

## Anxiolytic Effect of Lithium Chloride in Model of PTZ-Induced Seizure

Edalatmanesh MA.\* Ph.D, Yazdani M.<sup>1</sup> MSc, Davoodi A<sup>2</sup>. Ph.D, Rafiei S<sup>3</sup>. Ph.D

\*Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

<sup>1</sup>Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

<sup>2</sup>Department of Psychology, College of Humanities, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

<sup>3</sup>Department of Exercise Physiology, Kish International Campus, Tehran University, Kish, Iran.

### Abstract

**Aims:** Epilepsy is a brain disorder characterized by repeated and spontaneous attacks which can lead to neuronal decline or death and behavioral disorders, such as anxiety, and numerous studies have shown neuroprotective effects of the lithium. This study evaluated the anxiolytic effect of administration of lithium chloride (LiCl) in pentylenetetrazole (PTZ) induced seizure rat model.

**Materials & Methods:** In present experimental study, 50 male Wistar rats were divided into 5 groups control, PTZ+Saline, PTZ+Li20, PTZ+Li40 and PTZ+Li80, randomly. To induce convulsions and epilepsy model, repeated doses of PTZ were injected (40 mg/kg, i.p) for 5 consecutive days. After observing the 5 stages of seizures based on Racine's scale, test groups, received lithium chloride in three doses (20, 40 and 80 mg/kg/BW, i.p) for 14 days. In order to assess anxiety and exploratory behaviors, elevated plus maze and open field tests were done. Then, the hippocampal level of BDNF was measured using ELISA. The results were analyzed by ANOVA and Tukey post hoc.

**Findings:** Our finding showed an increased rate of anxiety with low level of hippocampal BDNF in PTZ receiver rats. Treatment with lithium chloride especially at the lowest dose (20 mg/kg) showed a significant difference in reducing anxiety and increasing of BDNF level compared to the PTZ receiver group.

**Conclusion:** Anxiolytic-like effects of lithium may improve the symptoms of anxiety in PTZ-induced seizure.

### Keywords:

PTZ [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/67511996>];

Anxiety [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68001007>];

Lithium Chloride [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=Lithium+Chloride>];

BDNF [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68019208>];

---

\*Corresponding Author

Tel: +98 9396335040

Fax: +987171993-1

Address: Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

amin.edalatmanesh@gmail.com

Received: 28 Oct 2017

Accepted: 2 May 2018

ePublished: May 16, 2018

## اثر ضد اضطرابی لیتیموم کلراید در مدل تشنج القاء شده با پنتیلین تترازول

محمد امین عدالت منش PhD

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

مرضیه یزدانی MSc

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

اعظم داوودی PhD

گروه روان شناسی، دانشکده علوم انسانی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

سمانه رفیعی PhD

گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین المللی کیش، دانشگاه تهران، کیش، ایران.

### چکیده

**اهداف:** صرع نوعی اختلال مغزی است که با حملات خود به خودی و تکرارشونده ظاهر می‌شود و با کاهش یا مرگ نورونی، و بروز اختلالات رفتاری از جمله اضطراب همراه است و مطالعات متعدد به اثرات محافظت‌کنندهٔ عصبی لیتیموم کلراید اشاره دارند. این پژوهش اثر ضد اضطرابی لیتیموم کلراید را در مدل موش‌های صحرایی تشنج ناشی از پنتیلین تترازول (PTZ) مورد بررسی قرار می‌دهد.

**مواد و روش‌ها:** در مطالعه تجربی حاضر، ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۵ گروه کنترل، PTZ+Saline، PTZ+Li20، PTZ+Li40، و PTZ+Li80 تقسیم شدند. جهت القاء تشنج، PTZ با دوز تکرارشوندهٔ ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی (i.p) به مدت ۵ روز متوالی تزریق شد. پس از مشاهدهٔ ۵ مرحله تشنج طبق مقیاس راسین، گروه‌های آزمون، لیتیموم کلراید را در سه دوز (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۱۴ روز به صورت درون صفاقی دریافت کردند. به منظور ارزیابی اضطراب و رفتارهای اکتشافی، آزمون‌های ماز صلیبی مرتفع و محفظهٔ باز انجام شد. سپس، سنجش سطح هیپوکامپی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) با روش الیزا صورت گرفت. نتایج به کمک روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** نتایج افزایش اضطراب با کاهش سطح BDNF هیپوکامپی را در گروه دریافت‌کنندهٔ PTZ نشان داد. از طرفی، تیمار با لیتیموم کلراید به‌ویژه در دوز حداقل (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) اختلاف معنی‌داری در کاهش اضطراب و افزایش سطح BDNF در مقایسه با گروه دریافت‌کنندهٔ PTZ نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** اثرات ضد اضطرابی لیتیموم سبب بهبود نشانه‌های اضطراب در تشنجات ناشی از PTZ می‌گردد.

**کلیدواژه‌ها:** پنتیلین تترازول، اضطراب، لیتیموم کلراید، ماز صلیبی مرتفع، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۱۲

\*نویسنده مسئول: amin.edalatmanesh@gmail.com

### مقدمه

صرع یک اختلال مغزی مشخص است که عمدتاً با وقفه‌های مکرر و غیرقابل‌پیش‌بینی از عملکرد طبیعی مغز، به نام حملات صرعی شناخته می‌شود<sup>[1]</sup>. در حال حاضر تخمین زده می‌شود که صرع بین ۰/۵ تا ۲ درصد از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار داده است<sup>[2]</sup>. بیماری صرع نوعی بیماری است که در اثر کارکرد نادرست در هم‌زمانی و تحریک‌پذیری نورون‌ها رخ می‌دهد<sup>[3]</sup>. گلوتامات و  $\gamma$ -آمینوبوتیریک اسید

(GABA) دو انتقال‌دهندهٔ عصبی هستند که به‌طور گسترده در رابطه با تشنج ناشی از کیندلینگ شیمیایی مورد مطالعه قرار گرفته است. هردو سیستم گلوتاماترژیک (Glutamatergic) و گاباژرژیک (GABAergic) نقش مهمی در پدیدهٔ صرع و تشنج ناشی از آن دارند. این فرضیه ارائه شده است که در پدیده تشنج تحریک‌پذیری بیش‌ازحد عصبی به علت عدم تعادل بین تحریک واسطه گلوتامات و مهار واسطه GABA است<sup>[4]</sup>. مهار اسید  $\gamma$ -آمینوبوتیریک (GABA) یک عامل مهم در پاتوژنز اضطراب است<sup>[5,6]</sup>. پنتیلین تترازول (PTZ) با انسداد گیرنده‌های گابا به‌عنوان یک تشنج‌زا عمل می‌کند و با القاء مدل صرع لیمبیک سبب بروز علائم اضطرابی می‌شود<sup>[7]</sup>.

