

## The Effects of Verapamil and Ethosuximide on the Brain Bioelectrical Activity of WAG/Rij Rats

Mina Sadighi Alvandi<sup>1</sup>, Parviz Shahabi<sup>1</sup>, Ghazaleh Ghamkhari Nejad<sup>2\*</sup>, Mina Hosseinpour<sup>3</sup>, Forough Foolad<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Neurosciences Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Student Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Department of Biomedical Engineering, School of Electrical Engineering, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Department of Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

### Article Info:

Received: 22 Mar 2015

Accepted: 29 Apr 2015

## ABSTRACT

**Introduction:** Synchronization of bioelectrical activities of neurons contributes to the initiation of epileptiform activities occurred during a seizure attack. Absence seizures are characterized by synchronous and symmetric 2.5-4 Hz spike-wave discharges in children under 15 years old. More than half of children with absence epilepsy suffer from cognitive, education, and learning difficulties. The amplitude ratio of the theta and alpha waves is a reliable indicator for measuring of learning difficulties in children. The aim of this study was to evaluate the effect of L- and T-type voltage-dependent calcium channel blockers, verapamil and ethosuximide, on the amplitude of electroencephalogram (EEG) waves in WAG/Rij rats, a genetic animal model of absence epilepsy.

**Materials and Methods:** 18 adult WAG/Rij rats in the age between 4 and 6 months were divided randomly into 3 groups. Using stereotaxic method, cannula was implanted in the peri-oral region of the primary somatosensory cortex for injection of drugs and recording electrodes were placed in the frontal and the occipital cortices. Electroencephalography was recorded 30 minutes before and one hour after drug injection. **Results:** The power of EEG sub-bands significantly decreased in the first 30 minutes after injection of verapamil and ethosuximide compared to the control group. **Conclusion:** Our data show that verapamil and ethosuximide can decrease the power of EEG sub-bands. However, they have not noticeable effect on theta to alpha ratio.

### Key words:

1. Epilepsy, Absence
2. Brain Waves
3. Rats
4. Verapamil
5. Ethosuximide

\* **Corresponding Author:** Ghazaleh Ghamkhari Nejad

E-mail: gh\_ghamkhar@yahoo.com

## اثرات وراپامیل و اتوسوکسیماید بر فعالیت بیوالکتریکال مغز موش صحرایی WAG/Rij

مینا صدیقی الوندی<sup>۱</sup>، پرویز شهابی<sup>۱</sup>، غزاله غم خواری نژاد<sup>۲</sup>، مینا حسین پور<sup>۳</sup>، فروغ فولاد<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۲</sup>کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۳</sup>گروه مهندسی پزشکی، دانشکده مهندسی برق، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران

<sup>۴</sup>گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

### اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۹ اردیبهشت ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۲ فروردین ۱۳۹۴

### چکیده

**مقدمه:** همزمانی فعالیت‌های بیوالکتریکی نورون‌ها در آغاز فعالیت‌های صرعی که در طول یک حمله تشنجی رخ می‌دهد، دخیل است. تشنج کوچک با تخلیه‌های نیزه‌ای -موجی ۴-۲/۵ هرتز هماهنگ و همزمان در کودکان زیر ۱۵ سال مشخص می‌شود. بیش از نیمی از کودکان مبتلا به صرع کوچک از اختلالات شناختی، آموزشی و یادگیری رنج می‌برند. نسبت دامنه موج تتا و آلفا یک شاخص معتبر برای سنجش اختلالات یادگیری در کودکان است. هدف این مطالعه بررسی اثر مهارکننده‌های کانال کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L و T، وراپامیل و اتوسوکسیماید بر دامنه امواج الکتروانسفالوگرام در موش‌های صحرایی WAG/Rij، یک مدل حیوانی ژنتیکی صرع کوچک بود. **مواد و روش‌ها:** ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد WAG/Rij در محدوده سنی بین ۴ الی ۶ ماه به‌طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. با استفاده از روش استروتاکسی، کانول در ناحیه پیش-دهانی قشر حسی-پیکری برای تزریق داروها کاشته شد و الکترودهای ثبت در قشرهای پیشانی و پس سری قرار داده شدند. الکتروانسفالوگرافی ۳۰ دقیقه قبل و یک ساعت بعد از تزریق دارو ثبت گردید. **یافته‌ها:** توان زیر باندهای الکتروانسفالوگرافی در ۳۰ دقیقه اول پس از تزریق وراپامیل و اتوسوکسیماید در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. **نتیجه‌گیری:** نتایج ما نشان می‌دهد که وراپامیل و اتوسوکسیماید می‌توانند توان زیر باندهای الکتروانسفالوگرافی را کاهش دهند. اگرچه آن‌ها اثر قابل توجهی بر نسبت تتا به آلفا ندارند.

### کلید واژه‌ها:

۱. صرع کوچک
۲. امواج مغزی
۳. موش‌های صحرایی
۴. وراپامیل
۵. اتوسوکسیماید

\* نویسنده مسئول: غزاله غم خواری نژاد

آدرس الکترونیکی: gh\_ghamkhar@yahoo.com

## مقدمه

به آلفا یک مقیاس قابل اعتماد برای سنجش سطح هوشیاری، اختلال یادگیری، اختلالات خواندن و نوشتن و دمانس در کودکان است (۱۱). ثبت SWDs در موش‌های صرعی WAG/Rij نشان داد که امواج تتا در مقایسه با سایر زیر باندهای EEG دامنه بزرگ‌تری دارند و اختلالات یادگیری و هوشیاری در آن‌ها مشاهده شد (۱۲).

