Archive of SID

● مقالات تحقیقی (۷)

نقش میزان روی در بروز تشنج و تعیین میزان روی هیپوکامپ در موشهای صحرایی

دکتر سید شهاب‌الدین صدر
دانشیار دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

دکتر علیرضا شعبانزاده
استادیار دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

فرزانه آزاد
کارشناس ارشد دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

علی احدی
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

اثر وضعیت روی غذا در گسترش تشنج صرعی و نیز میزان روی هیپوکامپ در سه دسته موش صحرایی که رژیم روی بالا، روی مناسب و آب معمولی مصرف می‌کردند، با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب اتمی بررسی شد. نود موش صحرایی در سه گروه مختلف از نظر میزان روی مصرفی در آب به مدت ده هفته مورد بررسی و آزمایش قرار گرفتند. ایجاد تشنج با استفاده از تزریق داخل پریتوئن کلریدلیتیوم و پیلوکارپین در موشها انجام شد. نتایج بدست آمده از طریق آنالیز واریانس و آزمونهای پس از آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

بروز تشنج با بالارفتن میزان روی کاهش می‌یابد. بالا رفتن روی با افزایش قابل ملاحظه محتوی روی هیپوکامپ همراه بود. این نتایج نشان می‌دهد که روی ممکن است یک اثر پیشگیری کننده در گسترش تشنج داشته باشد و نقش مهمی را در پاتوفیزیولوژی تشنج صرعی به عهده داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: روی، هیپوکامپ، صرع، تشنج

مقدمه

صرع یکی از قدیمی‌ترین بیماریهایی است که بشر آنرا شناخته است اختلالات تشنجی یا صرعها یک مشکل سلامتی در انسانها می‌باشند[۱].

صرع به عنوان یک بی‌نظمی دوره‌ای سیستم عصبی بدنبال یک تخلیه ناگهانی شدید بیمارگونه نورونهای مغزی اتفاق می‌افتد. این تخلیه باعث اختلال در حس از دست دادن هوشیاری، اختلال در عملکرد

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-08-31]
www.SID.ir

Archive of SID

روانی، حرکات تشنجی یا ترکیبی از اینها می‌گردد[۲].

بیش از پنجاه میلیون انسان مبتلا به صرع در جهان وجود دارد که تشنج آنها توسط داروهای استاندارد ضد صرعی می‌تواند کنترل گردد (۲۵ درصد افراد مبتلا به صرع، نسبت به دارو مقاوم هستند)[۳].

سیناپسهای تحریکی نقش مهمی را در عملکردهای اساسی سیستم عصبی مرکزی دارند. یک اختلال کوچک انتقالی در کارآیی انتقالهای تحریکی یا در تعادل بین تحریک و مهار باعث تشنج می‌گردد. متابوتروپیک گلوتامات به عنوان یک جزء تعدیلی در سیناپسهای مهاری و تحریکی عمل می‌کند. مدارهای این گیرنده‌ها نقشهای حیاتی داشته و تغییر در آنها باعث تشنج در مغز می‌گردد [۴].

فرضیه دیگری بیان می‌کند که طبیعت باقی ماندن صرع پایدار به این دلیل است که تشنج طولانی باعث کاهش پیشرونده در مهار عملکرد GABA در هیپوکامپ شده و در نهایت باعث گسترش صرع پایدار می‌گردد[۵].

عنصر روی در ساختار تعداد زیادی از آنزیمهای مهم شرکت دارد از این طریق می‌تواند در عملکردهای متابولیک بطور غیر مستقیم تأثیر بگذارد [۶].روی مشابه یک واسطه سیگنالهای سلول به سلول در سیستم عصبی مرکزی عمل می‌کند. مغز پستانداران محتوی غلظت بالای روی است که در پایانه‌های گلوتامات ارژیک بوده و با فعالیت نورونی آزاد می‌گردد. آزاد شدن درون‌زاد روی باعث تغییر رفتار تعدادی از کانال‌های گیرنده‌ها می‌شود. بخصوص باعث مهار گیرنده NMDA[1] می‌شود [۷].

با توجه به مطالب ذکر شده بنظر می‌رسد که عنصر روی در مبحث صرع نقش داشته باشد بیماری صرع شیوع بالایی داشته و مشکلات زیادی را برای افراد مبتلا ایجاد می‌کند.

