پاستور ایران استفاده شد.

**جراحی و کاشت الکتروود در مغز موش:** موش‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلاین (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند و سپس بر روی دستگاه استریوتاکس ثابت گردیدند. سطح استخوان جمجمه را از بافت‌های اضافی جدا می‌شد تا نقطه برگما و لامبدا به صورت آشکار دیده شود. در سطح جمجمه بوسیله مته دندانپزشکی در سه نقطه سوراخ ایجاد شد، در یکی از آن‌ها یک الکتروود تک قطبی و در دو سوراخ باقی مانده دو عدد پیچ عینک قرار داده می‌شود سپس یک الکتروود سه قطبی در هسته قاعده‌ای- جانبی آمیگدال (بر اساس مختصات اطلس پاکسینوس: AP: ۲/۵، L: ۴/۸، V: ۷/۴) قرار داده شد (۸). پس از آن محل الکتروودها و پیچ‌ها در سطح جمجمه با اکریل دندانپزشکی محکم می‌شد. حیوان به محیط پاکیزه و گرم منتقل شد تا به هوش آید. تمامی آزمایشات مطابق با کتاب راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و کلیه روش‌ها مورد تایید کمیته اخلاق تحقیق موسسه تحقیقاتی پاستور بوده است (National Institutes of Health Publication No. ۸۰-۲۳، revised ۱۹۹۶).

**ایجاد ترومای مغزی:** موش‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلاین (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند. حیوان در استریوتاکس فیکس شده و قطعه‌ای از جمجمه به قطر ۵ mm در ناحیه آهیانه بریده و برداشته شد. تروما توسط مدل CCI با مشخصات: سرعت ضربه ۱۵۰ m/sec، فشار وارده بر بالای پیستون ۱۳۰ psi، فشار وارده بر پایین پیستون ۲۰ psi، سرعت حرکت پیستون ۴/۵ m/sec و مدت زمان ضربه ۱۵۰ msec (شرایط بهینه‌ای که موجب ایجاد ضایعه‌ای به قطر ۲ mm در سطح کورتکس می‌گردد) به سطح کورتکس مغز حیوانات اعمال شد (۴). سپس قطعه جدا شده جمجمه در محل اولیه خود گذاشته شده و با کمک اکریل دندانپزشکی در جای خود محکم شد. بعد حیوانات به اتاق ریکاوری منتقل شدند.

**تحریک الکتریکی حیوانات جراحی شده:** به این منظور هسته قاعده‌ای- جانبی آمیگدال با استفاده از جریان الکتریکی با مشخصات موج مربعی تک فازی، با توان ۵۰ Hz، پهنای هر موج ۱ ms و شدت جریان ۵۰  $\mu$ A و مدت زمان تحریک دو ثانیه تحریک شد. وقتی که شدت جریان اعمال شده برای تحریک نورون‌های موجود در آمیگدال کافی بود، این نورونها بطور همزمان شروع به تولید پتانسیل عمل می‌نمودند که این پتانسیل‌های عمل بصورت تخلیه‌های پیاپی بوسیله نرم افزار کامپیوتری ثبت می‌شدند. در صورت دیده نشدن امواج تخلیه متعاقب هر ۵ دقیقه یکبار ۵۰  $\mu$ A بر شدت جریان قبلی افزوده شده و این عمل تا زمانی که امواج تخلیه متعاقب به مدت حداقل پنج ثانیه مشاهده شود تکرار می‌شد. این شدت



تصویر ۱. بیست و چهار ساعت بعد از اعمال تروما، مغز از داخل جمجمه بیرون آورده شد و برش کورنال به مغز دادیم. تقریباً ۴mm از نقطه برگما ناحیه آسیب دیده و بی رنگ شده بود.

