

# تأثیر آمی تریپتیلین بر تثبیت حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی نر صرعی القاء شده با پنتیلین تترازول

ناصر میرازی<sup>۱</sup>، سهیلا نیازی<sup>۱</sup>، عبدالکریم حسینی<sup>۲</sup><sup>۱</sup>گروه زیست شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، <sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۰/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۲

## چکیده

**زمینه و هدف:** صرع یک اختلال بسیار پیچیده نورونیک می‌باشد. صرع مزمن می‌تواند حافظه و یادگیری را با تغییرات عصبی-شیمیایی در نواحی مغزی تحت تأثیر قرار دهد. آمی تریپتیلین جزو داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای می‌باشد که دارای اثرات ضد درد نیز می‌باشد. هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر آمی تریپتیلین بر تثبیت حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی نر صرعی القاء شده با پنتیلین تترازول بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۰ انجام شد، ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. موش‌ها در ۴ گروه ۷ سری به طور تصادفی تقسیم شدند؛ کنترل (۰/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین)، گروه شاهد (PTZ، ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، گروه تجربی ۱ (PTZ+ آمی تریپتیلین، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، گروه تجربی ۲ (PTZ+ آمی تریپتیلین، ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، لذا تمامی تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام شد. پس از تجویز آمی تریپتیلین به سرعت رفتارهای تشنجی به مدت ۱ ساعت مشاهده و ثبت شد. آزمون رفتار اجتنابی غیر فعال، آزمون اکتساب حافظه و آزمون بازیابی حافظه در موش‌های مورد آزمون صورت گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک، آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که تأخیر در حرکات میوکلونیک در گروه‌های درمان شده با آمی تریپتیلین نسبت به گروه PTZ افزایش پیدا کرد ( $p < 0/01$ )، هم‌چنین نشان داده شد که تأخیر بازیابی حافظه در گروه PTZ نسبت به گروه کنترل از کاهش معنی‌داری برخوردار می‌باشد ( $p < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** آمی تریپتیلین قادر است میزان تشنجات ناشی از تزریق PTZ در موش‌ها را کاهش دهد. هم‌چنین این دارو تأثیر مثبتی بر بازیابی حافظه در موش‌ها دارد.

**واژه‌های کلیدی:** آمی تریپتیلین، پنتیلین تترازول، تثبیت حافظه، صرع، موش صحرایی

\*نویسنده مسئول: ناصر میرازی، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، گروه زیست شناسی

Email: mirazi205@gmail.com

## مقدمه

صرع مجموعه‌ای از اختلالات عصبی مزمن پزشکی یا بلند مدت که با علامت تشنج مشخص می‌شود، می‌باشد. این تشنجه‌ها ممکن است بسیار خفیف و تقریباً غیرقابل شناسایی بوده یا برعکس طولانی مدت و با لرزش شدید همراه باشد. در صرع تشنجه‌ها به طور مکرر روی می‌دهد و هیچ دلیل ثابت و مشخصی ندارد، در حالی که تشنج‌هایی را که به دلایل خاص روی می‌دهد، نباید به عنوان تشنج صرعی تلقی کرد (۱). بعد از سگته مغزی بیماری صرع شایع‌ترین بیماری تحلیل برنده عصبی تکرار شونده است (۲). صرع مزمن می‌تواند حافظه و یادگیری را با تغییرات عصبی-شیمیایی در نواحی مجزای مغزی متأثر کند (۳). میزان بروز صرع در کشورهای در حال توسعه بیشتر از کشورهای توسعه یافته است که این را می‌توان با ساختارهای متفاوت جمعیت‌های در معرض خطر مرتبط دانست (۴). در بیماری صرع تشنج‌های صرعی ظاهر می‌شود. این تشنجه‌ها به عنوان یک عملکرد غیر طبیعی و ناگهانی در بدن دیده می‌شود و غالباً با از دست دادن هوشیاری، افزایش در فعالیت عضلات، اختلال حافظه، اختلال عصبی و احساسات غیر طبیعی همراه است (۵). تشنج‌های صرعی ممکن است بعد از آسیب‌های حاد دستگاه عصبی مرکزی ایجاد شود (مثل آسیب‌های ساختاری، سیستمی، سمی یا متابولیکی). این تشنج‌های حاد علامتی یا تحریک شده به عنوان تظاهرات آسیب‌های حاد در نظر گرفته شده است (۶). بر اساس علایم بالینی و ناهنجاری‌های موجود در

نوار مغز، تشنج‌های منتشر خود به انواع غیابی (Absence seizure)، تونیک-کلوونیک، میوکلونیک-آتونیک، تونیک و کلوونیک تقسیم می‌شوند (۷). تشنج غیابی به مجموعه تشنج‌هایی گفته می‌شود که در آن فرد هوشیاری خود را از دست می‌دهد و نیمه‌خواب به نظر می‌رسد و نمی‌توان او را بیدار نمود. این حملات کمابیش در کودکان سنین ۸-۴ سال اتفاق می‌افتد و ممکن است تا ۲۰۰ بار در روز تکرار شود (۸). کاربامازپین و فنی‌توئین جزو داروهای رایج ضد صرعی محسوب می‌شوند که با بلوکه کردن بلندمدت کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ، باعث کنترل صرع می‌شوند (۹). فنی‌توئین باعث کاهش شدت تشنج و فرکانس پتانسیل‌های عمل در حیوانات کیندله شده می‌شود. یافته‌های عصبی-شیمیایی مشخص کرده‌اند که در حیواناتی که با فنی‌توئین درمان شده‌اند استیل‌کولین استراز افزایش یافته که این افزایش باعث اختلال حافظه در این حیوانات شده است (۱۰). پنتیلین‌تترازول (Pentylentetrazole, PTZ)، یک آنتاگونیست گیرنده‌های گابا می‌باشد و برای القای تشنج‌های غیابی و منتشر مناسب می‌باشد. بیشتر از یک قرن است که نقش هیپوکمپ در پاتوژنز و اتیولوژی صرع لوب گیجگاهی مشخص شده است (۱۱). برداشتن انتخابی بخش گیجگاهی-قدامی به ویژه هیپوکمپ، مؤثرترین درمان برای صرع لوب گیجگاهی غیر قابل کنترل می‌باشد. با این حال با توجه به نقش این بخش از مغز در عملکرد حافظه با برداشتن آن می‌تواند اثرات بسیار منفی بر حافظه