بنابراین آن دسته از داروهای ضد تشنجی که بتوانند توان امواج تتا و نسبت موج تتا به آلفا را در کودکان مبتلا به صرع کوچک کاهش دهند، ممکن است در کاهش اختلالات یادگیری در این کودکان مفید باشند. در این پژوهش نقش دو داروی ضد تشنجی وراپامیل و اتوسوکسیماید که به ترتیب مهارکننده‌های کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L و T هستند، بر بزرگی دامنه زیر باندهای الکتروانسفالوگرام قبل و بعد از مصرف داروها و همچنین بر نسبت توان زیر باند تتا به آلفا بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

## حیوانات مورد آزمایش

در این بررسی از ۱۸ سر موش‌های صحرایی نر نژاد WAG/Rij با متوسط وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم و محدوده سنی ۴ الی ۶ ماه استفاده شد. حیوانات از مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا در بیمارستان خاتم‌الانبیاء خریداری و در گروه‌های ۶ تایی، در حیوان خانه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشکده پزشکی تبریز نگهداری شدند. درجه حرارت حیوان خانه  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد بوده و سیکل ۱۲ ساعت نور و تاریکی از ساعت ۶ تا ۱۸ رعایت می‌شد. حیوانات دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند و تغذیه آن‌ها با استفاده از غذای فشرده انجام می‌گرفت. تمامی آزمایش‌ها بر اساس اصول کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تبریز صورت گرفت.

حیوانات به‌طور تصادفی به ۳ گروه وراپامیل، اتوسوکسیماید و کنترل تقسیم شدند. وراپامیل هیدروکلراید (ساخت کمپانی سیگما) با دوز ۴۰ میکرومول/میکرو لیتر (۱۳)، اتوسوکسیماید (ساخت کمپانی سیگما) با دوز ۹۰۰ میکروگرم/میکرو لیتر (۱۴) و نرمال سالین ۰/۹ درصد به‌عنوان حلال جهت تزریق داروها مورد استفاده قرار گرفتند.

## جراحی حیوانات

حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین ( $80 \text{ mg/kg}$ ) و زایلازین ( $5 \text{ mg/kg}$ ) بیهوش شدند و در دستگاه استریوتاکس (ساخت شرکت Stoelting آمریکا) قرار گرفتند (۱۵). برای ثبت سیگنال‌های مغزی دو الکتروود تک قطبی از جنس فولاد ضد زنگ در قشر پیشانی و پس سری قرار داده شدند و جهت تزریق دارو، کانول به‌صورت دو طرفه در ناحیه S1po با روش استریوتاکسی کاشته شد. با توجه به اطللس پاکسینوس مختصات ناحیه S1po نسبت به برگما،  $2/1$  میلی‌متر در جهت خلفی،  $5/5$  میلی‌متر در جهت جانبی و  $4$  میلی‌متر پایین‌تر از سطح جمجمه در نظر گرفته

صرع یکی از شایع‌ترین اختلالات عصبی می‌باشد که تقریباً ۱٪ جمعیت جهان به آن مبتلا هستند (۱). صرع کوچک یکی از انواع صرع‌های عمومی شونده است که از ویژگی‌های بارز آن اختلال ناگهانی هوشیاری، همراه با تخلیه‌های نیزه‌ای - گنبدی (SWDs)<sup>۱</sup> هماهنگ، دوطرفه و همزمان با فرکانس ۴-۲/۵ هرتز در ثبت‌های الکتروانسفالوگرافی (EEG)<sup>۲</sup> است (۲). صرع کوچک به علت تعامل نزدیک بین مدار قشر و تالاموس ایجاد می‌شود. این مدار در ناحیه اطراف دهان در قشر حسی - پیکری اولیه (S1po)<sup>۳</sup> شروع می‌شود و به ناحیه پیشانی قشر حسی - پیکری منتشر شده و منجر به فعال‌سازی مدار قشری - تالاموسی می‌گردد (۳). مدل‌های حیوانی متعددی به‌منظور بررسی اساس ساز و کار صرع استفاده می‌شوند. موش‌های صرعی WAG/Rij<sup>۴</sup> که به‌صورت ژنتیکی مبتلا به صرع هستند، مدل‌های مناسبی برای این مطالعات می‌باشند که SWDs را با فرکانس ۷-۱۱ هرتز از خود نشان می‌دهند (۴).

