

بررسی نقش عامل زمان در پیشرفت کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول در موش‌های صحرائی نژاد ویستار

دکتر محمد رضا پالیزوان*^۱، یحیی ژند^۲

۱- دانشیار، دکترای فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

تاریخ دریافت ۸۷/۴/۱۸، تاریخ پذیرش ۸۷/۸/۱

چکیده

مقدمه: امروزه کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول به عنوان یکی از مدل‌های ایجاد صرع به شکل وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای رسیدن به کیندلینگ در حیوانات، نیاز به تزریقات مکرر دارو در طی زمان وجود دارد. در این مقاله، نتایج حاصل از آزمایشاتی ارائه شده که این فرضیه را مورد آزمون قرار می‌دهند که پس از چهار بار تزریق ابتدایی پنتیلن تترازول فقط گذشت زمان می‌تواند سبب پیشرفت کیندلینگ گردد.

روش کار: این تحقیق تجربی بر روی ۳۲ موش نر نژاد ویستار انجام گرفته است. موش‌ها به دو گروه تقسیم شدند، گروه کنترل که با تزریق پشت سر هم پنتیلن تترازول (دوز ۳۷/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان، هر ۴۸ ساعت یک بار) کیندل شدند و گروه آزمون که پس از دریافت ۴ دوز پنتیلن تترازول برای مدت ۳۲ روز، وارد استراحت زمانی بدون تزریق دارو شدند. در انتها دو گروه دوزهای یکسانی از پنتیلن تترازول را به شکل هم‌زمان دریافت کرده و متغیرهای تشنجی در دو گروه ثبت شده و داده‌ها با استفاده از آزمون تی دانش آموزی و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که بین گروه‌های کنترل و آزمون در پارامترهای تشنجی همانند مرحله حمله (کنترل $۰/۲۶ \pm ۴/۷۵$ ، آزمون $۰/۲۹ \pm ۴/۷۵$) مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله دوم تشنج (کنترل $۱۶/۶۰ \pm ۱۶/۷۲$ ، آزمون $۳۸/۶۸ \pm ۲۱۶/۲۲$)، مدت زمان رسیدن حیوان به مرحله پنجم تشنج (کنترل $۰/۳۸ \pm ۲/۱۳$ ، آزمون $۰/۶۴ \pm ۳/۴۷$) و مدت زمانی که حیوان در مرحله پنجم تشنج بسر می‌برد (کنترل $۲/۴۲ \pm ۲۱/۱۵$ ، آزمون $۱/۲۰ \pm ۲۳/۴۲$) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق درک جدیدی را در پیشرفت کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول در طول زمان ارائه می‌کند.

واژگان کلیدی: پنتیلن تترازول، کیندلینگ، موش صحرائی، زمان، تشنج

نویسنده مسئول: اراک، بالاتر از میدان بسیج، مجتمع دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اراک، گروه فیزیولوژی