عصبی مرکزی و تثبیت حافظه و بالابردن میزان یادگیری از جمله مواردی است که در مورد داروی آمی‌تریپتیلین ضرورت کامل دارد. از آنجایی که تا کنون در ارتباط با اثر داروی آمی‌تریپتیلین در ممانعت از بروز صرع و تثبیت حافظه و یادگیری در مدل‌های حیوانی صرعی شده با پنتیلین تترازول تحقیقی صورت نگرفته است بر آن شدیم تا با این پژوهش به بررسی چنین اثراتی بپردازیم. تأثیر آمی‌تریپتیلین بر تثبیت حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی نر صرعی القاء شده با پنتیلین تترازول بود.

#### روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۰ و در گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه بوعلی‌سینا انجام شد، ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط و با دمای  $20 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و با چرخه روزانه ۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. همه آزمایش‌ها برای کاهش اثر چرخه نور بر حساسیت به تشنج بین ساعت ۱۲ - ۹ صبح انجام شد. در این مطالعه کلیه موارد اخلاقی در پژوهش رعایت شده است و تمامی اعمال جراحی و نمونه‌گیری‌ها در حیوانات تحت بی‌هوشی کامل صورت گرفت. انجام این کار با در نظر گرفتن ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات

بگذارد (۱۲). اکثر تشنجات ناشی از صرع در ساختارهای قشری و هیپوکمپی تولید می‌شوند. داروهای ضدافسردگی به خصوص ضدافسردگی‌های سه حلقه‌ای برای کاهش شدت انواع درد از جمله دردهایی که بر اثر آسیب بافتی ناشی از محرک‌های مکانیکی، فیزیکی، گرمایی، توکسیک یا غیرتوکسیک ایجاد می‌شود و دردهای نوروپاتیک که ناشی از فشار بر روی عصب یا ریشه آن، یا درد حاد و مزمنی که پس از قطع یا التهاب عصب در اثر ضایعات التهابی و پلی‌نورپاتی ایجاد می‌شود به کار رفته‌اند (۱۳). آمی‌تریپتیلین دارویی است که در درمان افسردگی در بزرگسالان کاربرد دارد (۱۴). این دارو در طبقه‌بندی داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای قرار می‌گیرد. داروهای سه حلقه‌ای، از جذب مجدد انتقال دهنده‌های عصبی سرتونین و نوراپی نفرین جلوگیری می‌کنند. ساختار مرکزی سه حلقه‌ای، همراه با یک زنجیره جانبی، ساختار اصلی داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای می‌باشد. آمی‌تریپتیلین یک آمین سوم است و دارای ترکیبات اتصال قوی برای گیرنده‌های آلفا<sub>۱</sub>درنرژیک، هیستامینی (گیرنده H<sub>1</sub>) و موسکارینی (گیرنده M<sub>1</sub>) است (۱۵). جدیدترین مرسوم‌ترین داروهای ضدصرع که انواع مختلف تشنج با آنها کنترل می‌شود نه تنها قادر به کنترل تشنج در برخی از بیماران نیستند، بلکه باعث بروز عوارض جانبی هم می‌شوند. عوارض جانبی دلیل مهم شکست کنترل با داروهای ضد صرع هستند (۱۶). شناخت بیشتر اثرات ضد صرعی و محافظت از دستگاه

آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه بوعلی سینا به انجام رسید.

موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۷ سری تقسیم‌بندی شدند؛ گروه کنترل دریافت‌کننده سالیین نرمال (۰/۵ میلی‌لیتر، داخل صفاقی)، گروه شاهد دریافت‌کننده PTZ (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، گروه تجربی ۱ دریافت‌کننده PTZ (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن + آمی‌تریپتیلین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و گروه تجربی ۲ دریافت‌کننده PTZ (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن + آمی‌تریپتیلین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن).

تشنج در موش‌ها به صورت تزریق داخل صفاقی PTZ به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ایجاد شد (۱۷). محلول‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آمی‌تریپتیلین تهیه و به صورت تزریق داخل صفاقی صورت گرفت. به منظور ثبت و اندازه‌گیری رفتار تشنجی حیوانات به صورت انفرادی در جعبه‌های شفاف پلاستیکی منتقل شدند و به سرعت بعد از تزریق PTZ رفتار تشنجی به مدت ۱ ساعت مشاهده و ثبت شد. علایم ثبت شده با مقیاس راسین (Racine's Scale) پس از تزریق PTZ در شش مرحله مورد بررسی قرار گرفت (۱۸). این مراحل در جدول ۱ مشاهده می‌گردد.

