مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا | سال هشتم | شماره ٤ | زمستان ۱۳۹۷

مقاله پژوهشی

اثر لیتیوم بر آسیب حافظه، یادگیری و سطح بیان هیپوکامپی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در مدل کیندلینگ پریناتال

محمد امین عدالت منش*، خدیجه عمویی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۴/۰۸

چکیده

زمینه و هدف: تشنج در دوران بارداری سبب آسیب نورونی در سیستم لیمبیک مغز جنین می‌گردد که نقص در یادگیری و اختلال شناختی را در نوزادان به همراه دارد. این مطالعه به بررسی اثر تشنجات تونیک-کلونیک پریناتال و تیمار با لیتیوم کلراید بر یادگیری و حافظه نوزادان موش‌های صحرایی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی باردار با تزریق درون صفاقی پنتیلن تترازول (PTZ) با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن حیوان) از روز ۱۳ بارداری به مدت ۷ روز متوالی کیندل شدند. موش‌های صحرایی تیمار شده با لیتیوم کلراید در گروه‌های PTZ+Li0.04 و PTZ+Li0.08 به ترتیب میزان ۰/۰۴ و ۰/۰۸ درصد لیتیوم را از طریق آب آشامیدنی از روز ۱۰ بارداری تا روز ۲۴ پس از تولد نوزادان دریافت نمودند. یادگیری فضایی به کمک ماز آبی موریس در ۳۰ روزگی ارزیابی شد. پس از مطالعات رفتاری، سنجش سطح هیپوکامپی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) به روش الایزا انجام شد.

نتایج: در مقایسه با گروه کنترل، در گروه PTZ مدت‌زمان و مسافت پیمایش تا رسیدن به سکوی مخفی در آزمون ماز آبی موریس افزایش و سطح هیپوکامپی BDNF کاهش معنی‌داری را نشان داد. از طرفی، حیوانات دریافت‌کننده لیتیوم کلراید کاهش مدت‌زمان و مسافت پیمایش مسیر را در ماز آبی و افزایش معنی‌دار BDNF را در مقایسه با گروه PTZ+Saline نشان دادند.

نتیجه‌گیری: لیتیوم با افزایش سطح BDNF در هیپوکامپ سبب بهبود حافظه فضایی در مدل حیوانی تشنجات پریناتال می‌گردد.

کلمات کلیدی: تشنج، لیتیوم، دوران بارداری، موش صحرایی

مقدمه

صرع یکی از بیماری‌های عصب‌شناختی شایع است که بیش از ۱ درصد از جمعیت عمومی را شامل می‌شود (۱). مشخصه این بیماری تشنج‌های مکرر آن است که به دلیل تغییر در سیستم‌های گلوتاماترژیک، کولینرژیک و GABA به وجود می‌آید (۲).

تشنج باعث القاء مرگ سلول در سیستم عصبی می‌شود (۳). اولین تغییراتی که به سبب فعالیت تشنج طولانی‌مدت رخ می‌دهد شامل مرگ انتخابی سلول‌های مغزی به‌ویژه در هیپوکامپ است. اگرچه مکانیسم دقیق سلولی هنوز در دست بررسی است (۴). تلاش برای کنترل تشنج و درنتیجه جلوگیری از اختلالات شناختی به‌طور قابل‌توجهی می‌تواند باعث بهبود زندگی افراد مبتلا به این عارضه گردد. عوامل مختلف می‌تواند بر اختلالات ناشی از تشنج مانند نوروپاتولوژی زمینه‌ای، نوع تشنج، سن شروع تشنج، مشکلات روانی و عوارض درمان مؤثر باشد (۵).

داروهای ضد تشنج چندین دهه مورداستفاده قرار گرفته است. ولی مشکلات ناشی از آن را نمی‌توان نادیده گرفت، به‌ویژه اثرات منفی که بر عملکردهای شناختی دارد (۶)؛ بنابراین، یافتن دارویی که تشنج را متوقف و یا داروهای همراهی که از اختلالات شناختی ناشی از آن جلوگیری کند، نیاز ضروری است (۲).

تشنج و داروهای ضد تشنج ممکن است در بارداری و نتیجه آن اثر مضری داشته باشد. تخمین میزان ناهنجاری این نوزادان در هنگام تولد قابل‌تشخیص است. مطالعات دقیقی در ارتباط با داروهای ضد صرع در دوران بارداری و تأثیر آن بر تکامل پس از

*نویسنده مسئول: **محمدامین عدالت منش**، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
Email: amin.edalatmanesh@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-7936-1145

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]

تولد و روند تکامل عصبی – حرکتی در طولانی‌مدت وجود دارد (۷). اکثر فرزندانی که در معرض تشنج مادری یا داروهای ضد تشنج در دوران جنینی قرارگرفته‌اند، نیازمند آموزش‌های بیشتر هستند و این کودکان دچار عقب‌ماندگی شدند (۸).