نشان داده شده است که افزایش جریان کلسیمی از طریق کانال‌های کلسیمی دریچه دار وابسته به ولتاژ، نقش مهمی در القای SWD و پاتوژنز صرع کوچک دارند (۵). موش‌های صحرایی که بیان کانال‌های کلسیمی نوع T و L تالاموسی آن‌ها کاهش یافته است، مقاوم به SWDs القاء شده توسط کلوفون یا گاما‌هیدروکسی بوتیرولاکتون هستند (۶). شلیک جمعی بسیاری از نورون‌ها در مغز به شکل‌گیری جریان‌های کوچکی منجر می‌شود که در اطراف سر پخش شده و به‌عنوان الکتروانسفالوگرام ثبت می‌شوند. به عبارت دیگر پتانسیل‌های پس سیناپسی تحریکی و مهاری سلول‌های عصبی قشر مغز، امواج مغزی را با دامنه تقریباً حدود ۱۰۰ میکرو ولت و فرکانس بین ۰/۵ تا ۱۰۰ هرتز تولید می‌کنند که معمولاً طی شرایط مختلف دستخوش تغییر می‌شوند (۷، ۸). بر اساس فرکانس، امواج EEG به ۵ گروه آلفا، بتا، دلتا، تتا و گاما تقسیم می‌شوند. توان یا بزرگی امواج EEG و زیر باندهای آن به‌عنوان معیاری از همزمانی<sup>۵</sup> در نظر گرفته می‌شود. به‌عبارتی افزایش توان، شاخصی از افزایش همزمانی است (۹).

صرع زایی از جمله فرایندهایی است که در آن همزمانی نورون‌ها تغییر می‌کند. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که با شروع تشنج در نواحی از مغز که مستعد تشنج‌زایی هستند، همزمانی امواج مغزی مشاهده می‌شود. به این معنی که در شروع صرع، فعالیت الکتریکی با ولتاژ بالا رخ می‌دهد و همزمانی بین زیر باندهای EEG افزایش می‌یابد (۱۰).

بیش از نیمی از کودکان مبتلا به صرع کوچک از اختلالات هوشیاری، روانی و آموزشی رنج می‌برند. اگر تخلیه‌های تشنجی با فرکانس ۳ هرتز و حداقل به مدت ۳ ثانیه در کل مغز پخش شوند، می‌توانند اختلالات اساسی را در سطح هوشیاری به وجود آورند. امروزه به اثبات رسیده است که نسبت توان زیر باند تتا

<sup>۱</sup> Spike -wave discharges<sup>۲</sup> Electroencephalography<sup>۳</sup> Peri-oral region of the primary somatosensory cortex<sup>۴</sup> Wistar albino glaxo/Rij-rat<sup>۵</sup> Synchronization

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

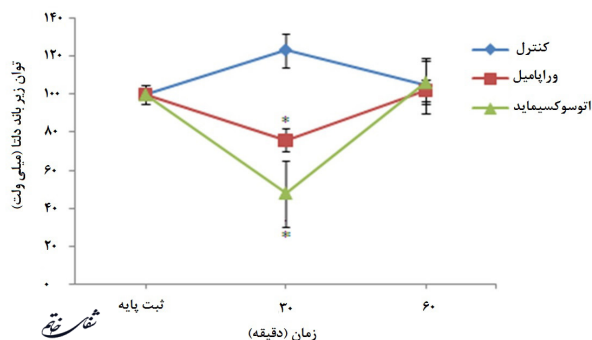
نتایج داده‌ها به شکل درصد تغییرات نسبت به حالت پایه محاسبه شدند (حالت پایه ۱۰۰٪ در نظر گرفته شد)، سپس میانگین درصد تغییرات هر زیر باند به دست آمده و به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نمایش داده شدند. به منظور آنالیز داده‌ها نرم‌افزار SPSS ۱۶ استفاده شد. جهت مقایسه بین گروه‌ها، آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) و جهت مقایسه اثر تزریق دارو در دو بازه زمانی بعد از تزریق، آزمون تعقیبی tukey مورد استفاده قرار گرفت. سطح آماری  $P < 0.05$  از لحاظ آماری به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

داده‌های مربوط به ۲ بازه زمانی ۳۰ دقیقه‌ای پس از تزریق دارو در هر گروه آزمایشی یعنی گروه وراپامیل، اتوسوکسیماید و کنترل (سالین) آنالیز شدند. تمامی ارقام ذکر شده به صورت درصد تغییرات می‌باشد که نسبت به حالت پایه یعنی زمانی که دارو یا سالین دریافت نشد، محاسبه گردید. حالت پایه ۱۰۰٪ در نظر گرفته شد.

مقایسه دو گروه وراپامیل و اتوسوکسیماید با گروه کنترل در دقیقه ۳۰، کاهش معنی‌داری را در توان امواج دلتا نشان داد ( $F(15, 2) = 15.55, P < 0.05$ ). توان موج دلتا در گروه وراپامیل  $13.5 \pm 7.6\%$  و کنترل  $14.6 \pm 12.3/19\%$  بوده که به مقدار  $46/39\%$  کاهش یافت. در گروه اتوسوکسیماید، توان موج دلتا در مقایسه با کنترل به  $12/8 \pm 48/30\%$  رسید که مقدار کاهش  $74/89\%$  می‌باشد. در دقیقه ۶۰، تغییرات معنی‌داری در هیچ کدام از دو گروه وراپامیل و اتوسوکسیماید نسبت به کنترل دیده نشد ( $P = 0.86$ ) - (نمودار ۱).

کاهش معنی‌داری در توان موج تتا در گروه وراپامیل و اتوسوکسیماید در دقیقه ۳۰ نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید ( $F(15, 2) = 7.31, P < 0.05$ ). توان موج تتا در گروه وراپامیل  $12/8 \pm 70/76\%$  و در گروه اتوسوکسیماید  $11/2 \pm 68/86\%$  بوده که درصد کاهش در دو گروه نسبت به گروه کنترل  $7/4 \pm 13/46\%$  به ترتیب  $42/72\%$  و  $44/62\%$  می‌باشد.