آزمون اجتنابی غیر فعال: در این آزمون که برای بررسی حافظه غیراظهاری در جانوران کوچک آزمایشگاهی در اختلالات عصبی طراحی شده است،

حیوان یاد می‌گیرد از محرک‌های دردزا دوری نماید. چونندگان به طور ذاتی تمایل دارند که در محیط تاریک به جستجوی خود ادامه دهند، اما در این آزمون حیوان یاد می‌گیرد که وارد محیط تاریک نشود (به دلیل دریافت شوک الکتریکی). در این آزمون از دستگاه شاتل باکس استفاده گردید و در محیط تاریک شاتل باکس به وسیله دستگاه الکتروشوک، جریان الکتریکی با شدت ۱ میلی‌آمپر با فرکانس ۵۰ هرتز به مدت ۳ ثانیه به موش‌ها وارد گردید. پس از عادی سازی اولیه، همه موش‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. سپس موش‌ها به آرامی در محیط روشن شاتل باکس قرار داده شده و بعد از ۵ ثانیه دریچه گیوتینی بین دو اتاقک تاریک و روشن شاتل باکس باز شد و به موش‌ها اجازه ورود به اتاقک تاریک داده شد. زمان تأخیر اولیه (STLa) یعنی مدت زمانی که طول می‌کشد تا موش از اتاقک روشن وارد اتاقک تاریک شود ثبت گردید. بعد از ورود موش به اتاقک تاریک، دریچه گیوتینی بسته و پس از گذشت ۱۰ ثانیه، موش به قفس خود برگردانده شد. موش‌هایی که زمان تأخیر ورود اولیه آنها به اتاقک تاریک بیشتر از ۱۲۰ ثانیه طول بکشد از آزمایش حذف شدند (۱۹).

۳۰ دقیقه بعد از انجام آزمایش ابتدایی، موش‌ها از قفس خود به اتاقک روشن برگردانده شدند. بعد از گذشت زمان ۵ ثانیه دریچه گیوتینی برداشته شد و پس از ورود موش‌ها به اتاقک تاریک، شوک

## یافته‌ها

در این مطالعه در گروه‌های مورد آزمون نتایج حاصل شده در خصوص تأخیر حرکات میوکلونیک در گروه‌های مورد آزمایش نشان داد که تأخیر در حرکات میوکلونیک در گروه‌های درمان شده با آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه PTZ افزایش معنی‌داری را پیدا کرده است. در گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، تأخیر در حرکات میوکلونیک نسبت به گروه PTZ با اختلاف افزایش معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) و در گروه درمانی با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، با افزایش معنی‌داری ( $p < 0.001$ ) همراه بود. تأخیر در حرکات میوکلونیک در گروه درمانی با مقدار کم نسبت به مقدار زیاد اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) همراه می‌باشد (نمودار ۱).

در این بررسی در گروه‌های مورد آزمون نتایج حاصل شده در خصوص تعداد حرکات میوکلونیک در گروه‌های مورد آزمون نشان داد که تعداد حرکات میوکلونیک در گروه‌های درمان شده با آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه PTZ کاهش پیدا کرد ( $p < 0.01$ ). در گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین و در گروه درمانی با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین، با کاهش معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) همراه بود. تعداد حرکات در بین گروه‌های درمانی با مقادیر کم و زیاد فاقد اختلاف معنی‌دار شد (نمودار ۲).

الکتریکی به موش‌ها داده شد (شدت ۱ میلی‌آمپر با فرکانس ۵۰ هرتز به مدت ۳ ثانیه). پس از گذشت ۱۵ الی ۲۰ ثانیه موش‌ها به قفس خود برگردانده شدند. بعد از گذشت ۲ دقیقه دوباره موش‌ها در اتاقک روش قرار داده شده و دریچه گیوتینی باز شد. اگر حیوان وارد اتاقک تاریک شود دوباره شوک دریافت خواهد کرد. این کار تا زمانی که موش تا ۲ دقیقه در اتاقک روشن بماند و وارد اتاقک تاریک نشود ادامه پیدا کرد. در این آزمایش تعداد شوک‌هایی که به موش داده می‌شود (NT) و تأخیر اولیه (IL) و تأخیر بازیابی (RL) و همچنین کل زمان صرف شده در اتاقک روشن (TLC) محاسبه و ثبت گردید (۲۱ و ۲۰).

۲۴ ساعت بعد از آموزش حافظه به موش‌ها، آزمون بازیابی حافظه بلندمدت موش‌ها انجام شد. در این آزمون موش در اتاقک روشن قرار داده شد و ۲۰ ثانیه بعد دریچه گیوتینی برداشته شد. مدت زمانی که طول می‌کشد تا موش وارد اتاقک تاریک شود (STLr) ثبت گردید. هنگامی که موش وارد اتاقک تاریک شد پایان آزمون در نظر گرفته شد و در صورتی که موش به مدت ۵ دقیقه (۳۰۰ ثانیه) وارد اتاقک تاریک نشود آزمون خاتمه یافته تلقی می‌گردد و امتیاز این موش ۳۰۰ در نظر گرفته می‌شود.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism و آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک، آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

در این پژوهش نتایج حاصل از عامل تأخیر تشنج عمومی تونیک - کلونیک (GTCS) در گروه‌های مورد آزمون نشان داد که عامل تأخیر در گروه‌های درمان شده با آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه دریافت‌کننده PTZ افزایش معنی‌داری را داشتند ( $p < 0.001$ ). در گروه تیمار ۲ و  $p < 0.05$  در گروه تیمار ۱، همچنین این تأخیر در بین دو گروه تیمار شده فاقد اختلاف معنی‌دار بود (نمودار ۳).

نتایج به دست آمده مدت زمان GTCS در گروه‌های مورد آزمون نشان داد که در گروه‌های تحت درمان با آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه دریافت‌کننده PTZ کاهش معنی‌داری را پیدا کردند ( $p < 0.001$ ). این در حالی بود که اختلاف حاصل شده در این خصوص بین گروه‌های درمان شده با مقادیر کم و زیاد آمی‌تریپتیلین فاقد هر گونه اختلاف معنی‌داری می‌باشد (نمودار ۴).