لیتیموم کاتیونی تک‌طرفیتی است که با داشتن خاصیت نوروتروفیک باعث کند کردن پیشرفت آتروفی عصبی شده و در نتیجه از مرگ سلول‌های عصبی جلوگیری می‌کند<sup>[8,9]</sup>.

لیتیموم قادر است اختلالات رفتاری و شناختی را در مدل حیوانی بیماری‌های نورودژنراتیو مانند صدمات مغزی، Amiolateral Sclerosis ALS، سندرم X شکننده، بیماری هانتینگتون، آلزایمر و پارکینسون بهبود بخشد<sup>[10,11]</sup>. مطالعات نشان داده است که لیتیموم فسفوریلاسیون پروتئین Tau را از طریق مهار مکانیسم بیان BDNF: Brain Derived Neurotrophic factor افزایش یافته و سبب افزایش بقای سلول‌ها می‌گردد. درمان با لیتیموم در بیماران آلزایمری سبب افزایش قابل‌توجهی در سطح BDNF می‌گردد<sup>[10-13]</sup>. کاهش سطح بیان BDNF در بروز رفتارهای شبه اضطرابی در مدل استرس بی‌حرکتی دیده شده است<sup>[14]</sup>. به نظر می‌رسد BDNF هیپوکامپی در پاتوژنز اضطراب نقش قابل‌توجهی داشته باشد و افزایش بیان BDNF هیپوکامپی و نورون‌ها متعاقب آن علائم اضطرابی ناشی از تجویز کورتیکوسترون را در موش‌های صحرایی کاهش داده است<sup>[15]</sup>.

لیتیموم نه‌تنها به‌عنوان یک تعدیل‌کننده خلق مطرح می‌شود بلکه اثرات ضدافسردگی<sup>[16]</sup> و ضد اضطرابی<sup>[17]</sup> نیز دارد. هرچند، مکانیسم آن هنوز روشن نشده است و همانند اثرات لیتیموم در انسان‌ها، اثر لیتیموم بر عملکردهای شناختی در جوندگان مبهم و دوپهلوسست و گزارشاتی مبنی بر عدم دستیابی به قطعیت لازم در ارتباط با تأثیر حفاظت‌کننده عصبی نیز وجود دارد<sup>[18]</sup>. در مطالعات قبلی نشان داده است که لیتیموم ترس شرطی شده ناشی از Mirtazapine را در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد و اثرات ضد اضطرابی داشته است<sup>[16]</sup>. هرچند، محققین روسی عنوان داشته‌اند که تجویز مزمن لیتیموم نمی‌تواند اثر پیشگیری‌کننده بر رفتار خشونت‌آمیز و اضطرابی جوندگان داشته باشد باین‌حال، تیمار درمانی آن تا حدودی مؤثر بوده است<sup>[19]</sup>. اثر لیتیموم بر ترس و اضطراب در بسیاری از آزمون‌های بررسی‌شده در مدل‌های حیوانی دچار تناقض است. به‌عنوان مثال در مدل انجماد حرکتی شرطی شده برای ارزیابی ترس، مدت زمان بی‌حرکتی در پاسخ به شوک الکتریکی محاسبه می‌شود، لیتیموم می‌تواند این مدت را افزایش یا کاهش دهد و یا

سنجش رفتار شبه اضطرابی در جوندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد<sup>[24]</sup>. ماز شامل چهار بازو (دو بازوی باز بدون دیواره و دو بازوی احاطه‌شده توسط دیوار) به طول ۳۵ سانتی‌متر و عرض ۱۵ سانتی‌متر می‌باشد که ۴۵ سانتی‌متر بالاتر از سطح زمین بود<sup>[24]</sup>. حیوان در مرکز دستگاه قرار گرفت و رفتار آن به کمک دوربین و سیستم ردیاب به مدت ۳۰۰ ثانیه بررسی شد. در این آزمون، میانگین مدت‌زمان قرارگرفتن بازوی بسته در گروه‌های مختلف ثبت شد. علاوه بر این، میانگین مدت‌زمان باقی ماندن در بازوی باز و تعداد سرک کشیدن به بازوی باز به‌عنوان یکی از رفتارهای ریسک‌پذیر موردبررسی قرار گرفت (نتایج آورده نشده است). برای ارزیابی رفتار حرکتی تعداد کل ورود به بازوها در همه گروه‌ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. جوندگان به‌طورمعمول تمایل به‌قرارگرفتن در بازوی بسته را دارند و حیوانات دارای اضطراب مدت‌زمان بیشتری را در بازوی بسته می‌مانند. به‌منظور بررسی اثرات لیتیموم کلراید بر رفتارهای اضطرابی، شاخص‌های اضطراب در این آزمون در گروه شم و کنترل با گروه‌های دریافت‌کننده لیتیموم کلراید مقایسه شد.

**آزمون محافظه‌باز:** برای بررسی رفتارهای اکتشافی، جستجوگری و اضطراب، آزمون محافظه‌باز مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌طور خلاصه، حیوان در یک جعبه به ابعاد ۱۹×۳۳×۵۸ سانتی‌متر (به ترتیب: طول، عرض، ارتفاع) قرار گرفت. سپس رفتار حیوان به کمک دوربین و سیستم ردیاب در دو بازه زمانی ۳۰۰ ثانیه‌ای ثبت شد<sup>[25]</sup>. تعداد مربع‌های کناری و مرکزی پیموده شده، تعداد دفعات بلند شدن از دیواره ماز و میزان دفع حیوان در همه گروه‌ها ثبت شد. **سنجش سطح هیپوکامپی BDNF:** پس از پایان آزمون‌های رفتاری حیوانات با دوز کشنده کلروفورم بی‌هوش شدند. بلافاصله سر حیوان جدا گردید و مغز به‌طور کامل از جمجمه خارج شد و بر روی یخ قرار گرفت. هیپوکامپ موش‌های صحرایی با دقت در زیر استریوسکوپ از بقیه قسمت‌های مغز جدا شد. پس از شستشو با محلول سالین به همراه بافر تریس (Sigma-Aldrich, Germany) به مدت ۵ دقیقه با دستگاه هموژنایزر (IKA, Germany) با ۵۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه شده توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار (Hermle, Germany) سانتریفوژ شد. جهت جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تمامی مراحل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام شد و از محلول ۰/۵ میلی‌مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید (Sigma-Aldrich, Germany) به‌عنوان مهارکننده پروتئازها استفاده شد<sup>[26]</sup>.