Email: palizvan@yahoo.com

آمریکا، حدود ۳ درصد جمعیت از بدو تولد تا ۸۰ سالگی از

این بیماری رنج می‌برند (۱). صرع در مجموع به وسیله

صرع از دیرباز، از جمله بیماری‌های عصبی رایج

در انسان بوده است. براساس مطالعات اپیدمیولوژیک در

مقدمه

حملات متناوب حسی، حرکتی، اتونومیک یا روانی مشخص می‌گردد (۲). به دلیل شیوع نسبتاً فراوان این بیماری، امروزه تحقیقات وسیعی بر روی علل ایجاد آن و راه‌های جلوگیری از بروز این بیماری در حال انجام است (۳، ۴). به دلیل غیر اخلاقی بودن آزمایش بر روی انسان، اغلب مطالعات در زمینه صرع بر روی مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع در حیوانات انجام می‌گیرد. مدل‌های آزمایشگاهی مختلفی برای ایجاد تشنج و صرع به وجود آمده است که از آن جمله می‌توان به مدل صرعی الکتروشوک، مدل شیمیایی ایجاد صرع، صرع ژنتیکی و کیندلینگ اشاره کرد. کیندلینگ در لغت به معنی روشن شدن یا برافروختن است. در حالی شبیه این که قطعات کوچک چوب در نهایت آتشی بزرگ را ایجاد می‌کنند، تحریکات زیر آستانه‌ای پشت سر هم مغز توسط جریان الکتریکی و یا مواد شیمیایی نیز سبب ایجاد تشنجات رفتاری می‌گردند که شدت آنها به تدریج افزوده شده و در نهایت امر به ایجاد حملات تونیک کلونیک منجر می‌گردد که این پدیده را کیندلینگ می‌نامند. کیندلینگ در طی بیست سال اخیر بشدت مورد مطالعه قرار گرفته است ولی برغم تلاش‌هایی که در مورد شناخت مکانیسم آن و عوامل دخیل در این پدیده صورت گرفته، مکانیسم دقیق آن تاکنون روشن نشده است (۵، ۶). به دلیل شباهت زیاد مدل کیندلینگ با انواع صرع انسانی (۷، ۸)، هر چه دانش ما از مکانیسم‌های دخیل در ایجاد کیندلینگ و مکانیسم‌های مهار کننده کیندلینگ بیشتر شود، شناخت ما از مکانیسم‌های ایجاد صرع بیشتر خواهد بود. کیندلینگ براساس نوع محرک به دو زیرمجموعه شیمیایی و الکتریکی تقسیم می‌شود. در کیندلینگ الکتریکی از محرک الکتریکی استفاده می‌شود. با اعمال تحریکات اولیه، تخلیه‌های متعاقب^۱ در محل تحریک قابل ثبت می‌باشد. اما هیچ رفتار تشنجی کلینیکی آشکار وجود نخواهد داشت. با ادامه تحریکات، تخلیه متعاقب گسترش یافته و امواج در

محل‌های ثانویه‌ای که دارای ارتباطات عصبی با محل اولیه تحریک می‌باشند، دیده می‌شود و سرانجام تشنج کلینیکی ظاهر می‌شود (۹-۱۳). در کیندلینگ شیمیایی، مواد شیمیایی با دوزهایی که در ابتدا قادر به ایجاد تشنج نیستند به طور مکرر به حیوان تزریق می‌شود (۱۰، ۱۱، ۱۴). پنتیلن تترازول (PTZ)^۲ یکی از مواد تشنج زای سیستمیک است که به شکل وسیعی برای ایجاد فعالیت صرعی در حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷-۱۵). تزریق مکرر داخل صفاقی غلظتی از PTZ که تشنج زان نیست، در موش‌های صحرایی به حساس شدگی و کیندلینگ شیمیایی آنها منجر می‌گردد (۱۶، ۲۰-۱۸). با این حال با توجه به تجربیات قبلی ما در آزمایشگاه، به نظر می‌رسد که برای ایجاد کیندلینگ شیمیایی در موش‌ها نیاز به تزریقات مکرر (در حدود ۱۵ تزریق) نیست بلکه پس از چند تزریق اولیه روند ایجاد کیندلینگ در موش‌ها فعال شده و تا ایجاد کیندلینگ کامل در آنها پیش می‌رود. لذا هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر گذشت زمان، پس از چند تزریق اولیه پنتیلن تترازول، بر روی پیشرفت مراحل کیندلینگ است.

روش کار

این مطالعه از نوع مداخله‌ای - تجربی است. در این تحقیق ۳۲ سر موش صحرایی از نژاد ویستار با وزن ۳۵۰-۲۵۰ گرم از انستیتوی واکسن و سرم سازی رازی تهیه شد. این حیوانات در اتاقی با حرارت ۲۴ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۷ صبح تا ۷ شب روشن و ۷ شب تا ۷ صبح تاریک) نگهداری شدند و به جز در هنگام آزمایش، در سایر مواقع آب و غذا به طور آزاد در اختیار آنها قرار داشت. هر هفته موش‌ها وزن گیری می‌شدند و بر اساس وزن جدید، دارو تزریق می‌شد. حیوانات در گروه‌های سه تا چهار تایی در قفس‌ها نگهداری می‌شدند.