کیندلینگ (ADD5) در گروه تروما بیشتر از گروه‌های کنترل و شم بود (میانگین ۷۶/۱۶۶۷ در گروه کنترل، میانگین ۸۱/۱۶۶۷ ثانیه در گروه شم و میانگین ۱۱۲ ثانیه در گروه تروما) ( $F(2,17) = 3/125$ ,  $P < 0/001$ ) (نمودار ۲). همچنین امواج متعاقب تخلیه در مرحله ۳ کیندلینگ (ADD3) در گروه تروما بیشتر از گروه‌های کنترل و شم بود (میانگین ۱۱/۵ در گروه کنترل، میانگین ۱۳/۳۳۳۳ ثانیه در گروه شم و میانگین ۲۹/۸۳۳۳ ثانیه در گروه تروما) ( $F(2,17) = 42/94$ ,  $P < 0/001$ ) (نمودار ۳). طول دوره ی مرحله پنجم تشنج (S5D) در گروه تروما بیشتر از گروه‌های کنترل و شم بود (میانگین ۲۹/۱۶۶۷ در گروه کنترل، میانگین ۳۱/۸۶۶۷ ثانیه در گروه شم و میانگین ۴۶/۳۳۳۳ ثانیه در گروه تروما) ( $F(2,17) = 53/23$ ,  $P < 0/001$ ) (نمودار ۴). همچنین طول دوره ی تشنج (SD) در گروه تروما بیشتر از گروه‌های کنترل و شم بود (میانگین ۸۵/۶۶۵ در گروه کنترل، میانگین ۹۰/۳۳۳ ثانیه در گروه شم و میانگین ۱۲۳/۳۳۳ ثانیه در گروه تروما) ( $F(2,17) = 54/83$ ,  $P < 0/001$ ) (نمودار ۵). آستانه تحریک در گروه تروما کمتر از گروه‌های کنترل و شم بود (میانگین ۴۵۰ در گروه کنترل، میانگین ۴۱۶/۶۶۷ ثانیه در گروه شم و میانگین ۱۳۳/۳۳۳ ثانیه در گروه تروما) ( $F(2,17) = 13/86$ ,  $P < 0/001$ ) (نمودار ۶).

## بحث

هدف از این مطالعه بررسی تغییرات پارامترهای کیندلینگ در مدل آزمایشگاهی صرع الکتریکی کلاسیک متعاقب ترومای مغزی بود. بر اساس نتایج گفته شده در گروه شاهد و شم موش‌ها بطور میانگین بعد از ۱۴ تحریک صرعی شدند. تعداد تحریکات الکتریکی لازم برای صرعی شدن موش‌ها در موش‌های دچار تروما بطور معنی‌داری کاهش یافت (۵ تحریک)، همچنین امواج متعاقب تخلیه در مرحله ۵ (ADD5)، در مرحله ۳ (ADD3)، طول دوره مرحله پنجم تشنج (S5D) و طول دوره تشنج (SD) در گروه شم تغییر معنی‌داری با گروه کنترل نداشت ولی در گروه

جریان بعنوان شدت جریان آستانه در نظر گرفته شد. سپس تحریکات الکتریکی با شدت آستانه هر ۲۴ ساعت یکبار به حیوانات اعمال شد تا زمانیکه حیوان در ۳ بار تحریک متوالی مرحله ۵ تشنج (تشنجات فراگیر) را نشان می‌داد. در این حالت حیوان بطور برگشت ناپذیر صرعی و در اصطلاح کیندل شده بود (۷). رفتارهای تشنجی بر اساس تقسیم بندی Racine به ۵ مرحله تقسیم می‌شوند: (۱) حرکات دهان و صورت، (۲) تکان دادن سر به طرف بالا و پایین، (۳) کلونوس اندام (۴) ایستادن روی دو پای عقبی همراه با کلونوس دو اندام جلویی، (۵) ایستادن روی دو پا و از دست دادن تعادل (۱۱).  
**گروه‌های آزمایشی (گروه کنترل):** شش روز پس از کاشت الکتروود تحریکات کیندلینگ در موش‌ها شروع شد و تا زمانی که ۳ بار مرحله ۵ را نشان دهند ادامه می‌یافت.

**گروه تروما:** پنج روز پس از کاشت الکتروود، موش‌ها تحت ترومای مغزی قرار گرفتند. ۲۴ ساعت پس از اعمال تروما آستانه تحریک موش‌ها تعیین و تحریکات کیندلینگ در موش‌ها شروع شد و تا زمانی که ۳ بار مرحله ۵ را نشان دادند ادامه داشت.