**تحلیل آماری:** تجزیه و تحلیل آماری بین گروه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS ویرایش ۲۲ انجام شد. به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های اضطرابی و رفتاری موردبررسی بین گروه‌های موردنظر از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. از نظر آماری مقادیر  $p < 0.05$

هیچ اثری نداشته باشد<sup>[20]</sup>.

لذا با توجه به مطالب متناقض متعدد در خصوص اثر ضد اضطرابی لیتیموم، این مقاله به بررسی میزان رفتارهای شبه اضطرابی به دنبال تشنجات مکرر القاء شده با PTZ پرداخته است. از طرف دیگر، نقش احتمالی لیتیموم کلراید در کنترل اضطراب و ارتباط آن با میزان BDNF هیپوکامپی در مدل تشنج مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر از ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ داوولی (با محدوده وزنی ۲۰±۲۰ گرم) استفاده شد. در طول مدت مطالعه، حیوانات در شرایط استاندارد دمایی (۲۵±۲) درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی (۵۰±۵ درصد) و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (۶ صبح تا ۶ عصر) نگهداری شدند. کلیه مراحل کار با حیوانات، طبق قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی و با نظارت کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز (شماره مجوز: ۸۳۲۴-۲۰۳۴-۹۵) انجام شد. این تحقیق در بازه زمانی خردادماه تا شهریورماه ۱۳۹۵ انجام شده است. حیوانات به‌طور تصادفی به ۵ گروه (تعداد ۱۰ موش صحرایی در هر گروه) کنترل، شم (PTZ+Saline)، سه گروه آزمایش (PTZ+Li20، PTZ+Li40 و PTZ+Li80) به شرح زیر تقسیم شدند: گروه کنترل بدون تیمار و به‌منظور بررسی و مقایسه آنالیزهای رفتاری با سایر گروه‌ها استفاده شد. گروه PTZ+Saline، پس از ثبت مراحل پنج‌گانه تشنج به دنبال دریافت پنتیلن تترازول، نرمال سالین را به‌عنوان حلال لیتیموم دریافت کرده و به مدت ۱۴ روز دریافت نمودند. از این گروه برای بررسی اثرات PTZ بر میزان اضطراب استفاده شد. سه گروه تیمار محلول لیتیموم کلراید (Sigma-Aldrich, USA) را به‌صورت درون صفاقی به ترتیب با دوزهای ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به مدت ۱۴ روز و یک‌بار در روز دریافت کردند. به‌منظور القاء تشنج از PTZ (Sigma-Aldrich, USA) استفاده شد. PTZ با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در ۵ روز متوالی به‌صورت درون صفاقی تزریق شد (حیوانات قبل از هر بار تزریق وزن شدند).

۳۰ دقیقه بعد از هر تزریق PTZ موش‌های صحرایی برای رفتار تشنج بررسی شدند. تشنج با استفاده از مقیاس راسین به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت: مرحله ۰: عدم پاسخ، مرحله ۱: بیش‌فعالی، لرزش، کشش، مرحله ۲: تکان سر، تشنج عضلانی سر و پرش میوکلونیک، مرحله ۳: تشنج عضلانی یک‌طرفه عضو جلو، مرحله ۴: گسترش تشنجات با تشنج عضلانی دوجانبه عضو جلو، مرحله ۵: تشنج کلونیک تونیک عمومی، با از دست دادن رفلکس کشیدگی بدن<sup>[21-23]</sup>.

## آزمون‌های رفتاری

آزمون ماز صلیبی مرتفع: ماز صلیبی مرتفع برای

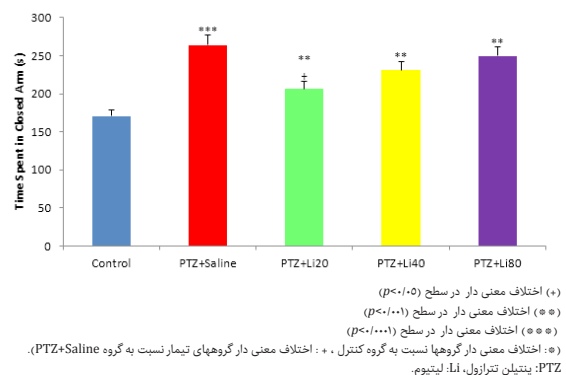
معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

آزمون ماز صلیبی مرتفع: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میانگین مدت‌زمان ماندن در بازوی بسته در گروه PTZ+Saline اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نشان دادند (نمودار ۱).  $p < 0.0001$ . از طرف دیگر، در هر سه گروه تیمار با لیتیموم کلراید اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۱).  $p < 0.001$  در هر سه گروه). مقایسه گروه‌های تیمار با لیتیموم کلراید با گروه PTZ+Saline نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه PTZ+Li20 و گروه PTZ+Saline می‌باشد (نمودار ۱).  $p < 0.05$ .

بین سایر گروه‌های تیمار با لیتیموم کلراید و گروه PTZ+Saline اختلاف معنی‌داری دیده نشد. این نتایج نشان داد که تیمار با لیتیموم در گروه‌های دریافت‌کننده PTZ تنها در دوز حداقل (PTZ+Li20) توانسته است میزان اضطراب را کاهش دهد.

در میانگین تعداد دفعات ورود به کل بازوها (شاخص رفتار حرکتی) اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف دیده نشد. به‌گونه‌ای که بین گروه کنترل ( $0.77 \pm 0.83$ ) و گروه PTZ+Saline ( $0.88 \pm 0.78$ ) و نیز بین گروه PTZ+Saline با هیچ‌یک از گروه‌های دریافت‌کننده لیتیموم (PTZ+Li20:  $0.88 \pm 0.55$ ; PTZ+Li40:  $0.83 \pm 0.77$ ; PTZ+Li80:  $0.51 \pm 0.11$ ) اختلاف معنی‌داری دیده نشد. این امر نشان می‌دهد که تیمار با لیتیموم و تشنج‌القاء شده با PTZ تأثیر بر فعالیت حرکتی حیوانات نداشته است.