^۱ -afterdischarge.

^۲ - pentylenetetrazole.

تهیه محلول PTZ : ماده PTZ ساخت شرکت سیگما را به نسبت ۳۷/۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان با ۲ سی سی حلال نرمال سالین محلول کرده و PTZ محلول با دوز ۰/۲ سی سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن موش تزریق شد.

به منظور ایجاد کیندلینگ شیمیایی، پنتیلن تترازول (۳۷/۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان، داخل صفاقی) هر ۴۸ ساعت یک بار (۲۱) به موشها تزریق شد. پس از تزریق دارو رفتارهای حیوان برای مدت ۲۰ دقیقه تحت نظر گرفته شده و پاسخهای تشنجی حیوان براساس تحقیقات قبلی (۴) به شکل زیر طبقه بندی شدند.

مرحله صفر: عدم پاسخ

مرحله اول: انقباض عضلات صورت و گوشها

مرحله دوم: موج انقباضی بدن

مرحله سوم: پرشهای میوکلونیک و ایستادن روی دو پا

مرحله چهارم: افتادن به پهلو

مرحله پنجم: افتادن به پشت و حملات عمومی تونیک و کلونیک

فعالیت‌های تشنجی در طول ۲۰ دقیقه پس از تزریق PTZ ارزیابی شدند. پس از اولین تزریق، بعضی از موشها مراحل اول و یا دوم تشنج را از خود نشان دادند، با ادامه تزریقات به تدریج تشنج در موشها پیشرفت کرد.

در این مطالعه در ابتدا به ۳۲ سرت از نژاد ویستار ۴ تزریق داخل صفاقی PTZ با فاصله ۴۸ ساعت انجام شد و موشها طی مدت ۲۰ دقیقه برای ثبت متغیرهای تشنجی تحت نظر قرار گرفتند. سپس موشها به دو گروه مورد و شاهد تقسیم شدند که این گروهها از لحاظ میانگین SS با یکدیگر اختلافی نداشتند. برای گروه شاهد طبق روال استاندارد، تزریقها با فاصله ۴۸ ساعت تا کیندل شدن کامل موشها ادامه پیدا کرد برای این گروه ۱۶ تزریق شد و گروه مورد در این مدت هیچ تزریقی را دریافت نکردند. ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق به گروه شاهد، برای هر دو گروه سه بار تزریق داخل صفاقی PTZ انجام گرفت. مدت

زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله دوم تشنج (stage 2 latency; S2L)، مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله پنجم تشنج (stage 5 latency; S5L)، مدت زمانی که حیوان در مرحله پنجم تشنج بسر میبرد (stage 5 duration; S5D) و مرحله حمله (seizure stage; SS) اندازه گیری و ثبت شدند و نتایج این دو گروه با هم مقایسه شد.

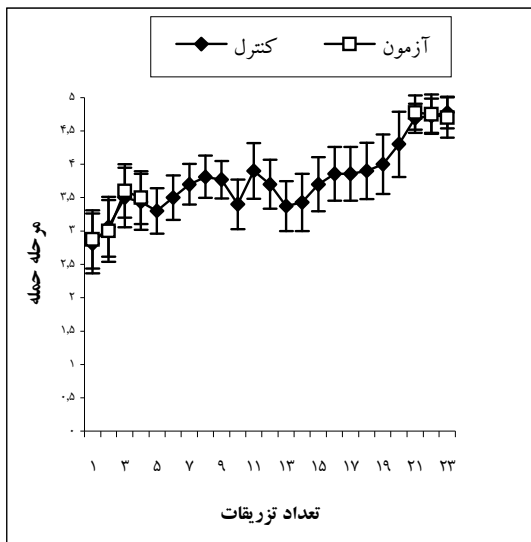
نتایج حاصل به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین ارائه گردیده است. در این تحقیق برای مقایسه پیشرفت مرحله حمله در دو گروه از آزمون واریانس یک طرفه و آزمون توکی و برای مقایسه دیگر متغیرهای تشنجی از آزمون تی دانش آموزی استفاده شد.