نمودار ۱- اثر تزریق وراپامیل (۴۰ میکرو مول) و اتوسوکسیماید (۹۰۰ میکروگرم) بر توان موج دلتا. اعداد به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نمایش داده شده‌اند.  $P < 0.05 = *$  معنی‌داری در مقایسه با سالین به عنوان کنترل در بازه زمانی ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داروها را نمایش می‌دهد ( $n = 6$ ).

شد. الکترودها در داخل سوکت مخابراتی قرار گرفته و با استفاده از سیمان دندانپزشکی بر روی جمجمه محکم شدند (۱۳).

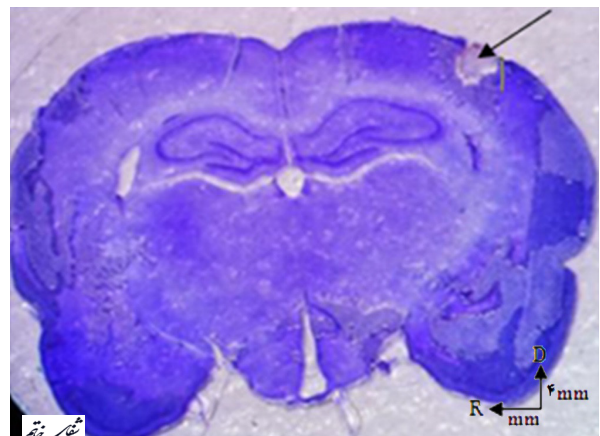
## ثبت و تزریق دارو

پس از ۱ هفته دوره بهبودی، حیوان در محفظه‌های پلکسی گلاس داخل قفس فارادی قرار گرفت و ثبت EEG به مدت ۳۰ دقیقه قبل از تزریق دارو انجام گرفت. برای ثبت EEG، سوکت قرار داده شده بر روی سر حیوان به یک سیم انعطاف‌پذیر متصل شد. انتهای این سیم به دستگاه آمپلی‌فایر (DAM 80, WPI ساخت آمریکا) که دارای فیلتر میان گذر (Band Pass) ۰/۱ تا ۱۰۰۰ هرتز بود، وصل شد تا سیگنال‌های خارج شده از مغز حیوان توسط این دستگاه تقویت شده و بر روی مانیتور کامپیوتر ظاهر شود. این ثبت‌ها با نرخ نمونه‌برداری ۱ کیلوهرتز و دقت مبدل آنالوگ به دیجیتال ۱۲ بیت انجام شدند.

پس از ۳۰ دقیقه با کمک سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرو لیتری، حجم ۱ میکرو لیتر از دارو با سرعت کم به مدت دو دقیقه از راه کانول تزریق که بر روی جمجمه حیوان قرار گرفته بود، به ناحیه S1po حیوان تزریق گردید. بعد از تزریق دارو، امواج مغزی حیوان به مدت یک ساعت به شکل ۲ بازه زمانی ۳۰ دقیقه‌ای ثبت شدند (۱۳). در این تحقیق، نرم‌افزار Matlab R2013a و تبدیل ویولت گسسته<sup>۷</sup> برای تحلیل زمان-فرکانس امواج مغزی بکار برده شد. امواج مغزی با استفاده از DWT به زیر باندهای فرکانسی تجزیه شدند. هر کدام از این زیر باندهای فرکانسی مربوط به یک باند طیف فرکانسی سیگنال مغزی می‌باشد.

## بررسی بافتی

پس از اتمام آزمایش‌ها و ثبت امواج مغزی، حیوان با دوز بالای کتامین بیهوش و سر حیوان توسط گیوتین از بدن جدا شد. مغز از جمجمه خارج شده و به مدت یک هفته در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. سپس با دستگاه ویبرو اسلایسر برش‌هایی با ضخامت ۴۰ میکرون تهیه شده و با روش کرزیل ویوله رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع رنگ‌آمیزی شده برای تأیید محل قرارگیری کانول در زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. فقط نمونه‌هایی که کانول در محل دقیق قرار گرفته بود، آنالیز شدند (تصویر ۱).



تصویر ۱- برش مغزی رنگ‌آمیزی شده توسط کرزیل ویوله (۱/۶ X). علامت پیکان، محل آسیب مکانیکی ایجاد شده توسط کانول در ناحیه S1po می‌باشد.

<sup>۶</sup> Faraday cage

<sup>۷</sup> Discrete wavelet transformation (DWT)

در دقیقه ۳۰ این نسبت، ۰/۱ افزایش و در دقیقه ۶۰، ۰/۴ کاهش در مقایسه با گروه کنترل را نشان داد. کاهش این نسبت در گروه وراپامیل در ۳۰ دقیقه اول ۰/۱ و در ۳۰ دقیقه دوم ۰/۵ نسبت به گروه کنترل محاسبه شد ( $P=0/65$ ) - (نمودار ۵).

### بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که توان زیر باندهای EEG در مدل حیوانی صرع کوچک پس از تزریق وراپامیل و اتوسوکسیماید دستخوش تغییرات معنی داری شده و درصد تغییرات توان زیر باند دلتا و تتا در مقایسه با گروه سالیین به طور کامل مشهود می باشد. توان یا مربع بزرگی امواج EEG و زیر باندهای آن به عنوان معیار قابل اعتمادی از همزمانی در نظر گرفته می شود. به عبارتی افزایش توان شاخصی از افزایش همزمانی است (۹). نتایج ما نشان داد که همزمانی امواج EEG و زیر باندهایش پس از مصرف داروهای ضد صرعی در مدل تشنجی صرع کوچک کاهش یافت، در حالی که نسبت توان موج تتا به آلفا تغییر معنی داری نداشت.

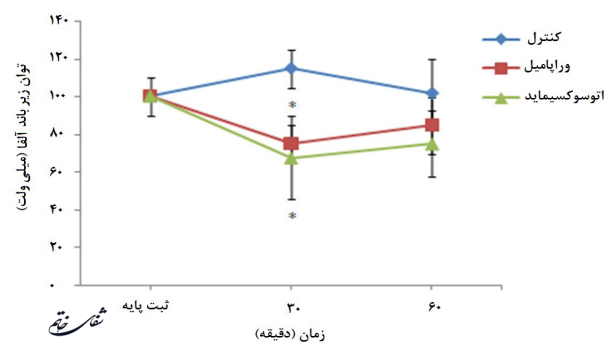
نتایج پژوهش ها تاکنون نشان داده اند که در شروع صرع در نواحی مستعد، فعالیت الکتریکی با ولتاژ بالا رخ می دهد و همزمانی بین زیر باندهای EEG افزایش می یابد (۱۰). Lee در مطالعه ای نشان داد که با شروع حملات صرعی نئوکورتیکال، امواج نیزه ای ریتمیک آلفا و تتا در الکتروانسفالوگرام مشاهده

در هیچ کدام از دو گروه وراپامیل و اتوسوکسیماید در دقیقه ۶۰ تغییرات معنی داری در توان موج تتا نسبت به کنترل مشاهده نشد ( $P=0/46$ ) - (نمودار ۲).

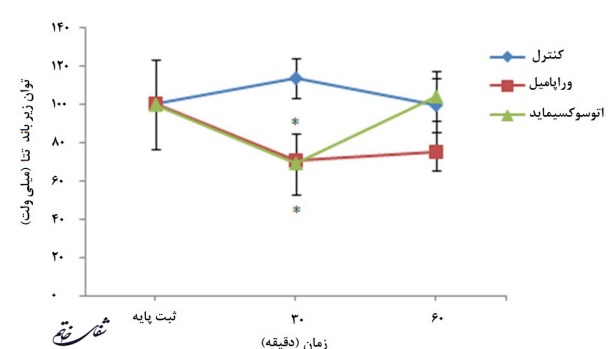
توان امواج آلفا در گروه وراپامیل و اتوسوکسیماید در دقیقه ۳۰ پس از تزریق نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد ( $F(15, 2)=8/37, P<0/05$ ). توان آلفا در گروه وراپامیل  $11/4 \pm 0.75$  و در گروه کنترل  $6/8 \pm 0.114/70$  بوده است که به اندازه  $39/62\%$  کاهش یافت. در گروه اتوسوکسیماید توان موج آلفا  $12/2 \pm 0.67/55$  بود که مقدار کاهش  $15/47\%$  می باشد. تغییر معنی داری در توان موج آلفا در دقیقه ۶۰ پس از تزریق وراپامیل و اتوسوکسیماید وجود نداشت ( $P=0/27$ ) - (نمودار ۳).

تغییرات معنی دار موج بتا در دقیقه ۳۰ پس از تزریق بین گروه اتوسوکسیماید در مقایسه با گروه کنترل و بین گروه وراپامیل در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ( $F(15, 2)=9/4, P<0/05$ ). در گروه اتوسوکسیماید  $13/6 \pm 0.66/47$  توان موج بتا نسبت به گروه کنترل  $5/3 \pm 0.124/80$ ،  $58/33\%$  کاهش یافت. همچنین  $46/76\%$  کاهش در گروه وراپامیل  $10/9 \pm 0.78/04$  در مقایسه با گروه کنترل ملاحظه گردید. توان موج بتا در دقیقه ۶۰ پس از تزریق، تغییر معنی داری را نشان نداد ( $P=0/55$ ) - (نمودار ۴).

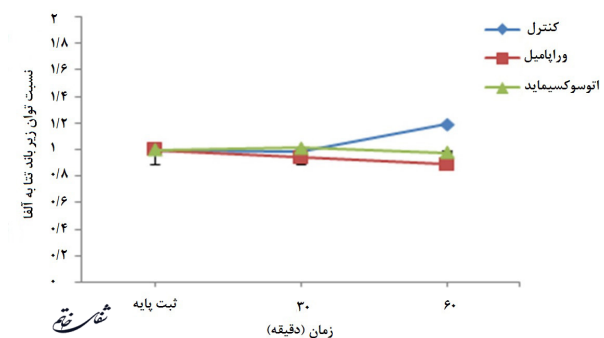
مقایسه نسبت توان موج تتا به آلفا بین گروه های اتوسوکسیماید و وراپامیل در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد. در گروه اتوسوکسیماید