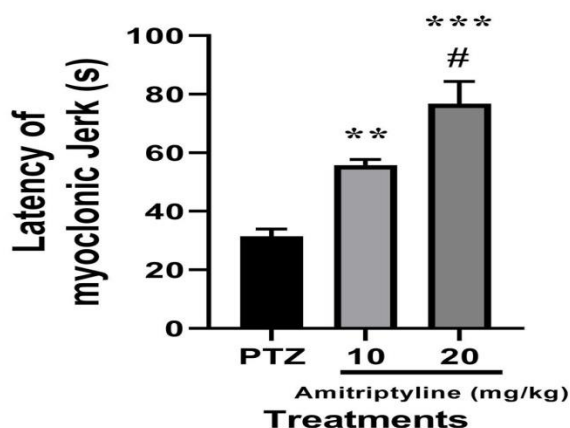
در این بررسی در گروه‌های مورد آزمون نتایج حاصل شده در خصوص تأخیر بازیابی (زمانی که موش هر دو پای خود را در اتاقک تاریک وارد می‌کند) نشان داد که تأخیر بازیابی در گروه دریافت‌کننده PTZ از کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل برخوردار می‌باشد ( $p < 0.001$ ). تأخیر بازیابی در

گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین تفاوت معنی‌داری را با گروه دریافت‌کننده PTZ نشان نداد، ولی در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری در این گروه دیده شد ( $p < 0.05$ ). این تأخیر در گروه درمانی با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نداشت، در حالی که در مقایسه با گروه دریافت‌کننده PTZ اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۵).

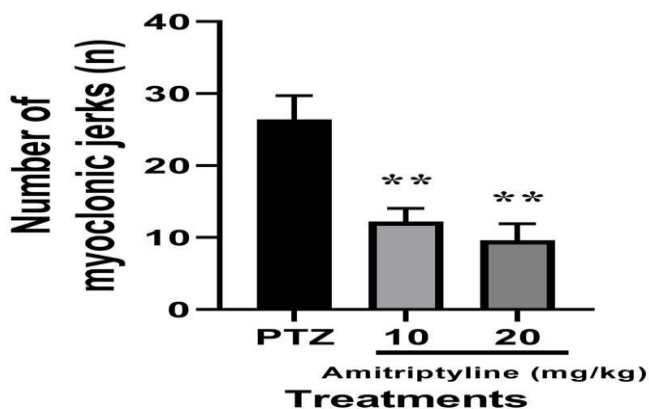
در گروه‌های مورد آزمون نتایج حاصل شده در خصوص میزان زمان کل صرف شده در اتاقک روشن نشان داد که گروه دریافت‌کننده PTZ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0.001$ ). در گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین میزان TLC نسبت به گروه کنترل ( $p < 0.001$ ) و در گروه درمانی با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه کنترل ( $p < 0.001$ ) دارای کاهش معنی‌داری بود. همچنین میزان TLC در گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه دریافت‌کننده PTZ دارای افزایش معنی‌دار ( $p < 0.001$ ) و در گروه درمانی با مقدار زیاد آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه دریافت‌کننده PTZ از افزایش معنی‌داری برخوردار بود ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۶).

جدول ۱: مقیاس راسین برای تشنج ناشی از تزریق PTZ در موش‌های صحرایی (۲۲)

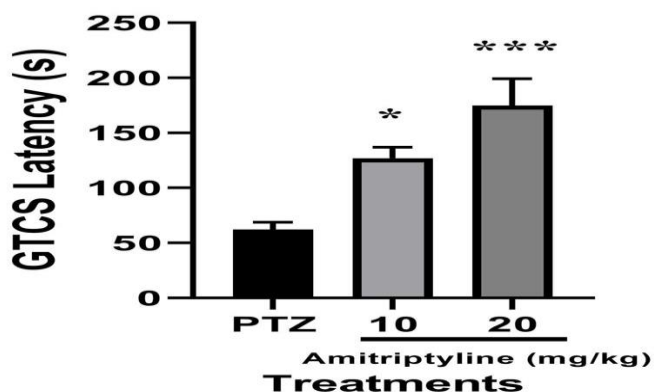
نمره	تظاهرات رفتاری
۰	۱. علامت رفتاری ندارد
۱	۲. انقباض گوش و صورت
۲	۳. تکان دادن سر و تکان‌های میوکلونیک
۳	۴. کلونوس یک طرفه پیشانی با حالت لوردیک
۴	۵. کلونوس دوطرفه با رشد و سقوط
۵	۶. تشنج عمومی تونیک کلونیک با از دست دادن حالت وضعیتی



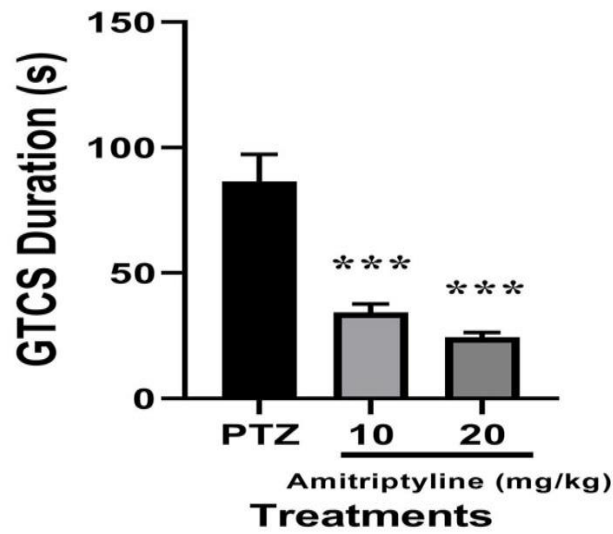
نمودار ۱: مقایسه تأخیر در حرکات میوکلونیک در موش‌های مورد آزمون  
 \* نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه PTZ. # نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه درمانی با مقدار کم آمی‌تریپتیلین ( $p < 0.001$ ), (\*\* $p < 0.01$ ), ( $p < 0.05$ ).