نمودار ۱) میانگین  $\pm$  انحراف معیار مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته ماز صلیبی مرتفع در گروه‌های مختلف

لیتیوم کلراید اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). به ترتیب  $p < 0.05$  و  $p < 0.001$ . از طرفی، نتایج حاصل نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه PTZ+Saline با گروه PTZ+Li20 می‌باشد ( $p < 0.0001$ ). همچنین، بین گروه‌های PTZ+Li40 و PTZ+Li80 با گروه PTZ+Li20 اختلاف معنی‌داری دیده شد (جدول ۱).  $p < 0.001$ . در واقع، نتایج نشان داد که تیمار با لیتیموم در دوز حداقل سبب کاهش سطح اضطراب به دنبال تشنج‌القاء شده با PTZ شده است.

شاخص تعداد دفعات ورود به مربع‌های مرکزی: نتایج میانگین تعداد دفعات ورود به مربع‌های مرکزی در آزمون محفظه باز، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و PTZ+Saline است (جدول ۱).  $p < 0.0001$ . این اختلاف نشان‌دهنده کاهش رفتارهای جستجوگری و افزایش سطح اضطراب در گروه دریافت‌کننده PTZ نسبت به گروه کنترل می‌باشد. این بررسی همچنین، اختلاف معنی‌داری را بین گروه کنترل و گروه PTZ+Li80 نشان داد (جدول ۱).  $p < 0.01$ . از طرفی بین گروه PTZ+Saline و گروه‌های تیمار با لیتیموم یعنی گروه‌های PTZ+Li20، PTZ+Li40 و PTZ+Li80 اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (نمودار ۳). به ترتیب  $p < 0.0001$ ،  $p < 0.001$  و  $p < 0.05$  که این تفاوت نشان‌دهنده افزایش رفتارهای جستجوگری در گروه‌های دریافت‌کننده لیتیموم کلراید خصوصاً در دوز حداقل نسبت به گروه PTZ+Saline می‌باشد. بین گروه PTZ+Li20 با گروه PTZ+Li80 در سطح  $p < 0.001$  اختلاف معنی‌دار دیده شد.

شاخص بالا رفتن از دیواره: نتایج حاصل نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل با گروه PTZ+Saline می‌باشد ( $p < 0.001$ ). همچنین، بین گروه کنترل و گروه‌های PTZ+Li40 و PTZ+Li80 اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱).  $p < 0.001$ . نتایج این بررسی، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه PTZ+Saline با گروه PTZ+Li20 می‌باشد ( $p < 0.001$ ). همچنین، بین گروه‌های PTZ+Li40 و PTZ+Li80 با گروه PTZ+Li20 اختلاف معنی‌داری دیده شد (جدول ۱).  $p < 0.001$ . کاهش میزان رفتارهای جستجوگری در گروه دریافت‌کننده PTZ دیده شد و تیمار با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش‌های صحرایی میزان رفتارهای جستجوگری را به‌طور معنی‌داری افزایش داد.

شاخص دفع: تعداد دفعات دفع به‌عنوان شاخصی برای سنجش میزان اضطراب بین گروه کنترل و گروه PTZ+Saline مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه نشان داد (نمودار ۵).  $p < 0.0001$  که این اختلاف نشان‌دهنده افزایش سطح اضطراب در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده پنتیلین تترازول نسبت به گروه کنترل می‌باشد. همچنین بین گروه کنترل و گروه‌های PTZ+Li40 و PTZ+Li80 اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.01$ ). همچنین، بین گروه PTZ+Saline و گروه‌های PTZ+Li20 و PTZ+Li40

آزمون محفظه باز: شاخص مربع‌های کناری پیموده شده: نتایج اختلاف معنی‌داری را بین گروه کنترل با گروه PTZ+Saline نشان داد (جدول ۱).  $p < 0.0001$  که این اختلاف بیانگر افزایش اضطراب در گروه دریافت‌کننده پنتیلین تترازول در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. همچنین، بین گروه کنترل و گروه‌های تیمار با دوزهای ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم

حیوانی متنوع از تشنج گزارش شده است. به طور معمول برای ایجاد صرع و تشنج با استفاده از کیندلینگ، صرع موضعی و یا آسیب تروماتیک مغزی استفاده می‌شود که با اختلالات رفتاری، از جمله افزایش اضطراب و افسردگی [27-30] و نواقص شناختی همراه است [31-33]. تحقیق حاضر نشان داد که در پی القاء تشنج حاد در یک بازه زمانی ۵ روزه با استفاده از دوزهای مکرر PTZ، اختلالات اضطرابی در طول مدت دوره های بین تشنج قابل مشاهده می‌باشد.

یکی از معتبرترین آزمون های سنجش میزان اضطراب در جوندگان، آزمون ماز صلیبی مرتفع است که بر اساس مدت زمان باقی ماندن حیوان در یک محیط تاریک و قابل اطمینان می‌توان سطح اضطراب را اندازه گیری نمود [34]. همچنین، به منظور سنجش و مقایسه رفتارهای جستجوگری و میزان فعالیت حرکتی، می‌توان از آزمون محفظه باز استفاده کرد. شاخص های سنجش اضطراب مانند میزان دفع حیوان، رفتارهای جستجوگری مانند حرکت در اطراف و مرکز ماز و مدت زمان تحرک و بی‌حرکتی حیوان طی این آزمون ارزیابی می‌گردد [35].

کاهش در تعداد مربع های مرکزی پیموده شده در محفظه ی باز به همراه کوتاه شدن زمانی باقی ماندن حیوان در بازوی باز و همچنین افزایش در تعداد دفعات ورود به بازوی بسته ماز صلیبی مرتفع در گروه دریافت کننده PTZ ممکن است به دلیل افزایش اضطراب در این حیوانات باشد [36]. در مطالعه‌ای که زاراگا-گالیندو انجام داده تشدید اضطراب در حیوانات به دنبال تجویز PTZ نشان داده شده است [37]. تجویز PTZ در موش های صحرایی نژاد ویستار، با کاهش مربع های پیموده شده در آزمون محفظه ی باز، کاهش در بلند شدن از دیواره و افزایش در تعداد دفعات دفع همراه بوده است [38]. در موش های صحرایی با افزایش اضطراب میزان دفع افزایش می‌یابد و رفتارهای جستجوگری به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد [35].