**گروه شم:** تمام شرایط گروه تروما رعایت شد با این تفاوت که تروما به موش‌ها اعمال نشد و فقط قطعه جمجمه بریده شده و دوباره با اکریل دندانپزشکی در جای خود محکم شد.

**یافت شناسی:** موش‌ها با اثر تحت بیهوشی قرار گرفتند. مغزها از جمجمه بیرون آورده شده و رنگ آمیزی ۲،۳،۵- triphenyl tetrazolium chlorid (TTC; Sigma-Aldrich, Canada) انجام شد. در برش‌های مرگ سلولی و محل درست الکتروود در نمونه‌ها بررسی شد. داده‌های بدست آمده از موش‌هایی که در آن‌ها الکتروود در محل درست نبود از نتایج حذف شد.

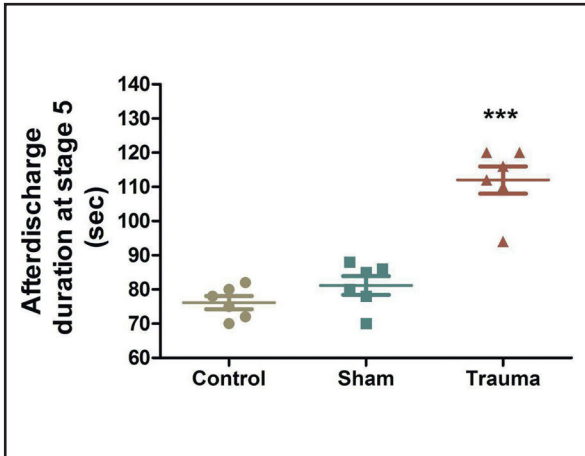
**آنالیز آماری:** برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه (NOVA) و تست تکمیلی Turkey-Kramer استفاده شد.  $P < 0/05$  ملاک معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین داده‌ها در گروه تست و کنترل بود.

## نتایج

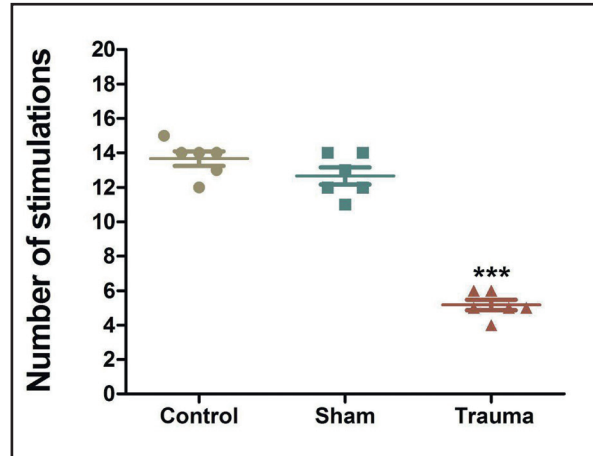
رنگ آمیزی TTC آسیبی به عمق  $2 \pm 0/5$  ml از سطح سخت شامه نشان داد (تصویر ۱). همچنین ضربه مدل CCI سبب آسان شدن در صرعی شدن در مدل کیندلینگ الکتریکی کلاسیک شد بطوریکه در گروه شاهد و شم موش‌ها بطور میانگین بعد از ۱۴ تحریک صرعی شدند. شمار تحریکات الکتریکی لازم برای صرعی شدن در موش‌های دچار تروما بطور معنی‌داری کاهش یافت (۵ تحریک) (میانگین ۱۳/۶۶۶۷ در گروه کنترل، میانگین ۱۲/۶۶۶۷ ثانیه در گروه شم و میانگین ۲۹/۸۳۳۳ ثانیه در گروه تروما) ( $F(2,17) = 42/28$ ,  $P < 0/001$ ) (نمودار ۱).