نتایج

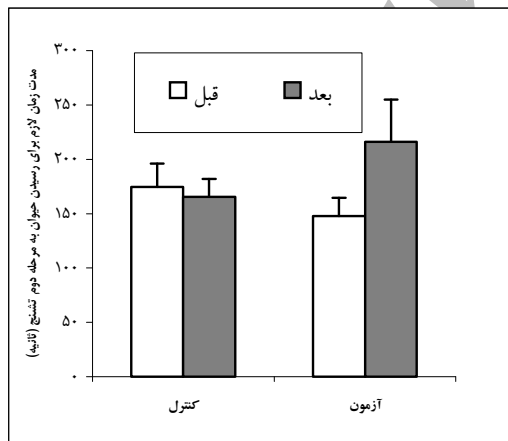
نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در طی روند کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول پس از چهار بار تزریق PTZ، روند کیندلینگ به شکل خود به خود پیش می‌رود و نیازی به تزریقات بیشتر PTZ برای ایجاد کیندلینگ نیست. مقایسه نتایج حاصل از پیشرفت مرحله حمله در دو گروه تحت بررسی در شکل ۱ آورده شده است. همان گونه که در شکل دیده می‌شود، مقایسه مرحله حمله در گروهی که روند کیندلینگ را به شکل عادی طی کرده بود و گروهی که پس از چهار بار تزریق PTZ تزریق دیگری دریافت نکرده بود اختلاف معنی داری وجود ندارد (۴/۷۳ در برابر ۴/۷۵) (شکل ۱).

مقایسه میانگین S2L سه تحریک متوالی آخر قبل از استراحت زمانی و سه تحریک پس از استراحت زمانی با استفاده از آزمون تی جفتی در هر گروه، اختلاف معنی داری را در گروهها نشان نداد (شکل ۲).

جهت مقایسه مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله پنج تشنج، به دلیل این که برخی از حیوانات به مرحله پنج تشنج نرسیده و زمان برای آنها بی نهایت می‌شد و انجام آزمون آماری آنها امکان پذیر نبود، از معکوس این



شکل ۱. مقایسه مرحله حمله در دو گروه کنترل و آزمون. آزمون آماری اختلاف معنی داری را در متوسط مرحله حمله پس از استراحت زمانی در گروه کنترل $4/75 \pm 0/26$ و آزمون $4/75 \pm 0/29$ نشان نداد.



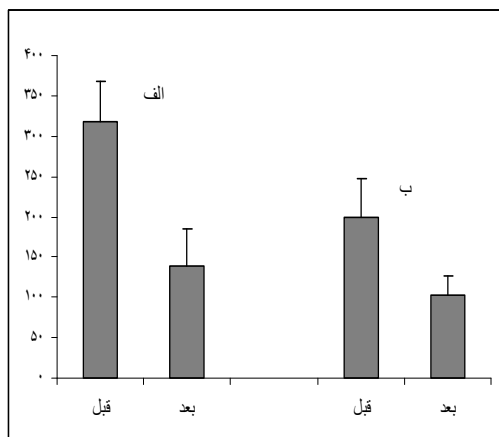
شکل ۲. مقایسه میانگین $S2L$ سه تحریک متوالی آخر قبل از استراحت زمانی (کنترل $21/18 \pm 174/77$ ، آزمون $16/34 \pm 147/90$) و سه تحریک پس از استراحت زمانی (کنترل $16/06 \pm 165/72$ ، آزمون $216/22 \pm 38/68$) با استفاده از آزمون آماری اختلاف معنی داری را در گروه‌ها نشان نداد.

متغیر استفاده شد. با توجه به این که عدد حاصل کوچک بود آن را در عدد ۱۰۰۰ ضرب کردیم و به این ترتیب متغیر به نام معکوس مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله پنج تشنج ضرب در ۱۰۰۰ به دست آمد. نتایج حاصل از مقایسه این متغیر قبل و بعد از استراحت زمانی در گروه‌ها نشان داد که اگر چه این متغیر در هر دو گروه افزایش پیدا کرده است ولی تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی جفت‌ها اختلاف معنی داری را بین قبل و بعد از استراحت زمانی نشان نداد (شکل ۳).