اثر لیتیموم بر ترس و رفتارهای اضطرابی در بسیاری از مطالعات با تناقضاتی رو به روست، لیتیموم می‌تواند مدت زمان بی‌حرکتی در پاسخ به شوک‌های الکتریکی را به عنوان یک رفتار اضطرابی افزایش یا کاهش دهد و یا هیچ اثری نداشته باشد [18]. در مطالعه‌ای که به بررسی اثرات ضد اضطرابی لیتیموم بر مدل موش سندرم X شکننده پرداخته شد، دیده شده است که لیتیموم به صورت مقطعی توانسته است سطح عمومی اضطراب را طی آزمون ماز صلیبی مرتفع کاهش دهد و بیش فعالی را نیز تعدیل نماید [39]. یان و همکارانش نشان دادند که لیتیموم کلراید می‌تواند سبب کاهش میزان اضطراب گردد. از طرف دیگر، لیتیموم سطح فعالیت‌های لوکومتور و بیش فعالی را که به ترتیب در آزمون‌های محفظه باز و ماز صلیبی مرتفع در موش‌های صحرایی مدل ایسکمی مغزی گلوبال دیده شده است، کاهش دهد [40]. بر اساس پژوهش چن و همکاران

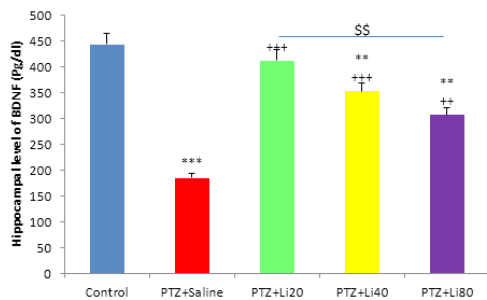
اختلاف معنی‌داری دیده شد (جدول ۱). به ترتیب:  $p < 0.0001$  و  $p < 0.001$ . از این تفاوت می‌توان نتیجه گرفت که تیمار با لیتیموم کلراید توانسته است سطح اضطراب را کاهش دهد. از طرفی، بین گروه‌های PTZ+Li40 و PTZ+Li80 با گروه PTZ+Li20 اختلاف معنی‌داری دیده شد (جدول ۱).  $p < 0.01$ .

جدول ۱) میانگین تعداد مربعات پیموده شده، شاخص بالا رفتن از دیواره و دفع طی آزمون محفظه باز در گروه‌های مختلف

گروه / پارامتر (n=10)	مربع های کناری	مربع های مرکزی	بالا رفتن از دیواره	دفع
کنترل	53/8±9/34	4/0±0/66	18/0±6/28	0/8±0/06
PTZ+Salin	28/8±2/61 <sup>a</sup>	0/5±0/01 <sup>a</sup>	40/7±2/21 <sup>a</sup>	40/6±1/42 <sup>a</sup>
PTZ+Li20	42/4±7/07 <sup>b</sup>	3/6±1/41 <sup>b</sup>	170/0±3/26 <sup>b</sup>	10/0±0/40 <sup>b</sup>
PTZ+Li40	26/4±5/10 <sup>bc</sup>	0/6±0/67 <sup>b</sup>	6/8±2/88 <sup>bc</sup>	2/4±0/70 <sup>abc</sup>
PTZ+Li80	20/0±2/58 <sup>bc</sup>	1/4±0/51 <sup>abc</sup>	6/3±1/51 <sup>bc</sup>	3/2±0/92 <sup>bc</sup>

داده ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده است. a:  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل، b:  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه PTZ+Saline، c:  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه PTZ+Li20. پنتیلن تترازول، Li: لیتیموم.

سنجش سطح هیپوکامپی BDNF: تشنجات القاء شده با PTZ سطح هیپوکامپی BDNF را در مقایسه با گروه کنترل به شدت کاهش داد. به گونه ای که میزان BDNF در عصاره هیپوکامپ گروه PTZ+Saline بسیار کمتر از گروه کنترل می‌باشد (نمودار ۲).  $p < 0.0001$ . این در حالی است که تیمار با لیتیموم کلراید سبب افزایش قابل توجهی در سطح هیپوکامپی BDNF در گروه های آزمون نسبت به گروه PTZ+Saline گردید. بدین ترتیب که بین گروه های PTZ+Li20، PTZ+Li40 و PTZ+Li80 با گروه TMT+Saline اختلاف معنی داری دیده می‌شود (به ترتیب:  $p < 0.0001$  و  $p < 0.001$ ). بین گروه های PTZ+Li80 با گروه PTZ+Li20 نیز اختلاف معنی دار بود ( $p < 0.01$ ).



نمودار ۲) میانگین ± انحراف معیار سطح هیپوکامپی BDNF در گروه های مختلف (SS یا ++ یا \$\$\$ اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0.001$ ) (SS یا +++ اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0.0001$ ) (S یا +++ اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0.0001$ ). اختلاف معنی دار بین گروه های تیمار با لیتیموم نسبت به گروه PTZ+Saline، S: اختلاف معنی دار بین گروه های تیمار با لیتیموم کلراید، PTZ: پنتیلن تترازول، Li: لیتیموم.

نمودار ۲) میانگین ± انحراف معیار سطح هیپوکامپی BDNF در گروه های مختلف

## بحث

منطبق با شواهد بالینی که نشان می‌دهند تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول با بروز اختلالات مختلف در مغز مواجه هستند. اختلالات شناختی و رفتاری برای مدل‌های