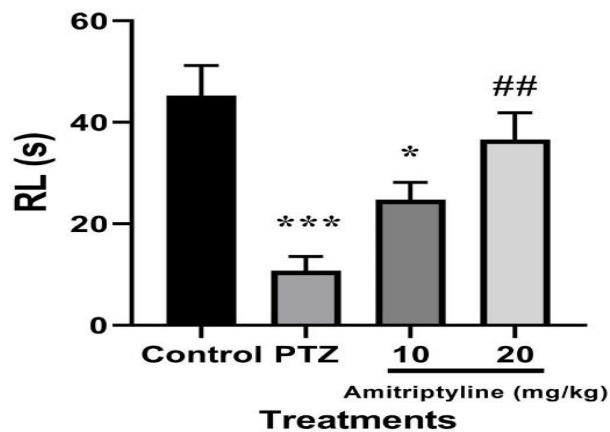
نمودار ۲: مقایسه تعداد حرکات میوکلونیک در موش‌های مورد آزمون  
 \* نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه PTZ، ( $p < 0.01$ )



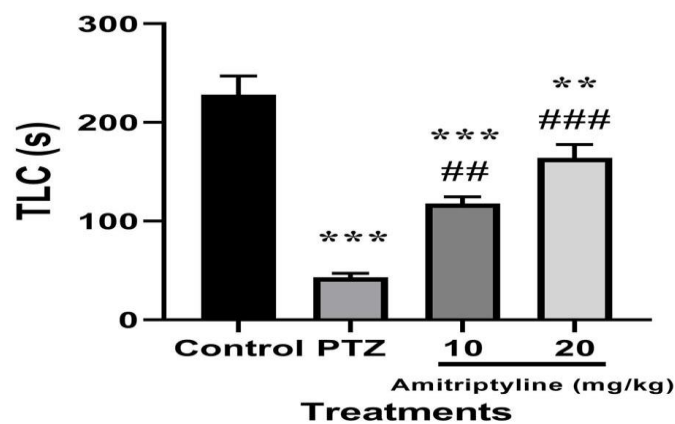
نمودار ۳: مقایسه تأخیر تشنج عمومی تونیک - کلونیک (GTCS Latency) در موش‌های مورد آزمون  
 \* نشانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه PTZ، ( $p < 0.001$ ), (\*\* $p < 0.01$ ), ( $p < 0.05$ ).



نمودار ۴: مقایسه مدت زمان تشنج عمومی تونیک - کلونیک (GTCS Duration) بر حسب ثانیه در گروه‌های مورد آزمون \* نشانگر اختلاف معنی دار نسبت به گروه PTZ ( $***p < 0.001$ ).



نمودار ۵: مقایسه تأخیر بازیابی (Retrieval Latency, RT) بر حسب ثانیه در گروه‌های مورد آزمون. \* نشانگر اختلاف معنی دار نسبت به گروه PTZ. ( $***p < 0.001$ ), ( $*p < 0.05$ ), ( $##p < 0.01$ ).



نمودار ۶: مقایسه کل زمان صرف شده در اتاقک روشن در گروه‌های مورد آزمون \* نشانگر اختلاف معنی دار نسبت به گروه PTZ. ( $***p < 0.001$ ), ( $**p < 0.01$ ), ( $*p < 0.05$ ), ( $###p < 0.001$ ), ( $##p < 0.01$ ).



## بحث

صرع تنها یک بیماری نیست بلکه یک نشانه بیماری است که می‌تواند بر اثر اختلالات متعددی به وجود آید. علت اصلی رخ دادن صرع می‌تواند عوامل ژنتیکی یا مشکلات ساختاری یا متابولیک باشد، این در حالی است که در ۶۰ درصد موارد، علت آن نامشخص است. صرع می‌تواند اثرات مضر روی رفاه روانی-اجتماعی داشته باشد. این اثرات احتمالاً شامل انزوای اجتماعی، بدنام شدن و یا ناتوانی است (۲۳).

این بیماری در صورت عدم درمان و کنترل، باعث عوارض مغزی ماندگار، ناهنجاری‌های شخصیتی، عقب ماندگی‌های ذهنی و اختلال در انجام فعالیت‌های روزانه فرد در زندگی می‌شود. تغییر در برخی از سیستم‌های نوروترانسمیتری کلاسیک همانند سیستم گابارژیک و گلوتامارژیک در به وجود آمدن تشنجات صرعی دخالت دارند (۲۴). تشنجات صرعی تعاملات وسیعی بین ساختمان‌های قشری و زیر قشری دارد. گلوتامات باعث آسیب به نورون‌های مخچه‌ای می‌شود و سبب از بین رفتن سلول‌های پورکینز که تنها مسیر خروجی قشر مخچه است می‌شود (۳).

اگرچه تشنج ناشی از PTZ یکی از مرسوم‌ترین مدل‌های تجربی تشنج در حیوانات می‌باشد، مکانیسم‌هایی که به وسیله آن ایجاد می‌شود هنوز به طور کامل شناخته نشده است. اغلب بر این موضوع توافق دارند که یکی از مکانیسم‌هایی که PTZ می‌تواند باعث تشنج گردد از طریق مهار کانال‌های یونی

GABA<sub>A</sub> می‌باشد که اختلال در مسیر بازدارندگی عصبی از این راه حاصل می‌گردد (۲۵). در پژوهشی که به وسیله هو و همکاران انجام شد نشان داده شد که آمی‌تریپتیلین بر حافظه و یادگیری در مدل‌های آزمایشی درد نوروپاتیک در موش‌های صحرایی تأثیرگذار است (۲۶). آمی‌تریپتیلین یک داروی ضد افسردگی سه حلقه‌ای می‌باشد که دارای اثرات فارماکولوژیکی مهار بازجذب مونوآمین‌هایی نظیر نورآدرنالین و سروتونین و انسداد گیرنده‌های موسکارینی و هیستامینی می‌شود (۲۷). هدف از این مطالعه بررسی اثرات آمی‌تریپتیلین بر حافظه و یادگیری در موش‌های مدل صرعی شده با پنتیلین تترازول بود. نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که آمی‌تریپتیلین از نظر آماری تأثیر قابل توجهی در تظاهرات رفتار تشنجی در مقایسه با گروه PTZ داشتند. به طوری که تأخیر در حرکات میوکلونیک در گروه درمان با آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه PTZ افزایش یافت، اما تعداد حرکات میوکلونیک و GTCS در گروه‌های درمانی با آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه PTZ کاهش داشت. این امر نشان می‌دهد که آمی‌تریپتیلین باعث کاهش تعداد تشنجات صرعی و همچنین تأخیر در شروع تشنجات می‌شود (۲۲). همچنین تست PA نشان داد که PTZ کاهش RL و TLC و در نتیجه اختلال حافظه در موش‌های دریافت کننده PTZ شده است. در پژوهشی نشان داده شد که PTZ باعث کاهش TLC و STL (تأخیر گام) و در نتیجه اختلال حافظه می‌گردد. در این مطالعه نشان داده شد که PTZ با سایت‌های