علاوه بر این نتایج بدست آمده از اثر تروما بر پارامترهای کیندلینگ الکتریکی کلاسیک نشان داد که امواج متعاقب تخلیه در مرحله ۵

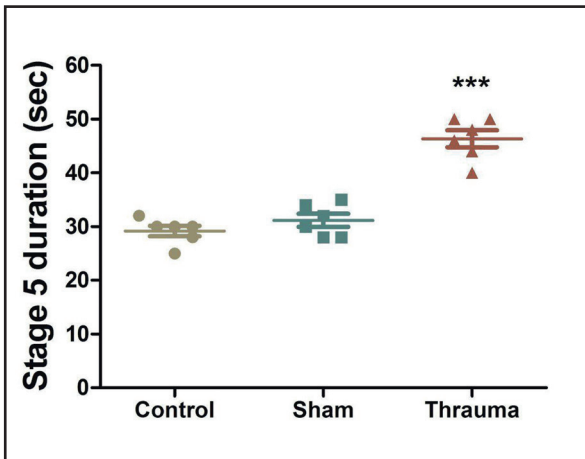




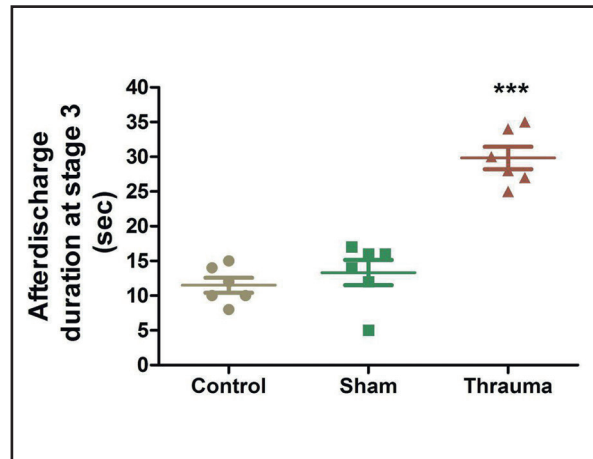
نمودار ۲. اثر آسیب CCI بر طول مدت زمان پس از تخلیه در مرحله پنجم. داده‌ها بر اساس  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده‌اند و معنی‌داری گروه تروما در مقایسه با گروه شم و کنترل  $P < 0.001$  است.



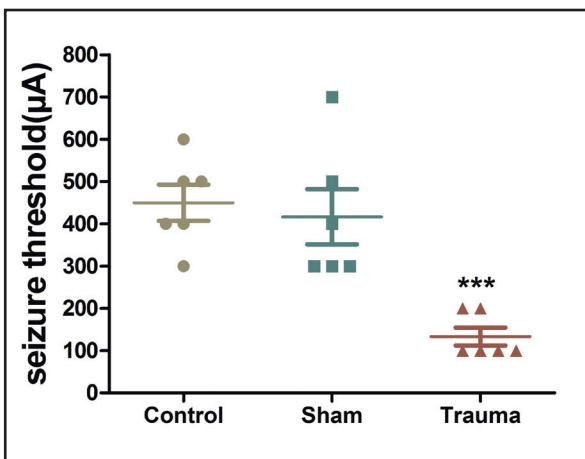
نمودار ۱. اثر آسیب CCI بر میانگین تعداد تحریکات مورد نیاز برای دستیابی به تشنجات گسترده در موش صحرایی. داده‌ها بر اساس  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده‌اند و معنی‌داری گروه تروما در مقایسه با گروه شم و کنترل  $P < 0.001$  است.



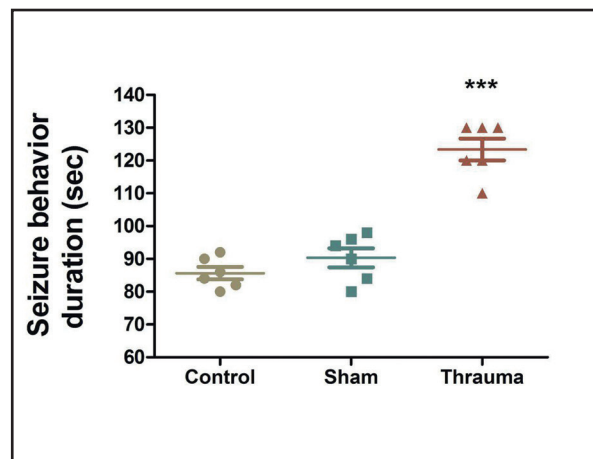
نمودار ۴. اثر آسیب CCI بر طول مدت زمان مرحله ۵ پنجم. داده‌ها بر اساس  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده‌اند و معنی‌داری گروه تروما در مقایسه با گروه شم و کنترل  $P < 0.001$  است.