توانسته است سطح BDNF را به شکل معنی‌داری در گروه‌های تحت تیمار افزایش دهد که نشان‌دهنده اثرات بهبود بخش و حمایت‌کننده عصبی این عنصر می‌باشد. همچنین، همانند مطالعات رفتاری، دوز حداقل (۲۰ میلی‌گرم) لیتيوم بیشترین افزایش سطح BDNF را در هیپوکامپ موش‌های صحرایی نشان داده است که تأییدی بر مشاهدات رفتاری صورت گرفته می‌باشد. تجویز لیتيوم سبب افزایش بیان BDNF در مغز جوندگان به‌ویژه در سیستم لیمبیک و قشر فرونتال می‌گردد و همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که اثرات نوروتروفیک لیتيوم در نورون‌های قشری نیازمند بیان BDNF می‌باشد<sup>[43]</sup>. لذا، از آنجایی که تشنج سبب کاهش محتوای BDNF در مغز می‌گردد و بیان گیرنده‌های BDNF و نیز مسیر سیگنالینگ آن در پی تجویز مکرر پنتیلن‌تترازول کاهش می‌یابد<sup>[44]</sup>، تجویز درازمدت لیتيوم می‌تواند با مکانیزمی جبرانی، جلوی کاهش سطح BDNF را بگیرد و از این‌رو موش‌های صحرایی را از حوادث نورودژنراسیونی ناشی از تشنج و القاء اثرات رفتاری متعاقب آن نظیر آنچه در مطالعه حاضر دیده شده است مصون نگه دارد. همچنین دیده شده است که لیتيوم می‌تواند سطح افسردگی را در مدل حیوانی مسمومیت تری‌متیل‌تینی با افزایش بیان BDNF کاهش دهد<sup>[45]</sup>. در اختلال مادرزادی سندرم X شکننده سطح بالایی از اضطراب و نیز بیش‌فعالی دیده شده است. مطالعات نشان داده‌اند که مهارکننده 3-GSK نظیر لیتيوم سبب مهار این رفتارها می‌شود که این امر نشان‌دهنده دخالت 3-GSK در پاتوژنز سندرم X شکننده است. 3-GSK و در واقع مهار آن با واسطه لیتيوم می‌تواند راهکار درمانی مناسبی برای تعدیلات رفتاری در این قبیل حیوانات گردد<sup>[46]</sup>.

مشاهدات رفتاری تابع تغییرات مختلف محیطی می‌تواند نتایج متفاوتی به دست دهد. لذا نیاز به تکرار آزمایش‌های متعدد در بازه‌های زمانی مختلف و تأیید آن‌ها با آزمون‌های متفاوت رفتاری دارد. از آنجایی که تیمار با لیتيوم کلراید سبب تغییر بیان ژن BDNF و گیرنده آن TrkB در هیپوکامپ می‌گردد، مطالعات بعدی می‌تواند به بررسی بیان گیرنده‌های BDNF و نیز رفتارهای شبه افسردگی در این مدل بپردازد.

### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تجویز تکرارشونده پنتیلن‌تترازول سبب بروز اضطراب در موش‌های صحرایی می‌گردد. این‌گونه به نظر می‌رسد که لیتيوم در دوزهای پایین اثرات مثبت و بهتری از خود نشان می‌دهد و می‌تواند در بهبود اضطراب و رفتارهای اکتشافی نقش داشته باشد. هرچند، با توجه به اینکه همچنان مکانیسم تأثیر لیتيوم با ابهاماتی روبه‌روست، بررسی‌های بیشتر در مورد مکانیسم تأثیر آن بر اختلالات اضطرابی لازم به نظر می‌رسد.

لیتيوم رفتارهای موش آسیب دیده با Fmr1 را در آزمون محفظه باز و ماز صلیبی مرتفع بهبود بخشید. این اثر می‌تواند به اثر تقویتی لیتيوم بر بیان GSK3 $\beta$  مربوط شود و از این رو ممکن است لیتيوم اثر درمانی در سندرم X شکننده نیز داشته باشد<sup>[38]</sup>. هرچند، لیتيوم در دوزهای بالا ممکن است سبب ایجاد مسمومیت گردد. با این حال به کارگیری آن در دوزهای بسیار بالا (تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در موش‌های صحرایی نه تنها اثرات سمی نشان نداده است بلکه سبب بهبود افسردگی، اضطراب و عملکردهای شناختی نیز شده است<sup>[17]</sup>. در این پژوهش هیچ نشانه‌ای مبنی بر سمیت یا عدم تحرک حیوان به دنبال تجویز لیتيوم (حتی در دوز ۸ میلی‌گرم) دیده نشد.

در تحقیق حاضر، افزایش مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته در ماز صلیبی مرتفع، کاهش در تعداد مربع‌های کناری پیموده شده و افزایش تعداد دفعات دفع در گروه دریافت کننده PTZ نسبت به گروه کنترل نشانه‌هایی از افزایش اضطراب در پی تجویز پنتیلن‌تترازول در این گروه می‌باشد؛ همچنین کاهش در تعداد مربع‌های مرکزی پیموده شده و تعداد دفعات بلند شدن از دیواره در گروه شم نسبت به گروه کنترل نشانه‌ای از کاهش رفتارهای جستجوگری در گروه دریافت کننده پنتیلن‌تترازول نسبت به گروه کنترل می‌باشد. کاهش مدت زمان ماندن در بازوی بسته در گروه‌های دریافت کننده لیتيوم کلراید در دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن حیوان نسبت به گروه دریافت کننده پنتیلن‌تترازول می‌تواند نشانه‌ای از کاهش رفتارهای شبه اضطرابی در گروه‌های تیمار با دوزهای پایین‌تر لیتيوم کلراید باشد. نتایج آزمون محفظه باز افزایش در تعداد مربع‌های کناری پیموده شده و کاهش در میزان دفع در گروه دریافت کننده لیتيوم کلراید با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن حیوان نسبت به گروه دریافت کننده پنتیلن‌تترازول را نشان می‌دهد که تأییدی بر اثر ضد اضطرابی لیتيوم کلراید در دوز پایین می‌باشد؛ همچنین در همین دوز افزایش در مربع‌های پیموده شده ی مرکزی و دفعات بلند شدن از دیواره نشانه‌ای از افزایش رفتارهای جستجوگری نسبت به گروه شم می‌باشد. به طور کلی می‌توان گفت پنتیلن‌تترازول سبب بروز اختلال رفتاری اضطراب در مدل حیوانی تشنج می‌شود و تیمار با لیتيوم کلراید می‌تواند میزان اضطراب را در این مدل کاهش دهد. محققین دیگر نیز نشان دادند که کیندلینگ ناشی از PTZ سبب بروز علائم اضطرابی می‌گردد<sup>[42,41]</sup>. همچنین اثر ضد اضطرابی لیتيوم در مطالعات قبلی نیز دیده شده است<sup>[16,17]</sup>.