تشخیص بنزودیازپینی گیرنده GABA و اکنش نشان می‌دهد و عملکرد گیرنده‌های گابارژیگی را کاهش می‌دهد. همچنین پیش‌درمانی با راپامایسین بیان ژن گابار ۱ را افزایش می‌دهد. به این ترتیب با تأثیر بر سیگنال‌های گابارژیگی می‌تواند حساسیت به تشنج را کاهش دهد و میزان TLC و STL را افزایش داده و در نتیجه باعث بهبود عملکرد حافظه شود (۲۸).

در حال حاضر بیشتر موارد تشنج‌های صرعی با داروی‌های ضد صرع (AEDs) درمان یا کنترل می‌شوند که محدودیت‌هایی در عملکرد، ایمنی و اثر بخشی دارند (۲۹). اگر چه پژوهش‌های زیادی در مورد چگونگی ابتلا به بیماری‌های هم‌زمان با صرع وجود دارد، اما اطلاعات کمی در مورد مکانیسم چگونگی تشنج تعمیم یافته یا حاد که باعث اختلال حافظه مرتبط با یادگیری می‌شود وجود دارد (۳۰). در تحقیقی اثرات داروی بنزودیازپام بر روی کنترل تشنج مورد بررسی قرار گرفت. دیازپین‌ها خط اول درمان صرع محسوب می‌گردند، اما عوارض جانبی آنها مانع استفاده گسترده آنها می‌باشد. این داروها با اثر بر روی گیرنده‌های GABA<sub>A</sub> و زیر گونه‌های آن، قادرند نقش مؤثری در کنترل علائم صرع داشته باشند (۳۱). در مطالعه‌ای تحلیلی که در کشور انگلستان انجام شد استفاده از داروهای ضدافسردگی در کنترل صرع به وجود عوامل خطر ساز استفاده از این داروها در کنترل صرع اشاره شده است (۳۲). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تشنج حاد علاوه بر اختلال در حافظه، با افزایش استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های اکسیژن

فعال و واکنش‌پذیر همراه است. شواهد بسیاری وجود دارد که وجود استرس اکسیداتیو نقش اساسی در ایجاد تشنج دارد و باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و کاهش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۳۳). تأثیر آمی‌تریپتیلین بر RL و TLC و افزایش قابل توجه آن‌ها در مقایسه با گروه PTZ، موجب معکوس شدن اثر اختلال حافظه ناشی از تزریق PTZ در موش‌ها می‌شود و این نشان می‌دهد که آمی‌تریپتیلین نقش محافظتی در برابر تشنج و اختلال حافظه ناشی از تشنج را دارد. پژوهش‌های مختلفی نشان داده‌اند که آمی‌تریپتیلین در درمان درد مؤثر است. در مطالعه‌ای نشان داده شد که آمی‌تریپتیلین و فنی‌توئین از نقص حافظه در مدل درد نوروپاتیک حاصل از انسداد عصب سیاتیک در موش‌های صحرایی جلوگیری می‌کند (۳۴). در مطالعه دیگری نشان داده شد که آمی‌تریپتیلین باعث بهبود عملکرد شناختی در موش‌های ترانسژنیک آلزایمری شده می‌شود (۳۵). تاکنون هیچ‌گونه پژوهشی در مورد اثرات آمی‌تریپتیلین در مورد تشنج و صرع، چه در مدل‌های حیوانی و چه در انسان و همچنین اثر آن در مدل نقص حافظه در حیوانات صرعی شده گزارش نشده است و این مطالعه برای اولین بار در مدل حیوانی صرع انجام شده است. قبلاً ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز تشنج نقش دارند و می‌توانند با غیر فعال کردن مستقیم گلوکاتیون سنتتاز که مسئول انتقال گلوتامیک اسید از نورون‌های تحریکی است، باعث ایجاد تشنج شوند (۳۶). یکی از

### نتیجه‌گیری

استفاده از آمی‌تریپتیلین در موش‌های صحرایی صرعی نشان داد که میزان بهبود حافظه در برابر اثرات پنتیلین تترازول بیشتر شده است. علاوه بر این مدت زمان تشنج عمومی تونیک - کلونیک کاهش پیدا می‌نماید. به نظر می‌رسد که آمی‌تریپتیلین توانسته باشد در حین تشنج نقش محافظت‌کنندگی بر نورون‌ها، از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و ممانعت از روندهای استرس اکسیداتیو اعمال نماید.

### تقدیر و تشکر

این مقاله بر گرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی با گرایش فیزیولوژی جانوری با کد اخلاق IR.BASU.REC.1400,002 می‌باشد. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا بابت کمک‌های مالی که در قالب گرنت پژوهشی صورت پذیرفته است نهایت تشکر و قدردانی را نمایند.