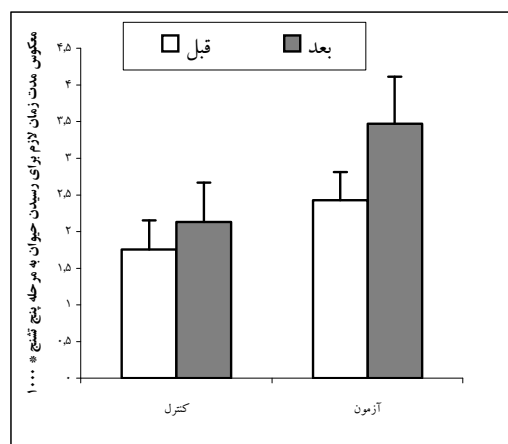
مقایسه مدت زمانی که حیوان در مرحله پنج تشنج بسر می‌برد نیز نشان داد که در این متغیر اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و آزمون وجود ندارد. هم‌چنین مقایسه این متغیر در سه تحریک متوالی آخر قبل از استراحت زمانی و سه تحریک پس از استراحت زمانی با استفاده از آزمون Paired T test در گروه‌های کنترل و آزمون، اختلاف معنی داری را نشان نداد (شکل ۴).

برای بررسی استعداد ایجاد تشنج در حیوان پس از رسیدن دارو به مغز، در این تحقیق متغیر دیگری تعریف شد که عبارت بود از کسر مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله دوم تشنج از مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله پنج تشنج ($S5L - S2L$). مقایسه این متغیر در گروه‌های کنترل و آزمون قبل و بعد از استراحت زمانی نشان داد که در هر دو گروه به شکل معنی داری این زمان کاهش می‌یابد (شکل ۵).

مقایسه این متغیر در دو گروه کنترل و آزمون پس از استراحت زمانی اختلاف معنی داری را بین دو گروه نشان نداد (140 ± 43 در گروه کنترل و 100 ± 27 در گروه آزمون).



شکل ۵. کسر مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله دوم تشنج از مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله پنج تشنج است (S2L-S5L). مقایسه این متغیر در گروه‌های کنترل (الف) و آزمون (ب) قبل (کنترل) $= 5/94 \pm 316/58$ ، آزمون $46/84 \pm 199/85$ و بعد (کنترل) $46/73 \pm 138/36$ ، آزمون $24/03 \pm 103/29$ از استراحت زمانی نشان داد که در هر دو گروه به شکل معنی‌داری این زمان کاهش می‌یابد.

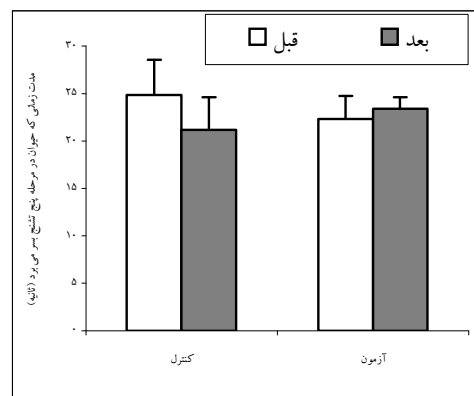


شکل ۳. معکوس مدت زمان لازم برای رسیدن حیوان به مرحله پنج تشنج ضرب در ۱۰۰۰ به دست آمد. نتایج حاصل از مقایسه این متغیر قبل (کنترل) $0/39 \pm 1/76$ ، آزمون $0/54 \pm 2/43$ و بعد از استراحت زمانی (کنترل) $0/38 \pm 2/13$ ، آزمون $0/64 \pm 3/47$ در گروه‌ها نشان داد که اگر چه این متغیر در هر دو گروه افزایش پیدا کرده است ولی تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را بین قبل و بعد از استراحت زمانی نشان نداد.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که برای ایجاد کیندلینگ شیمیایی در موش‌های رات نژاد ویستار اگر پس از چهار بار تزریق پنتیلن تترازول برای یک دوره سی و دو روزه، موش‌ها به حال خود رها شوند، روند ایجاد کیندلینگ در آنها به شکل خود به خودی و بدون نیاز به تزریق داور پیش رفته و پس از این مدت موش‌ها همانند گروه دریافت کننده دارو کیندل خواهند شد.