مطالعه حاضر نشان داد که در پی تشنجات ناشی از PTZ سطح BDNF در هیپوکامپ موش‌های صحرایی کاهش می‌یابد. این امر سبب القاء آسیب‌های رفتاری از جمله اضطراب نیز می‌گردد. از طرف دیگر، تجویز لیتيوم کلراید

Commun. 2018;495(4):2525-2531.

- 10- Quiroz JA, Machado-Vieira R, Zarate CAJR, Manji HK. Novel insights into lithium's mechanism of action: neurotrophic and neuroprotective effects. *Neuropsychobiology*. 2010;62(1):50-60.
- 11- Chiu CT, Chuang DM. Neuroprotective action of lithium in disorders of the central nervous system. *Zhong Nan Da Xue Bao Yi Xue Ban*. 2011;36(6):461-76.
- 12- Su H, Zhang W, Guo J, Guo A, Yuan Q, Wu W. Lithium enhances the neuronal differentiation of neural progenitor cells in Vitro and after transplantation in to the avulsed ventral horn of adult rats through the secretion of brain-derived neurotrophic factor. *Journal of neurochemistry*. *J Neurochem*. 2009;108(6):1385-98.
- 13- Wada A. Lithium and neuropsychiatric therapeutics: neuroplasticity via glycogen synthase kinase-3 $\beta$ ,  $\beta$ -catenin, and neurotrophin cascades. *J Pharmacol Sci*. 2009;110(1):14-28.
- 14- Lapmanee S, Charoenphandhu J, Teerapornpantakit J, Krishnamra N, Charoenphandhu N. Agomelatine, venlafaxine, and running exercise effectively prevent anxiety- and depression-like behaviors and memory impairment in restraint stressed rats. *PLoS One*. 2017;12(11):0187671.
- 15- Mendez-David I, Guilloux JP, Papp M, Tritschler L, Mocaer E, Gardier AM, et al. S 47445 produces antidepressant- and anxiolytic-like effects through neurogenesis dependent and independent mechanisms. *Front Pharmacol*. 2017;8:462.
- 16- An Y, Inoue T, Kitaichi Y, Chen C, Nakagawa S, Wang C, et al. Combined treatment with subchronic lithium and acute intracerebral mirtazapine microinjection into the median raphe nucleus exerted an anxiolytic-like effect synergistically. *Eur J Pharmacol*. 2016;783:112-6.
- 17- Motaghinejad M, Seyedjavadein Z, Motevalian M, Asadi M. The neuroprotective effect of lithium against high dose methylphenidate: possible role of BDNF. *Neurotoxicology*. 2016;56:40-54.
- 18- Nikoui V, Javadi-Paydar M, Salehi M, Behestani S, Dehpour AR. Protective effects of lithium on sumatriptan-induced memory impairment in mice. *Acta Med Iran*. 2016;54(4):226-32.
- 19- Smagin DA, Kudryavtseva NN. Anxiogenic and anxiolytic effects of lithium chloride under preventive and therapeutic treatments of male mice with repeated experience of aggression. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 2014;64(6):646-59.
- 20- Youngs RM, Chu MS, Meloni EG, Naydenov A, Carlezon WA, Jr Konradi C. Lithium administration to preadolescent rats causes long-lasting increases in anxiety-like behavior and has molecular consequences. *J Neurosci*. 2006;26:6031-9.
- 21- Roohbakhsh A, Esmaeili H, Asami Z, Arab

تشکر و قدردانی: از زحمات مدیریت پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی شیراز در اعطای تسهیلات لازم جهت اجرای این پروژه صمیمانه قدردانی می شود.

تأییدیه اخلاقی: مطابق مجوز شماره ۸۳۲۴-۲۰۳۴-۹۵ و بر اساس قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی ملاحظات اخلاقی با نظارت کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز رعایت گردید.

تعارض منافع: هیچگونه تعارض منافی توسط نویسنده بیان نشده است.

سهم نویسندگان: محمد امین عدالت منش (نویسنده اول) ۲۵٪؛ مرضیه یزدانی (نویسنده دوم) ۲۵٪؛ اعظم داوودی (نویسنده سوم) ۲۵٪؛ سمانه رفیعی (نویسنده چهارم) ۲۵٪. منابع مالی: بخشی از منابع مالی این پروژه توسط معاونت پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی شیراز و در قالب پژوهانه تأمین شده است.

#### منابع

- Sharma B, Verma A, Prajapati S, Sharma UK. Synthetic methods, chemistry, and the anticonvulsant activity of thiadiazoles. *International Journal of Medicinal Chemistry*. 2013;348948-54.
- Naseer MI, Shupeng L, Kim MO. Maternal epileptic seizure induced by Pentylentetrazol: apoptotic neurodegeneration and decreased GABAB1 receptor expression in prenatal rat brain. *Molecular Brain*. 2009;2:20:660-701.
- Zamponi GW, Lory P, Perez-Reyes E. Role of voltage-gated calcium channels in epilepsy. *Pflugers Arch*. 2010;460(2):395-403.
- Hui Yin Y, Ahmad N, Makmor-Bakry M. Pathogenesis of epilepsy: challenges in animal models. *Iran J Basic Med Sci*. 2013;16(11):1119-32.
- Mula M, Pini S, Cassano GB. The role of anticonvulsant drugs in anxiety disorders: a critical review of the evidence. *J Clin Psychopharmacol*. 2007;27:263-72.
- Neumeister A, Bain E, Nugent AC, Carson RE, Bonne O, Luckenbaugh DA, et al. Reduced serotonin type 1A receptor binding in panic disorder. *J Neurosci*. 2004;24:589-91.
- Jung ME, Lal H, Gatch MB. The discriminative stimulus effects of pentylentetrazol as a model of anxiety: recent developments. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002;26:429-39.
- Lei P, Ayton S, Bush AI, Adlard PA. GSK-3 in neurodegenerative diseases. *Int J Alzheimers Dis*. 2011;2011:189246.
- Tong M, He Z, Lin X, Zhou Y, Wang Q, Zheng Z, Chen J, Xu H, Tian N. Lithium chloride contributes to blood-spinal cord barrier integrity and functional recovery from spinal cord injury by stimulating autophagic flux. *Biochem Biophys Res*