مهمترین عوامل ایجاد تشنج و همچنین تغییرات رفتاری ناشی از آن، استرس اکسیداتیو و انحراف گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) از حالت عادی آن است. مشخص شده است که استرس اکسیداتیو با تغییر در مسیر سیگنالینگ نیتروژن و اکسیداتیو پذیر (RNS)، گونه‌های اکسیژن فعال و نیتریک اکساید (NO) همراه است که به موجب آن میزان NO زیستی کاهش می‌یابد و گونه‌های اکسیژن فعال افزایش می‌یابد (۳۷).

با توجه به محدودیت‌های زمانی و همچنین کمبود اعتبارات مالی، انجام بعضی آزمایش‌ها و تکرار برخی دیگر از آنها با محدودیت و نقصان همراه شد. با توجه به نتایج فوق و همچنین وجود پاره‌ای از ابهامات در خصوص اثرات داروی آمی‌تریپتیلین بر موش‌های صرعی شده، نیاز مبرم به تداوم تحقیقات و بررسی‌های بیشتر در این زمینه بیش از پیش احساس می‌گردد که امید است در آینده به آنها پرداخته شود.

امید می‌رود که با پیگیری و دنبال نمودن روند آزمایش‌های تکمیلی بتوان نتایج قابل قبول‌تری را به دست آورد. در پایان پیشنهاد می‌گردد که دوزهای مختلف آمی‌تریپتیلین و با دوره‌های آزمایشی متفاوت همچنین آزمایش‌ها بر روی سایر حیوانات آزمایشگاهی صورت گیرد. علاوه بر آن، پیشنهاد می‌گردد که اثرات این دارو هم‌زمان با تست‌های تشنجی، بر روی سیستم قلب-عروقی و برخی آزمایش‌های مرتبط تغییرات هورمونی هم انجام پذیرد.

## REFERENCES

1. Fisher R, Boas VE, Blume W, Elgar C, Genton P, Lee P. et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)". *Epilepsia* 2005; 46(4): 470–2.
2. Emoto MC, Yamato M, Sato-Akaba H, Yamada Ki, Fujii HG. Brain redox imaging in the pentylenetetrazole (PTZ)-induced kindling model of epilepsy by using in vivo electron paramagnetic resonance and a nitroxide imaging probe. *Neuroscience Letters* 2015; 608: 40-4.
3. Mishra A, Goel RK. Adjuvant anticholinesterase therapy for the management of epilepsy-induced memory deficit: a critical pre-clinical study. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2014; 115(6): 512-7.
4. Beghi E, Hesdorffer D. Prevalence of epilepsy—an unknown quantity. *Epilepsia* 2014; 55(7): 963-7.
5. Sunhaya S, Manimegalai P. Detection of epilepsy disorder in EEG signal. *International Journal of Emerging and Development* 2012; 2(2): 473-9.
6. Beghi E, Carpio A, Forsgren L, Hesdorffer DC, Malmgren K, Sander JW, et al. Recommendation for a definition of acute symptomatic seizure. *Epilepsia* 2010; 51(4): 671-5.
7. Davidson L, Derry C. Seizure classification key to epilepsy management. *The Practitioner* 2015; 259(1785): 13-9, 2.
8. Masur D, Shinnar S, Cnaan A, Shinnar RC, Clark P, Wang J, et al. Pretreatment cognitive deficits and treatment effects on attention in childhood absence epilepsy. *Neurology* 2013; 81(18): 1572-80.
9. Tarnawa I, Bolcskei H, Kocsis P. Blockers of voltage-gated sodium channels for the treatment of central nervous system diseases. *Recent Patents on CNS Drug Discovery(Discontinued)* 2007; 2(1): 57-78.
10. Binder DK, Carson MJ. Glial cells as primary therapeutic targets for epilepsy. *Neurochemistry International* 2013; 63(7): 635-7.
11. Klinger NV, Mittal S. Clinical efficacy of deep brain stimulation for the treatment of medically refractory epilepsy. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 2016; 140: 11-25.
12. Bonelli SB, Powell RH, Yogarajah M, Samson RS, Symms MR, Thompson PJ, et al. Imaging memory in temporal lobe epilepsy: predicting the effects of temporal lobe resection. *Brain* 2010; 133(4): 1186-99.
13. Salehi M, Mirkhalaf A, Barekatein M. Amitriptyline efficacy in control of acute opioid withdrawal syndrome. *Koomesh* 2005; 6(3): 195-200.
14. Dopheide JA. Recognizing and treating depression in children and adolescents. *American Journal of Health-System Pharmacy* 2006; 63(3): 233-43.
15. Gillman P. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *British Journal of Pharmacology* 2007; 151(6): 737-48.
16. Bruckle M, Thomas E, Seida S, Pilz M. Adverse drug reactions associated with amitriptyline - protocol for a systematic multiple-indication review and meta-analysis. *Syst Rev* 2020; 9: 59.
17. Reuber M, Gore J, Wolstenhome J, Jonas P, Frankson C, Murray C, et al. Examining a community model of epilepsy care for people with learning disabilities. *Seizure* 2008; 17(1): 84-91.
18. Perucca P, Gilliam FG. Adverse effects of antiepileptic drugs. *The Lancet Neurology* 2012; 11(9): 792-802.
19. Kumar R, Arora R, Agarwal A, Gupta Y. Protective effect of Terminalia chebula against seizures, seizure-induced cognitive impairment and oxidative stress in experimental models of seizures in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2018; 215: 124-31.
20. Hosseini A, Allahyari F, Azizi V. Effects of Tanacetum polycephalum on passive avoidance learning and oxidative stress in epileptic model of memory impairment in the male Wistar rats. *Advances in Traditional Medicine* 2021; 21: 545–552.
21. Zavvari F, Karimzadeh F. A review on the behavioral tests for learning and memory assessments in rat. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam* 2017; 5(4): 110-24.
22. Mirazi N, Niyazi S, Hosseini A, Izadi Z. Amitriptyline Effects on Pentylentetrazole-Induced Oxidative Stress in Epileptic Male Wistar Rats. *Iran Med J.* 2022; 25(2): 1-5.
23. Zarrindast MR, Farajzadeh Z, Rostami P, Rezayof A, Nourjah P. Involvement of the ventral tegmental area (VTA) in morphine-induced memory retention in morphine-sensitized rats. *Behavioural Brain Research* 2005; 163(1): 100-6.