در این مطالعه سعی شده که اثر عنصر روی را در بروز تشنج بررسی کرده و نیز ارتباط سطح روی هیپوکامپ در ایجاد تشنج مورد ارزیابی قرار گیرد. امروزه در مورد اثر روی نظرات مختلفی وجود دارد. لذا ما در صدد هستیم که در حد توان در مشخص نمودن اثر این عنصر مؤثر باشیم.

روش کار

در این مطالعه نود موش صحرایی در محدوده وزنی ۳۵۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. موشها در محیط بادمای ثابت و نیز رطوبت ثابت با دوازده ساعت تاریکی و روشنایی نگهداری شدند.

در شروع آزمایش ظروف آب توسط اسید نیتریک ۱۰ درصد شسته شد و سپس با آب مقطر آبکشی گردید. در هفته اول جهت عادت کردن موشها از آب معمولی استفاده گردید. در شروع آزمایش و نیز هرهفته موشها وزن می‌شدند.

حیوانات بطور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند که درهر گروه ۳۰ حیوان قرار گرفت. هر گروه تحت رژیم آبی خاصی قرار داده شد. به رژیم آب گروه اول روی به میزان ۳۸meq/kg اضافه شد که این میزان حد استاندارد می‌باشد. گروه دوم در رژیم آب خود روی به میزان ۲۴۸meq/kg داشتند و گروه سوم از آب معمولی استفاده می‌کردند[۸].

در هفته چهارم بعد از شروع رژیم آبی خاص از هر گروه سه حیوان انتخاب گردید که دو حیوان اول از طریق زیر با استفاده از دارو صرعی می‌شدند.

ایجاد صرع از طریق تزریق کلرید لیتیوم ۳۰meq/kg داخل پریتوئن و بیست ساعت بعد توسط تزریق ۵۰meq/kg پیلوکارپین داخل پریتوئن انجام می‌گردید[۹].

بعد از تزریق دارو موشها ازنظر بروز رفتارهای تشنجی مورد بررسی قرار می‌گرفتند و بر اساس معیارهای استاندارد رفتارهای تشنجی درجه بندی می‌شد.

در موش تشنجی ایجاد نمی‌شد. در مرحله بعد سر موشها با استفاده از گیوتین بریده میشد و به طریق زیر مغز آنها بیرون آورده می‌شد.

موش به سمت بالا نگه داشته می‌شود و یک برش کوچک بین گوشها ایجاد می‌شود. از طریق این برش پوست سر از جلو بطرف بینی و از پشت به سمت اندامهای قدامی بریده می‌شود.

در مرحله بعد پوست را کنار زده و استخوان جمجمه رابه آرامی بریده و بر می‌داریم. بعد از بیرون آوردن مغز آنرا از وسط در سطح ساژیتال برش می‌زنیم. بعد از برداشتن قشر مغز هیپوکامپ در زیر آن نمایان می‌گردد که آنرا به آهستگی برش داده بر می‌داریم. هیپوکامپ جداشده را له کرده هموژنیزه می‌کنیم و مواد زیر را به آن اضافه می‌نماییم:

۱- ۵۰ میکرولیتر محلول اسید سیتریک اشباع

جدول شماره (۱): درجه بندی رفتار تشنجی

ردیف	درجه‌بندی	نوع رفتار تشنجی
۱	++	تشنج کامل تونیک -کلونیک
۲	+	تشنج ناقص (بی‌حرکتی، خیره‌شدن)
۳	+-	اسپاسم عضلانی و یا حرکت سریع پاها

1- NMDA: N-Methyl Diaspartate

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-08-31]

www.SID.ir

Archive of SID

۲- ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۰/۰۳ درصد دای تیزون در تتراکلرید کربن
۳- ۲۰۰ میکرولیتر از محلول یک مولار آمونیوم دی هیدروژن فسفات

نمونه بمدت بیست دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و یک محلول هموژن جهت دادن به دستگاه به دست آمد.

اندازه‌گیری روی هیپوکامپ با استفاده از تکنیک جذب اتمی فاقد شعله و توسط دستگاه جذب اتمی شیمادزو مدل 680-G مجهز به کوره گرافیتی GFA-4B انجام گرفت.

پس از اینکه دستگاه برای طول موج روی (۲۱۳۹ آنگستروم) تنظیم گردید. هر یک از محلولهای استاندارد روی به ترتیب از غلظت پایین به بالا سه بار و در هر مرحله ۱۰ میکرولیتر بداخل کوره حرارتی تزریق گردید. و در صورتی که اختلاف سه منحنی جذبی محلول تزریقی بیشتر یا مساوی ۲۰ درصد باشد مرحله چهارم و پنجم تزریق هر استاندارد را انجام داده تا اختلاف کمتر از ۲۰ درصد بدست آید.