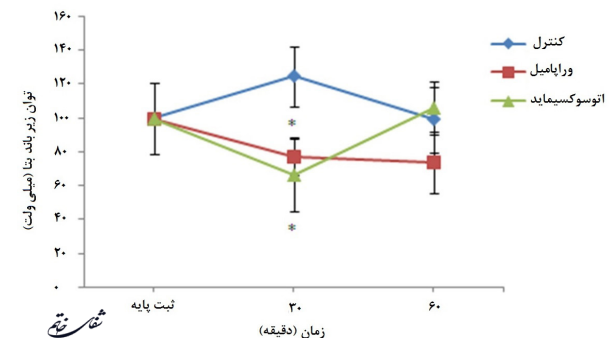
نمودار ۱- اثر تزریق وراپامیل (۴۰ میکرو مول) و اتوسوکسیماید (۹۰۰ میکروگرم) بر توان موج آلفا. اعداد به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نمایش داده شده اند.  $P<0/05$  \* معنی داری در مقایسه با سالیین به عنوان کنترل در بازه زمانی ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داروها را نمایش می دهد ( $n=6$ ).



نمودار ۲- اثر تزریق وراپامیل (۴۰ میکرو مول) و اتوسوکسیماید (۹۰۰ میکروگرم) بر توان موج تتا. اعداد به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نمایش داده شده اند.  $P<0/05$  \* معنی داری در مقایسه با سالیین به عنوان کنترل در بازه زمانی ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داروها را نمایش می دهد ( $n=6$ ).



نمودار ۳- اثر تزریق وراپامیل (۴۰ میکرو مول) و اتوسوکسیماید (۹۰۰ میکروگرم) بر نسبت توان زیر باند تتا به آلفا در بازه زمانی ۳۰ دقیقه ای بعد از تزریق داروها را نمایش می دهد ( $n=6$ ).



نمودار ۴- اثر تزریق وراپامیل (۴۰ میکرو مول) و اتوسوکسیماید (۹۰۰ میکروگرم) بر توان موج بتا. اعداد به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نمایش داده شده اند.  $P<0/05$  \* معنی داری در مقایسه با سالیین به عنوان کنترل در بازه زمانی ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داروها را نمایش می دهد ( $n=6$ ).



منشأ موج تتا، سپتوم میانی<sup>۱۰</sup> ناحیه هیپوکامپ بوده و آوران‌های کولینرژیک و گابائریک بر این امواج تأثیرگذار هستند (۲۳). بررسی‌های گذشته نشان داده است که آگونیست‌های فارماکولوژیک گیرنده‌های گلوتامات یا مهارکننده‌های گیرنده‌های گابا، منجر به افزایش فرکانس زیر واحد تتا و کاهش آلفا در نورون‌های قشری-تالاموس خواهند شد (۲۴، ۲۵). در موش‌های صرعی WAG/Rij اختلال در سیستم مهاری گابائریکی، کاهش میزان مهار پس سیناپسی، افزایش تعداد گیرنده‌های NMDA و افزایش عملکرد بالقوه سیستم تحرکی گلوتاماترژیک به اثبات رسیده است (۲۶).

وراپامیل از خانواده فنیل آلکیل آمین‌ها و بلوکه کننده کانال‌های کلسیمی نوع L است (۲۷). با تزریق داخل رگی وراپامیل، سطح هوشیاری و تنفس در بیماران مبتلا به صرع کوچک به حالت طبیعی برگشته و در ثبت‌های الکتروانسفالوگرافی آن‌ها نشانه‌هایی از حضور صرع دیده نشد (۲۸).

Greenhill و Jones نشان دادند اتوسوکسیماید که داروی انتخابی در درمان صرع کوچک است می‌تواند سطوح GABA<sup>۱۱</sup> را با افزایش آزادسازی انتقال‌دهنده عصبی GABA در سراسر مناطق مغزی و به‌طور خاص در قشر فرونتال و تالاموس افزایش دهد (۲۹). کانال‌های کلسیمی نوع L و T (CaV3.2) در پایانه‌های گلوتاماترژیک سیناپس‌های تحرکی قشر حسی-پیکری، تالاموس و هیپوکامپ قرار دارند و از طریق افزایش جابه‌جایی سدیم/کلسیم و فعال‌سازی کانال‌های پتاسیمی حساس به کلسیم داخل سلولی می‌توانند آزادسازی گلوتامات را افزایش دهند. اتوسوکسیماید و وراپامیل با مهار این کانال‌ها منجر به تضعیف سیستم گلوتاماترژیک خواهند شد (۳۰) و در سطح پایانه‌های پیش سیناپسی اینتر نورون‌های مهاری از راه مهار G پروتئین مزدوج با کانال پتاسیم منجر به آزادسازی و انتشار هرچه بیشتر ناقل عصبی گابا می‌شوند و از این روش منجر به تقویت سیستم مهاری گابائریکی می‌شوند (۳۱). اتوسوکسیماید و وراپامیل احتمالاً از طریق این مکانیسم‌ها تون مهاری و تحرکی را در هسته‌های مغزی تغییر داده و توان زیر باندهای امواج مغزی را کاهش می‌دهند.

از مباحث فوق می‌توان نتیجه گرفت که داروهای ضد تشنجی فوق بر توان زیر باندهای EEG تأثیر داشته باشند و آن‌ها را کاهش دهند ولی تأثیر چندانی بر نسبت توان تتا به آلفا ندارند و نمی‌توانند اختلالات یادگیری و هوشیاری ناشی از بروز صرع را بهبود بخشند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مرکز کمیته تحقیقات دانشجویی دانشکده علوم پزشکی تبریز برای حمایت مالی تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند.