- 34- Kastenberger I, Lutsch C, Herzog H, Schwarzer C. Influence of sex genetic background on anxiety-related and stress-induced behavior of prodynorphin deficient mice. *PLoS One*. 2012;7(3):e34251.
- 35- Leach G, Adidharma W, Yan L. Depression-like responses induced by daytime light deficiency in the diurnal grass rat (*arvicanthus niloticus*). *Plos One*. 2013;8(2):e57115.
- 36- Godlevsky LS, Muratova TN, Kresyun NV, Van Luijteleaer G, Coenen AM. Anxiolytic and antidepressive effects of electric stimulation of the paleocerebellar cortex in pentylenetetrazol kindled rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2014;74(4):456-64.
- 37- Zarraga-Galindo N, Vergara-Aragon P, Rosales-Melendez S, Ibarra-Guerrero P, Dominguez-Marrufo LE, Oviedo-Garcia RE, et al. Effects of bee products on pentylenetetrazole-induced seizures in the rat. *Proc West Pharmacol Soc*. 2011; 54:33-40.
- 38- Liu ZH, Chuang DM, Smith CB. Lithium ameliorates phenotypic deficits in a mouse model of fragile X syndrome. *Int Neuropsychopharmacol*. 2011;14(5):618-30.
- 39- Yan XB, Wang SS, Hou HL, Ji R, Zhou JN. Lithium regulates hippocampal neurogenesis by erk pathway and facilitates recovery of spatial learning and memory in rats after transient global cerebral ischemia. *Neuropharmacology*. 2007;53:487-95.
- 40- Chen X, Sun W, Pan Y, Yang Q, Cao K, Zhang J, et al. Lithium ameliorates open-field and elevated plus maze behaviors, and brain phospho-glycogen synthase kinase 3-beta expression in fragile X syndrome model mice. *Neurosciences (Riyadh)*. 2013;18(4):356-62.
- 41- Hoeller AA, De Carvalho CR, Franco PLC, Formolo DA, Imthou AK, Dos Santos HR, et al. Behavioral and neurochemical consequences of pentylenetetrazol-induced kindling in young and middle-aged rats. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2017;10(3). pii: E75.
- 42- Kordi Jaz E, Moghimi A, Fereidoni M, Asadi S, Shamsizadeh A, Roohbakhsh A. SB-334867, an orexin receptor 1 antagonist, decreased seizure and anxiety in pentylenetetrazol-kindled rats. *Fundam Clin Pharmacol*. 2017;31(2):201-7.
- 43- Hashimoto R, Takei N, Shimazu K, Christ L, Lu B, Chuang DM. Lithium induces brain-derived neurotrophic factor and activates TrkB in rodent cortical neurons: an essential step for neuroprotection against glutamate excitotoxicity. *Neuropharmacology*. 2002;43:1173-9.
- 44- Zhen JL, Chang YN, Qu ZZ, Fu T, Liu JQ, Wang WP. Luteolin rescues pentylenetetrazole-induced cognitive impairment in epileptic rats by reducing oxidative stress and activating PKA/CREB/BDNF
- Baniasad F, Shamsizadeh A, Rezvani ME. Effect of anethum graveolens hydroalcoholic extract on pentylenetetrazole-induced paroxysm. *Horizon Med Sci*. 2013;19(1):41-5.
- 22- Seghatoleslam M, Alipour F, Shafieian R, Hassanzadeh Z, Edalatmanesh MA, Sadeghnia HR, et al. The effects of *Nigella sativa* on neural damage after pentylenetetrazole induced seizures in rats. *J Tradit Complement Med*. 2015;6(3):262-8.
- 23- Vafae F, Hosseini M, Hassanzadeh Z, Edalatmanesh MA, Sadeghnia HR, Seghatoleslam M, et al. The effects of *nigella sativa* hydroalcoholic extract on memory and brain tissues oxidative damage after repeated seizures in rats. *Iran J Pharm Res*. 2015;14(2):547-57.
- 24- Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc*. 2007;2:322-8.
- 25- Murray CL, Obiang P, Bannerman D, Cunningham C. Endogenous IL-1 in cognitive function and anxiety: a study in IL-1RII/2 mice. *PLoS ONE*. 2013;8(10):e78385.
- 26- Kalynchuk LE. Long-term amygdala kindling in rats as a model for the study of interictal emotionality in temporal lobe epilepsy. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000;24:691-704.
- 27- Milman A, Rosenberg A, Weizman R, Pick CG. Mild traumatic brain injury induces persistent cognitive deficits and behavioral disturbances in mice. *J Neurotrauma*. 2005;22:1003-10.
- 28- Mazarati AM, Pineda E, Shin D, Tio D, Taylor AN, Sankar R. Comorbidity between epilepsy and depression: role of hippocampal interleukin-1beta. *Neurobiol Dis*. 2010;37:461-7.
- 29- Jones NC, Cardamone L, Williams JP, Salzberg MR, Myers D, O'Brien TJ. Experimental traumatic brain injury induces a pervasive hyperanxious phenotype in rats. *J Neurotrauma*. 2008; 25:1367-74.
- 30- Detour J, Schroeder H, Desor D, Nehlig A. A 5-month period of epilepsy impairs spatial memory, decreases anxiety, but spares object recognition in the lithium-pilocarpine model in adult rats. *Epilepsia*. 2005;46:499-508.
- 31- Kempainen EJ, Nissinen J, Pitkanen A. Fear conditioning is impaired in systemic kainic acid and amygdala-stimulation models of epilepsy. *Epilepsia*. 2006;47:820-9.
- 32- Jessberger S, Nakashima K, Clemenson GD Jr, Mejia E, Mathews E, Ure K, Ogawa S, Sinton CM, Gage FH, Hsieh J. Epigenetic modulation of seizure-induced neurogenesis and cognitive decline. *J Neurosci*. 2007;27:5967-75.
- 33- Chauviere L, Rafrafi N, Thinus-Blanc C, Bartolomei F, Esclapez M, Bernard C. Early deficits in spatial memory and theta rhythm in experimental temporal lobe epilepsy. *J Neurosci*. 2009;29:5402-10.



2014;2(4):9-19.

46- Liu ZH, Chuang DM, Smith CB. Lithium ameliorates phenotypic deficits in a mouse model of fragile X syndrome. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2011;14(5):618-30.

signaling. *Epilepsy Behav.* 2016;57(Pt A):177-84.  
45- Moghadas M, Edalatmanesh M, Hosseini M. Effect of lithium chloride on serum levels of BDNF, TNF- $\alpha$ , and wet weight of brain in an animal model of depression. *Shefaye Khatam.*