سپس دستگاه بطور خودکار منحنی استاندارد را رسم می‌کند. این نمودار به صورت خطی ارتباط غلظت روی و میزان جذب نوری محلول را نشان می‌دهد. لذا با اندازه‌گیری جذب محلولهای مجهول و بکارگیری نمودار استاندارد می‌توان غلظت آنها را بدست آورد.

دقت و حساسیت دستگاه مورد استفاده نسبت به اندازه‌گیری روی در حد ppb است. در این تحقیق از لامپ دوتریوم برای تصحیح جذبهای نوری پس زمینه‌ای استفاده شده است.

مراحل فوق در هفته‌های بعد تا ده هفته انجام می‌گردد.

درجه تشنج موشها بر اساس جدول زیر با توجه به هفته‌های مختلف رژیم مصرف روی تنظیم می‌گردد.

جدول شماره (۲): میانگین درجه تشنج و میزان روی در گروههای سه گانه

هیپوکامپ	گروه آب معمولی (خطای استاندارد ±) میانگین	گروه روی (خطای استاندارد ±) میانگین	گروه روی بالا (خطای استاندارد ±) میانگین
روی (Zn)	۳۹/۵۲ (±۸۵۵)	۶۷/۲۰ (±۲۰/۳۹)	۱۵۶/۳۷ (±۳۲/۶۳)
امتیاز (Score)	۲۲/۸۰۰ (±۵/۹)	۲۰/۵۸ (±۵/۷۶)	۱۳/۳۰ (±۵/۷۶)

نتایج

به منظور مقایسه اثر رژیم‌های مختلف درمیزان تشنج و میزان روی هیپوکامپ ارقام بدست آمده توسط نرم‌افزار SPSS با استفاده از آزمونهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

در جدول شماره ۲ میانگین (+ خطای استاندارد) گروههای سه گانه از نظر رژیم مصرفی روی از نظر میزان روی در هیپوکامپ و درجه تشنج بررسی شده است.

همانطور که در جدول شماره ۳ مشاهده می‌گردد میزان روی در گروههای متفاوت دارای اختلاف معنی داری است ($P<0/05$). همچنین اثر تشنج در میزان روی هیپوکامپ باعث ایجاد یک اختلاف معنی دار شده است ($P<0/05$) و همچنین اثر تداخلی ایندو نیز در میزان روی هیپوکامپ تفاوت معنی داری ایجاد کرده است ($P<0/05$).

در جدول شماره ۴ اثر زمان و نیز گروهها بر درجه تشنج موشها مورد بررسی قرار گرفته است. همانطور که ملاحظه می‌گردد زمان تغییر معنی داری بر میزان درجه تشنج ایجاد کرده است ($P<0/05$) و نیز اثر گروههای مختلف بر درجه تشنج معنی دار بوده است.

بحث و نتیجه‌گیری

صرعها گروهی از اختلالات هستند که با تغییرات مزمن، عودکننده و پاروکسیسمال کارکرد نورولوژیک در اثر اختلال در فعالیت الکتریکی مغز بوجود می‌آیند [۱۰]. صرع با بیماری زایی طولانی و یا مرگ و میر حاد ارتباط دارد. بعلاوه دوره‌های پشت سر هم صرع در عملکرد و آناتومی سیستم عصبی مرکزی عوارض طولانی مدت و ویرانگری دارد [۱۱].

در تحقیقات مکانیسم سلولی بار تحریک پذیری زیاد اپی لپسی شواهدی وجود دارد که اپی‌لپسی با اختلال در مهار نورونی ارتباط دارد و باتوجه به اینکه گیرنده مهار سریع را در سیستم عصبی مرکزی واسطه گری می‌کند بنظر می‌رسد که ممکن است در پاتولوژی این بیماری نقش داشته باشد.

امروزه شواهدی وجود دارد که از نقش گلوتامات در شروع و افزایش فعالیت‌های تشنجی حمایت می‌کند آنتاگونیستهای گیرنده‌های NMDA و غیر NMDA ثابت شده است که فعالیت ضد تشنجی دارند[۳].