نمودار ۳. اثر آسیب CCI بر طول مدت زمان پس از تخلیه در مرحله سوم. داده‌ها بر اساس  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده‌اند و معنی‌داری گروه تروما در مقایسه با گروه شم و کنترل  $P < 0.001$  است.



نمودار ۶. اثر آسیب CCI بر آستانه تشنج. داده‌ها بر اساس  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده‌اند و معنی‌داری گروه تروما در مقایسه با گروه شم و کنترل  $P < 0.001$  است.



نمودار ۵. اثر آسیب CCI بر طول مدت زمان رفتار تشنجی. داده‌ها بر اساس  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده‌اند و معنی‌داری گروه تروما در مقایسه با گروه شم و کنترل  $P < 0.001$  است.

حد  $100 \mu\text{A}$  تا  $200 \mu\text{A}$  بود.

این نتایج نشان داد که تغییرات آناتومیک و فیزیولوژیک همراه با TBI

تروما بیشتر از گروه کنترل شد. در گروه شاهد و شم آستانه تحریکات در حد  $200 \mu\text{A}$  تا  $500 \mu\text{A}$  بود ولی در موش‌های دچار تروما شدت تحریکات در

و طول دوره تشنج (SD) در گروه تروما نسبت به گروه کنترل و شم شد. و همینطور کاهش آستانه تحریک در گروه تروما نسبت به گروه کنترل و شم شد.

این مطالعه نشان داد که تروما باعث تغییراتی در پارامترهای کیندلینگ می‌شود. برای مشخص شدن مکانیسم دقیق اثر تروما بر پارامترهای کیندلینگ نیاز به مطالعات بیشتری از جمله مطالعات مولکولی است.

### تشکر و قدردانی

از همکاری انستیتو پاستور ایران و همچنین معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که حمایت‌های مالی انجام طرح را عهده دار شدند، تشکر و قدردانی می‌شود.

### تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

### References

1. Algattas, H., Huang, J. H. (2013). Traumatic Brain Injury pathophysiology and treatments: early, intermediate, and late phases post-injury. *Int J Mol Sci*, 15(1), 309-341. <https://doi.org/10.3390/ijms15010309> PMID: 24381049
2. Coulter, D. A., Rafiq A, Shumate, M., Gong, Q. Z., DeLorenzo, R. J., Lyeth, B. G. (1996). Brain injury-induced enhanced limbic epileptogenesis: anatomical and physiological parallels to an animal model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*, 26(1), 81. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(96\)00044-7](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(96)00044-7) PMID: 8985690
3. Eslami, M., Ghanbari, E., Sayyah, M., Etemadi, F., Choopani, S., Soleimani, M., Amiri, Z., Hadjighassem, M.R. (2016). Traumatic brain injury accelerates kindling epileptogenesis in rats. *Neurol Res*, 38(3), 269-74. <https://doi.org/10.1179/1743132815Y.0000000086> PMID: 26315855
4. Hunt, R. F., Scheff, S. W., Smith, B. N. (2008). Posttraumatic epilepsy after controlled cortical impact injury in mice. *Exp Neurol*, 215(2), 243-252. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.10.005> PMID: 19013458
5. McNamara, I. O., Byrne, M. C., Dasheiff, R. M., Fitz, J. G. (1980). The kindling model of epilepsy: A review. *Prog Neurobiol*, 15, 139-159.