می‌شوند (۱۶). بررسی دیگری که توسط Faught و همکاران در سال ۱۹۹۲ در بیماران مبتلا به صرع لوب گیجگاهی انجام شد، افزایش همزمانی را تنها در زیر باند تتا نشان داد (۱۵).

Besio و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که همزمانی زیر باندهای بتا و گاما در تشنج حاد القاء شده با پنتیلین تترازول افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد (۱۷). Bettus و همکاران طی نتیجه‌ای متناقض در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که در بیماران دچار صرع لوب گیجگاهی، توان زیر باندهای آلفا، بتا، گاما و دلتا تغییر معنی‌داری نداشت (۱۸).

Pinault و همکاران در سال ۲۰۰۶ عنوان کردند که ۷۳٪ از تخلیه‌های تشنجی ثبت شده از لایه V قشر حسی-پیکری و قشر پس‌سری در موش‌های صرعی WAG/Rij در محدوده ۵-۹ هرتز (امواج تتا) قرار دارند (۱۹). در مدل موش‌های صرعی GAERS<sup>۹</sup> نیز مشاهده شده است که در زمان تخلیه‌های تشنجی بیشتر امواج مغزی در محدوده امواج تتا و دلتا بوده است (۲۰). بر اساس مطالعات و آنالیزهای انجام شده در زمان وقوع SWDs در موش‌های صرعی WAG/Rij امواج تتا و دلتا با توان بیشتر و امواج آلفا با توان کمتری بروز می‌کنند و بیشترین موج مشاهده شده دلتا و تتا می‌باشند. افزایش این دو زیر باند برای وقوع SWDs در مدل تشنجی صرع کوچک لازم و ضروری است (۲۱). بنابراین به نظر می‌رسد که بسته به منطقه ثبت گرفته شده، مدل صرعی مطالعه شده، الکترودهای رفرنس و پروتکل مورد استفاده برای آنالیز داده‌ها نتایج متفاوت و گهگاه متناقضی که شامل افزایش، کاهش و عدم تغییر توان زیر باندهای EEG می‌باشد، به دست می‌آید.

مطالعات مربوط به نقش مغزی یا الکتروانسفالوگرافی کمی<sup>۹</sup> نشان می‌دهد که نسبت توان امواج تتا به آلفا که یک پارامتر اساسی برای مشخص کردن اختلالات یادگیری، خواندن، نوشتن و تمایز فضایی است، در کودکان مبتلا به ناهنجاری‌های آموزشی در مقایسه با کودکان عادی هم سن افزایش قابل توجهی پیدا کرده است. به این معنا که افزایش توان در طیف امواج دلتا و تتا، کاهش در قدر مطلق فعالیت آلفا و کاهش در فعالیت بتا، توانمندی‌های عصب‌شناختی گوناگون را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۲). این کودکان با تتای بالا و آلفای پایین‌تر نسبت به کودکان بهنجار هم سن خود مشخص می‌گردند.

این نتایج بیان می‌کنند که احتمالاً کاهش نسبت تتا به آلفا در این کودکان منجر به پیشرفت توانایی‌های رفتاری و بهنجارسازی شناختی خواهد شد (۱۱). از مطالب ذکر شده این‌چنین برداشت می‌شود در صورتی که داروهای ضد تشنجی قادر باشند توان این امواج را کاهش دهند، می‌توانند در سرکوب القای تشنجات و کاهش نسبت بتا به آلفا و کاهش اختلالات یادگیری در مبتلایان به صرع کوچک مفید واقع شوند.