کیندلینگ یکی از مهم‌ترین مدل‌های مطالعه صرع است که با تزریقات تکراری و زیر آستانه‌ای مواد تشنج‌زا ایجاد می‌گردد (۲۲). تحقیقات نشان داده است که رسیدن به حالت کیندلینگ کامل، بسته به نژاد حیوان و روش ایجاد کیندلینگ به زمان طولانی یعنی بین ۱۵ تا ۳۸ روز نیاز دارد (۲۳، ۲۴). اگر چه وقایع ژنتیکی درگیر در روند تکامل کیندلینگ به شکل کامل شناسایی نشده‌اند، به نظر می‌رسد که تزریقات مکرر و پشت سر هم محرک‌ها، سبب القاء



شکل ۴. مقایسه مدت زمانی که حیوان در مرحله پنج تشنج بسر می‌برد نشان داد این متغیر در سه تحریک متوالی آخر قبل از استراحت زمانی (کنترل) $3/73 \pm 24/83$ ، آزمون $3/46 \pm 22/33$ و سه تحریک پس از استراحت زمانی (کنترل) $2/42 \pm 21/15$ ، آزمون $1/20 \pm 23/42$ در گروه‌های کنترل و آزمون اختلاف معنی‌داری ندارد.

این تغییرات تزریق پنتیلین تترازول ضروری است اما برای ادامه آنها فقط گذشت زمان کافی است و تزریقات مکرر دارو نقشی در ادامه این تغییرات ندارد.

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق علاوه بر ارائه راه کاری تازه در روش‌های ایجاد صرع در حیوانات، می‌تواند به عنوان یکی از نقاط مهم در بررسی چگونگی ایجاد صرع در انسان مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

تشکر و قدر دانی

این تحقیق نتیجه پایان نامه دانشجویی آقای یحیی ژند می‌باشد که بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی اراک تشکر می‌گردد.

منابع

- Westbrook GL. Seizures and Epilepsy. In: Kandel ER, Schwart JH, Jessell TM, editors. Principles of neural science. 4th ed. New York: McGraw – Hill; 2000. p. 910-916.
- Rall TW, Shleifer LS. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In: Goodman Gillman A, Rall TW, Nies AS, Taylor P, editors. The pharmacological basis of therapeutics. New York: Pergamon Press; 1991. p. 436-462.
- Alasvand-Zarasvand M, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Palizvan MR. Anticonvulsant effect of bilateral injection of N6-cyclohexyladenosine into the CA1 region of the hippocampus in amygdala-kindled rats. *Epilepsy Res* 2001; 47:141-49.
- Palizvan MR, Fathollahi Y, Semnianian S. Epileptogenic insult causes a shift in the form of long-term potentiation expression. *Neuroscience* 2005; 134: 415-23.
- McCandle DW, Finesmith RB. Chemically induced models of seizures. In: Bouton A, Baker GB, Butteruse RF, Editors. *Neuromethods*. Totowa: The human Press; 1992. p.133-151.
- Sato M, Racine RJ, McIntyre DC. Kindling: basic mechanisms and clinical Validity.