در سیستم لیمبیک، در پیشرفت صرع بدنبال ضربه مغزی شرکت دارد. بنابر این می‌توان نتیجه گرفت که آسیب به مغز موجب افزایش صرع زائی در سیستم لیمبیک می‌شود. از آنجایی که در روزهای اول کیندلینگ چون تحریک فقط به هسته آمیگدال سیستم لیمبیک داده می‌شود ایجاد صرع بصورت موضعی و بصورت جزئی است ولی با پیشروی روزها، هسته‌های اطراف از جمله هسته‌های حرکتی را درگیر می‌کند (۵،۶). حدس ما برای افزایش یافتن پارامترهای کیندلینگ پس از ضربه این است که متعاقب ضربه مغزی سیستم ایمنی فعال می‌شود (۱) و شکل پذیری سیناپسهای مغزی (Neuronal plasticity) بطور برگشت ناپذیر تغییر می‌دهد و آستانه تحریک نورون‌ها کاهش می‌یابد (۱۰) و زودتر از نورون‌های موش‌های غیر ترومایی دچار Firing می‌شوند. و به همین دلیل موش‌های ترومایی زودتر صرعی می‌شوند و در نتیجه آستانه تحریک در موش‌های ترومایی پایین تر از موش‌های غیر ترومایی شده است.

همچنین احتمال می‌رود که بخشی از این اثر تسهیلی ناشی از فرایندهای آماسی و آزادسازی سایتوکاینهای التهابی (TNF- $\alpha$  و beta-IL۱) عصبی، مرگ سلولی و تغییرات سیناپسی می‌گردد که نتیجه نهایی آن تسهیل اکتساب صرع می‌باشد (۵).

همانند یافته‌های این پژوهش، Eslami و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که تروما با مدل CCI بر موش صحرایی در دو مدل کیندلینگ شامل کیندلینگ شیمیایی و کیندلینگ الکتریکی از نوع Rapid باعث تسهیل در فرآیند صرعی شدن می‌شود (۳).

در تحقیقی که بوسیله DA Coulter و همکارانش در سال ۱۹۹۵ انجام شد مشخص گردید که ارتباط زیادی بین ضربه به سر و پیشرفت صرع در لوب تمپورال وجود دارد. در این آزمایش از روش Fluid Percussion Injury برای ایجاد تروما استفاده شد. القا صرع بوسیله پیلوکارپین و بصورت invitro انجام شد. تغییرات کمی و کیفی ایجاد شده در ناحیه لیمبیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تغییرات آناتومیک و فیزیولوژیک همراه با TBI در سیستم لیمبیک، در پیشرفت صرع بدنبال ضربه مغزی شرکت دارد. بنابر این نتیجه گرفته شد آسیب به مغز موجب افزایش ایپی لپتوژنز در سیستم لیمبیک می‌شود (۲).

برخلاف یافته‌های ما Hunt و همکاران بیان نمودند که تروما با مدل FPI سرعت صرعی شدن را در مدل کیندلینگ شیمیایی تغییر نمی‌دهد. به نظر می‌رسد شدت تروما با مدل FPI آنقدر کافی نبود که بتواند در گروه تروما صرع را تسهیل کند (۴).

براساس نتایج بدست آمده از این مطالعه تروما روند اکتساب صرع در مدل صرعی کیندلینگ الکتریکی کلاسیک را تسریع می‌کند. و همینطور باعث افزایش در پارامترهای کیندلینگ مانند امواج متعاقب تخلیه در مرحله ۵ (ADD۵)، در مرحله ۳ (ADD۳)، طول دوره مرحله پنجم تشنج (S&D)



6. Micheal, M., Holsinger, D., Ikeda-Douglas, C., Cammisuli, S., Febintean, T., Desouza, C., Desouza, S., Feteau, T., Racine, R., Milgram, N. (1998). Development of spontaneous seizures over extended electrical kindling. Electrographic, behavioral, and transfer kindling correlates. *Brain Res*, 793, 197-211. PMID: 9630628
7. Nilsson, P., Ronne-Enqstrom, E., Flink, R., Ungerstedt, U., Carlson, H., Hillered, L. (1994). Epileptic seizure activity in the acute phase following cortical impact trauma in rat. *Brain Res*, 637(1-2), 227-232. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91237-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91237-8) PMID: 8180800
8. Paxinos, G., Watson, C. (2007). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Elsevier Academic Press), (5<sup>th</sup> ed.). San Diego, USA. p. 94.
9. Pitkanen, A., Immonen, R. (2014). Epilepsy related to traumatic brain injury. *Neurotherapeutics* 11, 286-296. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0260-7> PMID: 24554454
10. Pitkänen, A., Kemppainen, S., Ndode-Ekane, X. E., Huusko, N., Huttunen, J. K., Grohn, O., Immonen, R., Sierra, A., Bolkvadze, T. (2014). Post-traumatic epilepsy-disease or comorbidity?. *Epilepsy Behav*, 38, 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.01.013> PMID: 24529830
11. Racine, R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 32, 281-294. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0) PMID: 4110397
12. Vezzani, A., Viviani, B. (2014). Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability. *Neuropharmacology* 2014; 96, 70-82. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.10.027> PMID: 25445483