<sup>۸</sup> Genetic absence epilepsy in rats from strasbourg

<sup>۹</sup> Quantitative electro encephalography: QEEG

<sup>۱۰</sup> Medial septum

<sup>۱۱</sup> gamma-Aminobutyric acid

1. Bergin PS, Sadleir LG, Walker EB. Bringing epilepsy out of the shadows in New Zealand. *N Z Med J*. 2008; 121(1268): U2894.
2. Gorji A, Mittag C, Shahabi P, Seidenbecher T, Pape H-C. Seizure-related activity of intralaminar thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Neurobiol Dis*. 2011; 43(1): 266-74.
3. Bowery NG. GABA B receptor: a site of therapeutic benefit. *Curr Opin Pharmacol*. 2006; 6(1): 37-43.
4. Snead OC 3rd. Pharmacological models of generalized absence seizures in rodents. *J Neural Transm Suppl*. 1992; 35: 7-19.
5. Subha DP, Joseph PK, Acharya R, Lim CM. EEG signal analysis: a survey. *J Med Syst*. 2010; 34(2): 195-212.
6. Goel P, Liu H, Brown D, Datta A. On the use of spiking neural network for EEG classification. *International Journal of Knowledge-Based and Intelligent Engineering Systems*. 2008; 12(4): 295-304.
7. Başar E, Başar-Eroglu C, Karakaş S, Schürmann M. Gamma, alpha, delta, and theta oscillations govern cognitive processes. *Int J Psychophysiol*. 2001; 39(2): 241-8.
8. Motaghi S, Niknazar M, Sayyah M, Babapour V, Vosoughi Vahdat B, Shamsollahi MB. Alterations of the electroencephalogram sub-bands amplitude during focal seizures in the pilocarpine model of epilepsy. *Physiol Pharmacol*. 2012; 16(1): 11-20.
9. Sebban C, Zhang X, Tesolin-Decros B, Millan M, Spedding M. Changes in EEG spectral power in the prefrontal cortex of conscious rats elicited by drugs interacting with dopaminergic and noradrenergic transmission. *Br J Pharmacol*. 1999; 128(5): 1045-54.
10. Leung LS. Generation of theta and gamma rhythms in the hippocampus. *Neurosci Biobehav Rev*. 1998; 22(2): 275-90.
11. Khanjani Z, Mahdavian H, Ahmadi P, Hashemi T, Fathollah Pour L. Comparison between the effect of neurofeedback and Fernald's multisensory approach on treating children with dyslexia. *Journal of Psychology of Exceptional Individuals*. 1391; 2(8): 117-48.
12. Pinault D. Cellular interactions in the rat somatosensory thalamocortical system during normal and epileptic 5-9 Hz oscillations. *J Physiol*. 2003; 552(3): 881-905.
13. Sadighi M, Shahabi P, Gorji A, Pakdel FG, Nejad GG, Ghorbanzade A. Role of L-and T-type calcium channels in regulation of absence seizures in Wag/Rij Rats. *Neurophysiology*. 2013; 45(4): 312-8.
14. Van Luijckelaar G, Wiaderna D, Elants C, Scheenen W. Opposite effects of T-and L-type Ca<sup>2+</sup> channels blockers in generalized absence epilepsy. *Eur J Pharmacol*. 2000; 406(3): 381-9.
15. Faught E, Kuzniecky RI, Hurst DC. Ictal EEG wave forms from epidural electrodes predictive of seizure control after temporal lobectomy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1992; 83(4): 229-35.
16. Lee SA, Spencer DD, Spencer SS. Intracranial EEG seizure-onset patterns in neocortical epilepsy. *Epilepsia*. 2000; 41(3): 297-307.
17. Besio WG, Liu X, Wang L, Medvedev AV, Koka K. Transcutaneous focal electrical stimulation via concentric ring electrodes reduces synchrony induced by pentylenetetrazole in beta and gamma bands in rats. *Int J Neural Syst*. 2011; 21(02): 139-49.
18. Bettus G, Wendling F, Guye M, Valton L, Régis J, Chauvel P, et al. Enhanced EEG functional connectivity in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 2008; 81(1): 58-68.
19. Pinault D, Slézia A, Acsády L. Corticothalamic 5-9 Hz oscillations are more pro-epileptogenic than sleep spindles in rats. *J Physiol*. 2006; 574(1): 209-27.
20. Pinault D, Vergnes M, Marescaux C. Medium-voltage 5-9 Hz oscillations give rise to spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy: in vivo dual extracellular recording of thalamic relay and reticular neurons. *Neuroscience*. 2001; 105(1): 181-201.
21. Sitnikova E, Van Luijckelaar G. Cortical and thalamic coherence during spike-wave seizures in WAG/Rij rats. *Epilepsy Res*. 2006; 71(2): 159-80.
22. Fernandez T, Herrera W, Harmony T, Diaz-Comas L, Santiago E, Sanchez L, et al. EEG and behavioral changes following neurofeedback treatment in learning disabled children. *Clin Electroencephalogr*. 2003; 34(3): 145-52.
23. Bland BH. The physiology and pharmacology of hippocampal formation theta rhythms. *Prog Neurobiol*. 1986; 26(1): 1-54.

24. Marrosu F, Santoni F, Fà M, Puligheddu M, Barberini L, Genugu F, et al. Beta and gamma range EEG power-spectrum correlation with spiking discharges in DBA/2J mice absence model: role of GABAB receptors. *Epilepsia*. 2006; 47(3): 489-94.
25. Hughes SW, Crunelli V. Thalamic mechanisms of EEG alpha rhythms and their pathological implications. *Neuroscientist*. 2005; 11(4): 357-72.
26. Luhmann HJ, Mittmann T, Van Luijelaar G, Heinemann U. Impairment of intracortical GABAergic inhibition in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Res*. 1995; 22(1): 43-51.
27. Triggie DJ. Calcium-channel drugs: structure-function relationships and selectivity of action. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991; 18 Suppl 10: S1-6.
28. Iannetti P, Spalice A, Parisi P. Calcium-channel blocker verapamil administration in prolonged and refractory status epilepticus. *Epilepsia*. 2005; 46(6): 967-9.
29. Greenhill S, Jones RS. Diverse antiepileptic drugs increase the ratio of background synaptic inhibition to excitation and decrease neuronal excitability in neurones of the rat entorhinal cortex in vitro. *Neuroscience*. 2010; 167(2): 456-74.
30. Lashgari R, Motamedi F, Noorbakhsh SM, Zahedi-Asl S, Komaki A, Shahidi S, et al. Assessing the long-term role of L-type voltage dependent calcium channel blocker verapamil on short-term presynaptic plasticity at dentate gyrus of hippocampus. *Neurosci Lett*. 2007; 415(2): 174-8.
31. Deisz R, Prince D. Frequency-dependent depression of inhibition in guinea-pig neocortex in vitro by GABAB receptor feed-back on GABA release. *J Physiol*. 1989; 412(1): 513-41.