سلسله وار وقایع ژنتیکی مشابهی می‌گردد که جمع نهایی آنها منجر به تغییر شبکه‌های مغزی شده به شکلی که آنها را برای بروز تشنج در اثر محرک‌هایی که در زیر آستانه تشنج قرار دارند مستعد می‌نماید. از محدود تحقیقاتی که در این زمینه انجام گرفته می‌توان به نتایج شمول و همکاران اشاره کرد. نتایج این تحقیق نشان داده شد که در موش‌های نژاد Sprague-Dawley تزریق یک دوز پنتیلین تترازول به موش‌ها و یک استراحت زمانی بین ۲۴ تا ۲۶ روز سبب القاء کیندلینگ پس از دو بار تزریق مجدد PTZ در بیش از ۹۰ درصد از حیوانات می‌گردد (۲۵). تحقیقات نشان داده است که در این زمان میزان پروتئین سولفور آهن Rieseke که از ترکیبات مجموعه سیتوکروم bcl میتوکندریایی در هیپوکمپ است، افزایش پیدا می‌کند که می‌تواند یک نوع پاسخ نوروئی به تشنج بوده و سبب پیشرفت تشنج در فاصله استراحت زمانی گردد (۲۶، ۲۷). از دیگر نکات مهم در این تحقیق عدم وجود اختلاف در دو گروه در مورد متغیر S5L-S2L است. زمانی که حیوان مرحله دوم تشنج را از خود نشان می‌دهد به این مفهوم است که دارو از سد خونی عبور کرده و به مغز رسیده است. از این زمان به بعد، یعنی در فاصله زمانی بین شروع مرحله دوم تا شروع مرحله پنجم تشنج، زمانی را نشان می‌دهد که تشنج در مغز گسترش پیدا می‌کند، به عبارت دیگر هر چه این زمان بیشتر باشد، مقاومت مغز در برابر گسترش تشنج بیشتر خواهد بود. مقایسه این متغیر در دو گروه نیز نشان داد که دو گروه اختلاف معنی‌داری در این متغیر نداشتند. به عبارت دیگر استعداد مغز هر دو گروه برای گسترش تشنج به یک اندازه بود که می‌تواند نشان دهنده افزایش استعداد به تشنج در گروه آزمون نسبت به گروه کنترل باشد. به این ترتیب به نظر می‌رسد که در مدل کیندلینگ شیمیایی با پنتیلین تترازول پس از تحریکات اولیه توسط PTZ یک سری واکنش هیستوپاتولوژیک در مغز آغاز شده و در نهایت منجر به کاهش آستانه تشنج در مغز می‌گردد. اگر چه برای شروع

- Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1990; 76: 459-472.
7. McNamara JO, Byrne MC, Dashiff RM, Fitz JG. Kindling model of epilepsy: a review. *Prog Neurobiol* 1980;15: 139-159.
 8. Fisher RS. Animal models of epilepsies. *Brain Res Rev* 1989; 14: 245-278.
 9. Kelly ME. The kindling model of temporal lobe epilepsy. In: Peterson SL, Albertson TE, editors. *Neuropharmacology Methods in epilepsy research*. Florida: CRC Press; 1998. p. 41-74.
 10. Abel MS, McCandless DW. The kindling model of epilepsy. In: Boulton A, Baker G, Butterworth R, editors. *Neuromethods: Animal models of neurological disease*. Totowa: The Humana Press; 1992. p. 153-166.
 11. McNamara JO, Byrne MC, Dasheiff RM, Fitz JG. The kindling model of epilepsy. *Prog Neurobiol* 1980; 15: 139-159.
 12. Racine RJ. Modification of Seizure activity of electrical stimulation. *Electroen Clin Neuro*, 1972; 32: 281-294.
 13. McNamara JO. Analyses of the molecular basis of kindling development. *Psychiat Clin Neuros* 1995; 49: 175-178.
 14. Pinel JPI, Van-Oot PH. Generality of kindling phenomenon: some clinical implications. *J Neurol Sci* 1975; 2: 467-475.
 15. Angelatou F, Pagonopoulou O, Kostopoulous G. Alteration of A1 adenosine receptor in different mouse brain after pentylenetetrazol induced seizures, but not in the epileptic mutant mouse tottering. *Brain Res* 1990; 534: 251-256.
 16. Angelatu F, Pagonopoulou D, Kostopoulous G. Change in seizure latency correlate with alteration in A1 adenosine receptor binding during daily repeated pentylenetetrazol induced convulsion in different mouse brain area. *Neurosci Lett* 1991; 13: 203-206.
 17. Klocker N, Mubhaff U, Madeja M, Speckmann EJ. Activation of ATP sensitive potassium channels in follicle enclosed xenopus oocyte by the epileptogenic agent pentylenetetrazol. *Eur J Physiol* 1996; 431: 736-740.
 18. Bakay RE, Harris AB. Neurotransmitter receptor and biochemical changes in monkey cortical epileptic foci. *Brain Res* 1981; 206: 41-44.
 19. Becker A, Grecksch G, Brosz M. Naloxone ameliorates the learning deficit induced by pentylenetetrazol kindling in rats. *Eur J Neurosci* 1994; 6:1512-1515.
 20. Masan CR, Cooper RM. Permanent changed rats convulsive threshold in normal and brain damaged rats with repeated small doses of pentylenetetrazol. *Epilepsia* 1972; 13: 663-674.
 21. Palizvan MR, Fathollahi Y, Semnianian S, Hajezadeh S, Mirnajafizadh J. Differential effects of pentylenetetrazol-kindling on long-term potentiation of population excitatory postsynaptic potentials and population spikes in the CA1 region of rat hippocampus. *Brain Res* 2001; 898: 82-90.
 22. Lothman EW, Bertram EH, Stringer JL. Functional anatomy of hippocampal seizures. *Prig Neurobiol* 1991; 37:1-82.
 23. Atack JR, Cook SM, Hutson PH, File SE. Kindling induced by pentylenetetrazole in rats is not directly associated with changes in the expression of NMDA or benzodiazepine receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 65: 743-750.
 24. Becker A, Grecksch G, Thiemann W, Holtt V. Pentylenetetrazole-kindling modulates stimulated dopamine release in the nucleus accumbens of rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 66: 425-428.
 25. Schmoll H, Badan I, Grecksch G, Walker L, Kessler C, Popa-Wagner A, et al. Kindling status in Sprague-Dawley rats induced by pentylenetetrazole. *Am J Pathol* 2003; 162: 1027-34.
 26. Yu CA, Zhang L, Deng KP, Tian H, Xia D, Kim H, et al. Structure and reaction mechanism of multifunctional mitochondrial cytochrome bc1 complex. *BioFactors* 1999; 9: 103-9.
 27. Junker H, Spate K, Suofu Y, Walther R, Schwarz G, Kammer W, et al. Proteomic identification of the involvement of the mitochondrial Rieske protein in epilepsy. *Epilepsia* 2005; 46: 339-343.

Effect of critical time window on development of Pentylenetetrazole kindling in wistar rats

Palizvan MR^{1*}, Jand Y²

1- Associated professor, PhD in Physiology, Faculty of medicine, Arak University of medical sciences, Arak, Iran.

2- Student of medicine, faculty of medicine, Arak University of medical sciences, Arak, Iran.

Received 8 Jul, 2008

Accepted 22 Oct, 2008

Abstract

Background: pentylenetetrazole Kindling is widely used as a model for epileptogenesis. The achievement of kindling criterion is known to require repeated drug injection during time to develop. In this article a series of experiments aimed to examine the hypothesis that after 4 primary injections only time is needed to induce kindling in wistar rats.

Methods and Materials: In this experimental research, 32 male Wistar rats were divided in two groups. Control Group were kindled by repeated injections of pentylenetetrazole (PTZ; 37.5 mg/kg; i.p. 48 h interval), in case group were done 4 repeated injections of pentylenetetrazole and have 32 days time lapse, at the end of experiment two groups received same dose of PTZ simultaneously and seizure parameters were assessed. Data were analyzed using student's t-test and one way ANOVA and Turkey's test.

Results: Results showed there isn't significant differences in seizure parameters such as seizure stage (control; 4.75 ± 0.26 , case; 4.75 ± 0.29), stage 2 latency (control; 165 ± 16.6 , case; 216 ± 38.68), stage 5 latency (control; 2.13 ± 0.38 , case; 3.47 ± 0.64) and stage 5 duration (control; 21.15 ± 2.42 , case; 23.42 ± 1.20) between two groups.

Conclusion: Results of this experiment introduces the new critical time window for PTZ kindling.

Key words: Pentylenetetrazole, Kindling, Rat, Time, Seizure