روی ماده معدنی اساسی با غلظت بالایی در هیپوکامپ بخصوص اکسونهای فیبرخزه‌ای نورونهای دانه دار شکنج دندانه‌ای دیده می‌شود. روی که در

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-08-31]
www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره (۳): بررسی اثر زمان، گروه و تشنج در میزان روی هیپوکامپ

گروههای بررسی	جمع مربعها	درجه آزادی	میانگین‌مربعها	کسر F	مقدار P
گروه پیگیری	۱۱۹۳/۹۷۲	۹	۱۳۲/۶۶۴	/۹۳۰	۰/۵۱۴
گروه آزمون	۴۲۶۳۴/۱۸۶	۲	۲۱۳۱۷/۰۹۳	۱۴۹/۳۹۳	۰/۰۰۰
گروه تشنجی	۸۰/۰۰۰	۱	۸۰/۰۰۰	/۵۶۱	۰/۰۰۰
گروه پیگیری	۳۵۶۲/۳۶۹	۱۸	۱۹۷/۹۰۹	۱/۳۸۷	۰/۲۰۸
گروه پیگیری تشنجی	۱۰۲۳/۷۵۰	۹	۱۱۳/۷۵۰	/۷۹۷	۰/۶۲۲
گروه تشنجی	۲۰/۲۷۵	۲	۱۰/۱۳۷	/۰۷۱	۰/۰۰۰
F G C	۲۱۰۲/۰۵۸	۱۸	۱۱۶/۷۸۱	/۸۱۸	۰/۶۶۷

جدول شماره (۴): بررسی اثر زمان و گروهها در درجه تشنج

گروههای بررسی	جمع مربعها	درجه آزادی	میانگین مربعها	کسر F
گروه پیگیری	۷۲۴۱/۳۳۳	۹	۸۰۴/۵۹۳	۶/۷۷۵
گروه آزمون	۵۳۱۷/۵۲۵	۲	۲۶۵۸/۷۶۳	۲۲/۳۸۸

پایانه‌های فیبر خزه‌ای تجمع یافته نقش مهمی را در تنظیم میانجی عصبی هیپوکامپ بر عهده دارد. به هر حال فعال شدن سلولهای دانه دار شکنج دانه‌ای با تحریک الکتریکی باعث تسهیل برداشت و آزاد شدن روی از هیپوکامپ شده که نشانگر این است که برداشت مجدد متابولیک روی به تحریک الکتروفیزیولوژیک حساس است[۱۲].

یکی از نتایجی که در مطالعه مابه دست آمد اثر معنی دار میزان مصرف روی بر محتوی روی هیپوکامپ بود بنظر می‌رسد که افزایش مصرف روی در رژیم غذایی باعث بالا رفتن میزان روی در هیپوکامپ می‌شود.

فوکاهیوراتیو در سال ۱۹۹۰ [۱۲] در رابطه با بررسی میزان روی هیپوکامپ تحقیقی انجام دادند، دیدند که میزان روی هیپوکامپ درحیواناتی که روی با دوز بالا می‌گرفتند بیشتر از حیواناتی بود که روی با دوز استاندارد یا کمتر از حد عادی استفاده می‌کردند در مقایسه با دو گروهی که از رژیم مناسب و بالا برخودار بودند مشاهده کردند. این کاهش در نواحی هیپوکامپ دیده می‌شود اما در نواحی آمیگدال، دم دار، پوتامن و سپتوم هیچ اختلافی وجود نداشت[۱۲].

فیبرهای خزه‌ای نورونهای دانه دار شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ محتوی روی با غلظت بالا می‌باشد [۱۲]. نسینگ و همکارانش در سال ۱۹۷۸ در بررسی اثر رژیم غذایی با روی کم در محتوی روی فیبر خزه‌ای هیپوکامپ دیدند حیواناتی که با رژیم روی کم تغذیه می‌شدند کاهش قابل ملاحظه‌ای از محتوی روی در نواحی مختلف نشان می‌دهند[۱۳].

نتیجه دیگر بدست آمده اختلاف معنی‌دار تشنج در میزان روی هیپوکامپ بود. حیواناتی که تشنج کرده بودند نسبت به حیواناتی که در آنها تشنج ایجاد نشده بود از نظر میزان روی هیپوکامپ اختلاف معنی داری را نشان دادند.

یون روی در پایانه‌های نورونی بوده در حین فعالیت نورونی درفضای خارج سلولی آزاد می‌گردد افزایش سطح روی آزاد شده ضمن فعالیت شدید ممکن است که با صدمه توکسیک مشاهده شده ارتباط داشته باشد. یونهای روی با غلظت بالایی در فیبرهای خزه‌ای هیپوکامپ هستند ثابت شده است که روی در طی تحریک هیپوکامپ بداخل فضای خارج سلولی آزاد می‌گردد.