24. Jamali-Raeufy N, Nasehi M, Zarrindast MR. Influence of N-methyl D-aspartate receptor mechanism on WIN55, 212-2-induced amnesia in rat dorsal hippocampus. *Behavioural Pharmacology* 2011; 22(7): 645-54.
25. Kumar A, Lalitha S, Mishra J. Possible nitric oxide mechanism in the protective effect of hesperidin against pentylentetrazole (PTZ)-induced kindling and associated cognitive dysfunction in mice. *Epilepsy & Behavior* 2013; 29(1): 103-11.
26. Hu Y, Yang J, Hu Y, Wang Y, Li W. Amitriptyline rather than lornoxicam ameliorates neuropathic pain-induced deficits in abilities of spatial learning and memory. *European Journal of Anaesthesiology(EJA)* 2010; 27(2): 162-8.
27. Mandhane SN, Aavula K, Rajamannar T. Timed pentylentetrazol infusion test: a comparative analysis with sc PTZ and MES models of anticonvulsant screening in mice. *Seizure* 2007; 16(7): 636-44.
28. Szabadi E, Tavernor S. Hypo- and hypersalivation induced by psychoactive drugs. *CNS Drugs* 1999; 11(6): 449-66.
29. Hosseini A, Allahyari F, Azizi V. Effects of tanacetum polycephalum on passive avoidance learning and oxidative stress in epileptic model of memory impairment in the male Wistar rats. *Advances in Traditional Medicine* 2021; 21(3): 545-52.
30. Aghaie F, Shemshaki A, Rajabi M, Khatami P, Hosseini A. Rapamycin alleviates memory deficit against pentylentetrazole-induced neural toxicity in Wistar male rats. *Molecular Biology Reports* 2021; 48: 5083-91.
31. Fattorusso A, Matricardi S, Mencaroni E, Dell'Isola B, Cara G, Striano P. et al. The Pharmacoresistant epilepsy: an overview on existant and new emerging therapies. *Frontiers in Neurology*. 2021; 12: 45.
32. Carter N, Born A, Levine T, Dao T, Zhao J, Lee L, et al. Wortmannin attenuates seizure-induced hyperactive PI3K/Akt/mTOR signaling, impaired memory, and spine dysmorphology in rats. *Eneuro* 2017; 4(3): 0354-16.2017.
33. Olowe R, Sandouka S, Saadi A, Shekh-Ahmad T. Approaches for reactive oxygen species and oxidative stress quantification in epilepsy. *Antioxidants* 2020; 9(10): 990.
34. Abdulmajeed WI, Ibrahim RB, Ishola AO, Balogun WG, Cobham AE, Amin A. Amitriptyline and phenytoin prevents memory deficit in sciatic nerve ligation model of neuropathic pain. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 2016; 27(2): 101-8.
35. Chadwick W, Mitchell N, Carroll J, Zhou Y, Park SS, Wang L, et al. Amitriptyline-mediated cognitive enhancement in aged 3x Tg Alzheimer's disease mice is associated with neurogenesis and neurotrophic activity. *Plos one* 2011; 6(6): e21660. doi: 10.1371/journal.pone.0021660.
36. Patel M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: cause and consequence of epileptic seizures. *Free Radical Biology and Medicine* 2004; 37(12): 1951-62.
37. Tabima DM, Frizzell S, Gladwin MT. Reactive oxygen and nitrogen species in pulmonary hypertension. *Free Radical Biology and Medicine* 2012; 52(9): 1970-86.

# Amitripyiline Effects on Learning and Memory Consolidation in Nale Seizeired Wistar Rats Induced with Pentylentetrazole

Mirazi N<sup>1\*</sup>, Niyazi S<sup>1</sup>, Hosseini A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, <sup>2</sup>Department of Phisiology, Faculty of Basic Sciences, ShahidBeheshti University, Tehran, Iran

Received: 14 Feb 2022 Accepted: 12 Jun 2022

## Abstract:

**Background & aim:** Epilepsy is a very complex neurogenic disorder. Choronic epilepsy can affect memory and learning with neurochemical changes in different areas of the brain. Amitripyiline (AMT) is one of the the tricyclic antidepressants drugs that has antinociception effects. The aim of this study is evaluation of anticonvulsant and memory consolidation effects of amitripyiline in male Wistar rats induced with Pentylentetrazole (PTZ).

**Methods:** In this experimental study 28 male Wistar rats (200-250 g) were used and divided randomly in 4 groups (n=7): control ( 0.5 ml salin normal), PTZ(60mg/kg), treatment 1 (PTZ + AMT10mg/kg ) and treatment 2(PTZ + AMT20mg/kg). All injections were done interaperitoneally. After administration of AMT the convulsive behaviors were observed and recorded. The passive avoidance, memory acquisition and memory recovery tests were done. All data were analyzed with one way ANOVA and Tukey tests for evaluation of differences between groups.

**Results:** The results of this study were showed that the delay in myoclonic movements in treated groups with AMT were increased compared with PTZ group. The delay in memory recovery in PTZ group was reduced significantly compare with control group.

**Conclusion:** AMT is able to reduce the convulsion caused by PTZ injection and also the has positive effect on memory recovery in rats .

**Keywords:** Amitripyiline, Epilepsy, Pentylentetrazole, Memory consolidation, Rat

---

\*Corresponding author: Arefkhah N, Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran  
Email: nassir162@gmail.ac.ir

Please cite this article as follows: Mirazi N, Niyazi S, Hosseini A. Amitripyiline Effects on Learning and Memory Consolidation in Nale Seizeired Wistar Rats Induced with Pentylentetrazole. Armaghane-danesh 2022; 27(3): 291-304.