# Survey of Changes Kindling Parameters in the Model of the Classical Electrical Kindling Following Traumatic Brain Injury

Soghra Hesam<sup>1,2</sup>, Mohammad Sayyah<sup>2</sup>, Vahhab Babapour<sup>1</sup>, Morteza Zendehtdel<sup>1</sup>,  
Hamid Gholami Pour Badei<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

(Received 16 November 2018, Accepted 30 January 2019)

## Abstract:

**BACKGROUND:** Traumatic Brain Injury (TBI) is one of the prevalent medical problems. Post Traumatic Epilepsy (PTE) is one of the complications of TBI. Traumatic and ischemic brain injuries are amongst the well-known risk factors of developing PTE

**OBJECTIVES:** The present study tends to figure out changing kindling parameters in the model of the classical electrical epilepsy following traumatic brain injury.

**METHODS:** Male Wistar rats became epileptic using the amygdala kindling model of epilepsy. Rats underwent stereotaxic surgery. Five days thereafter, trauma was exerted to the temporo-parietal cortex of the rats by Controlled Cortical Impact (CCI) device causing a 2 mm lesion. After 24 hours, kindling stimulations were started. Each stimulus is delivered at an intensity of 200-500  $\mu$ A, with 50 Hz frequency with monophasic square wave train stimulations once daily. One control group with no trauma and just kindling stimulation was considered in experimental groups. A sham group was also considered in which animals underwent all procedures including surgery and kindling stimulations without trauma.

**RESULTS:** Mean number of 14 stimulations is needed for kindled state in control and sham groups. Traumatic rats became kindled with a significantly lower number of electrical stimulations (5 stimulations). The after discharge duration (AD) at stage 5, after discharge duration (AD) at stage 3, total duration of seizure behavior (SD) and duration of stage 5 seizure behavior (S5D) in traumatic rats were higher than threshold with control and sham group. The threshold of seizures in traumatic rats was significantly lower than the threshold in control and sham groups.

**CONCLUSIONS:** Classical electric kindling after trauma has a significant effect on the parameters of the kindling.

## Keyword:

Epilepsy, Trauma, Kindling, Rat, Kindling parameters

## Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Coronal section taken at approximately -4mm from bregma at 24 hours after controlled cortical impact (CCI) injury, showing the extent of cortical damage (pale area).

Graph 1. Effect of CCI injury on the mean number of stimulations required to achieve kindled generalized seizures in rats. Data are presented as mean $\pm$ SEM. \*\*\* $P$ <0.001 compared to sham and control group.

Graph 2. Effect of CCI injury on the after discharge duration at stage 5. Data are presented as mean $\pm$ SEM. \*\*\* $P$ <0.001 compared to sham and control group.

Graph 3. Effect of CCI injury on the after discharge duration at stage 3. Data are presented as mean $\pm$ SEM. \*\*\* $P$ <0.001 compared to sham and control group.

Graph 4. Effect of CCI injury on the stage 5 duration. Data are presented as mean $\pm$ SEM. \*\*\* $P$ <0.001 compared to sham and control group.

Graph 5. Effect of CCI injury on the seizure behavior duration. Data are presented as mean $\pm$ SEM. \*\*\* $P$ <0.001 compared to sham and control group.

Graph 6. Effect of CCI injury on the seizure threshold. Data are presented as mean $\pm$ SEM. \*\*\* $P$ <0.001 compared to sham and control group.