آصف و همکارانش درسال ۱۹۸۴ نیز نتیجه مشابهی بدست آوردند. در حیواناتی با تزریق اسید کاینیک دچار تشنج شده بودند میزان روی هیپوکامپ کمتر بود بنابراین فرض می‌شود که حین تشنج محتوی روی هیپوکامپ تخلیه می‌گردد.

نتیجه دیگر بدست آمده در مطالعه ما اثر گروهها در درجه تشنج می‌باشد. امتیازات بالاتر نشانه تشنج شدیدتر و اسکور کمتر نشانه تشنج کمتر می‌باشد. گروهها از نظر رژیم غذایی روی باهم تفاوت داشتند بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دریافت روی با میزانهای متفاوت می‌تواند بر میزان تشنج تأثیر بگذارد. حیواناتی که روی با غلظت بالا می‌گرفتند تشنج کمتری را نسبت به سایر حیوانات نشان دادند.

نتیجه بدست آمده توسط سایر مطالعات

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-08-31]
www.SID.ir

Archive of SID

نیز تأیید می‌گردد. فلر و همکاران در سال ۱۹۹۱ طی تحقیقی که انجام دادند یک ارتباط معکوس و مشخص را بین روی فیبر خزه‌ای هیپوکامپ و بروز تشنج در موشهایی که تشنج ناشی از قطع الکل داشتند نشان دادند.

همچنین در مطالعه نوکاهوری و اتیو دیده شد که بروز تشنج با کاهش روی افزایش می‌یابد در حالی که افزایش روی باعث کاهش بروز تشنج می‌گردد. به هر حال این نتایج ثابت کرد که بروز تشنج در موش‌های صحرایی قابل تنظیم می‌باشد. تشنج که در کاهش روی ایجاد شده با تهیه و کافی شدن روی مهار می‌گردد[۱۲]. ■

مراجع

1. Seyferied TN, Glasver GH. A review of mouse mutants as genetiec models of epilpsy. cpilepsia 1985;26: 143-150.
2. Adams RD, Victor M, Rapper A. Principles of Neurology. Boston: MC Grow Hill; 1997.
3. Portes R, Chadwick D. The epilepsia. Bosten: Rutterworth, Heinemann. 1997.
4. Engel J, Pedley TA. Epilepsy a Comperhensive Text Book. Philadelphia: lippincott Raven, 1998.
5. Kapur M, Macdonald R C. Rapid seizure- induced reduced reduction of benzodizepine and Zn sensitivity of hippocampal dentate granule cell GABAA receptors. J Neurosci. 1997; 17: 7532-7540.
6. Rerg JM. The galvanization of biology a gnwing appreciation for the rols of Zinc. Science 1996; 271: 1081-1082.
7. Sensi SL Canzoniero Ln, Ping YS, et al. Measurment of intracellular Zinc in living cortical neurens: Routes of entery. Journal Neuresci 1997;17: 9554-9564.
8. Fukahorc M,Masatoshc I.Effects of dietry zinc on seizure suseptibility and hippocampal zinc content in the EL mouse. Brain Res 1990;529: 16-22.
9. Kapur J, Macdnald RL.Rapid Seizure induced reduction of benzodiazepine and Zn sensitivity of hippocampal dentate granule cell GABAA receptors. Neuroscience 1997; 17(19): 7532- 7540.
10. Dichts MA, Faucl AS, Braundwald E, et al. Principles of Internal Mdicine. New York : Mc Graw hill, 1998.
11. Coulter DA. Chronic epileptogenic cellular alterations in the limbic system after status epilepticus. Epilepsia 1999; 40(suppl1): 523-533.
12. Fukahori M, Itoh M. Effects of dietary Zinc status on Seizures Susceptibility and hippocampal zinc content in the El(epilepsy) mouse. Brain Res 1990; 529: 16-22.
14. Asser SY, Chung ehin Ho. Release of endugenous Zn from brain tissue duing activity. Nature 1984; 308: 734-736.
15. Feller DJ, Teso O, Savang D.Hippocampal mossy fiber deficient in mice genetically selected for ethanol withdarwal seizure suceptibility. Brain Res 1991; 545: 73-79.
13. Wensink J, lenglet W,Vis RD, et al. The effects of dietary zinc deficiency on the mossy fiber zinc content of the rat hippocampus. Histochemistr 1987; 87: 65-69. ■

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-08-31]
www.SID.ir