نمک‌های لیتیوم از سال ۱۹۴۰ به‌عنوان یک تثبیت‌کننده خلق‌وخو برای درمان اختلالات عاطفی در روان‌پزشکی استفاده می‌شده است (۹). در دو دهه گذشته ثابت شده است که لیتیوم دارای چندین خاصیت نوروپروتکتیو است. مطالعات تصویربرداری نشان می‌دهد که مصرف لیتیوم باعث افزایش ضخامت قشر مغز، افزایش حجم هیپوکامپ و آمیگدال و زنده ماندن عصب در بیماران دوقطبی می‌شود (۱۰). مکانیسم اصلی لیتیوم ناشی از توانایی آن در مهار گلیکوژن سنتاز و همچنین وساطت کردن آن در فاکتورهای مشتق شده از مغز است که تأثیر این عوامل باعث تغییر در طیف گسترده‌ای از افکتورها شده و بقای سلول را باعث می‌شود. لیتیوم باعث کاهش معنی‌دار فسفوریلاسیون پروتئین tau و آمیلوئید β می‌شود و درنتیجه باعث محافظت نورونی در برابر اثرات سمی و مرگ سلولی ثانویه ناشی از قرار گرفتن در معرض آمیلوئید β می‌شود (۱۱). لیتیوم همچنین، سبب تحریک بیان ژن و رهاسازی فاکتورهای نوروتروفیک مانند BDNF و فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی می‌شود (۱۲). فاکتورهای نوروتروفیک نقش مهمی را در پاتوفیزیولوژی بیماری آلزایمر و اختلالات عاطفی بازی می‌کند (۱۳).

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر نوروپروتکتیو لیتیوم بر اختلال شناختی ناشی از تشنجات مادری و سطح بیان هیپوکامپی BDNF در موش‌های صحرایی است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه‌بندی

در این تحقیق تجربی از نوزادان نر حاصل از جفت‌گیری ۲۴ سر موش صحرایی ماده بالغ و باکره با میانگین وزنی ۱۰ ± ۱۸۰ گرم و ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستاراستفاده شد. حیوانات از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه و به‌منظور سازگاری با شرایط جدید، به مدت ۸ روز در محیط نگهداری شدند. در کلیه مراحل کار، حیوانات تحت شرایط استاندارد دمایی (۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت (۱۰±۵۰ درصد) و چرخهٔ روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (۶ صبح تا ۶ عصر) قرار داده شدند. تعداد ۶۰ نوزاد موش صحرایی در ۳۰ روزگی و به‌صورت تصادفی در گروه‌های موردمطالعه استفاده شدند.

قبل از جفت‌گیری، از موش‌های صحرایی ماده اسمیر واژنی تهیه شد و حیواناتی که در سیکل استروس قرار داشتند با حیوان نر هم‌قفس شدند تا جفت‌گیری انجام شود. درواقع، از موش‌های صحرایی که دارای ۲ الی ۳ دوره استروس منظم در طی ۱۲ الی ۱۴ روز مشاهده اسمیر واژینال بودند، استفاده شد. جهت تهیه اسمیر واژنی، ابتدا ۰/۳ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی توسط سمپلر (Brand, Germany) به‌آرامی در واژن حیوان تزریق شد. سپس یک تا دو قطره از مایع فوق برداشته و اسمیر تهیه گردید. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر بررسی شدند. موش‌هایی که در مرحله استروس سیکل تولیدمثلی قرار داشتند، جهت مراحل بعدی مطالعه انتخاب شدند. اسمیر واژن در مرحله استروس دارای سلول‌های شاخی بیشتر در مقایسه با سلول‌های اپی‌تلیال بوده و فاقد لوکوسیت است (۱۴). پس از هم‌قفس شدن و جهت اطمینان از جفت‌گیری، روز بعد دوباره حیوانات موردبررسی قرار گرفتند. در صورت مشاهده پلاک واژنی و یا وجود سلول‌های اسپرماتوزوآ در اسمیر واژنی، آن روز به‌عنوان روز صفر حاملگی تعیین شد.

در این پژوهش موش‌های صحرایی باردار، بعد از وزن کردن اولیه، به‌طور تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل سالم، گروه PTZ (کیندلینگ با پنتیلن تتراوزل)، PTZ+Li0.04 (کیندلینگ با پنتیلن تتراوزل و دریافت‌کننده دوز ۰/۰۴ درصد لیتیوم)، PTZ+Li0.08 (کیندلینگ با پنتیلن تتراوزل و دریافت‌کننده دوز ۰/۰۸ درصد لیتیوم).

جهت کیندلینگ ناشی از پنتیلن تترازول، PTZ (Sigma, Germany) روزانه با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان از روز ۱۳ بارداری به مدت یک هفته به‌صورت درون صفاقی به مادران باردار تزریق شد (۱۵). موش‌های صحرایی ۳۰ دقیقه بعد از هر تزریق PTZ برای رفتار تشنج بررسی شدند. تشنج با استفاده از مقیاس راسین به شرح زیر موردبررسی قرار گرفت:

مرحله ۰: عدم پاسخ، مرحله ۱: بیش‌فعالی، لرزش، کشش، مرحله ۲: تکان سر، تشنج عضلانی سر و پرش میوکلونیک، مرحله ۳: تشنج عضلانی یک‌طرفه عضو جلو، مرحله ۴: گسترش تشنجات با تشنج عضلانی دوجانبه عضو جلو، مرحله ۵: تشنج

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]

کلونیک تونیک عمومی [Generalized Tonic Clonic Seizure (GTCS)] با از دست دادن رفلکس کشیدگی بدن (۱۶).

در گروه‌های دریافت‌کننده لیتیوم به ترتیب دوزهای ۰/۰۴ درصد و ۰/۰۸ درصد لیتیوم کلراید (Merck, Germany) به همراه آب آشامیدنی از روز ۱۰ بارداری تا روز ۲۴ پس از تولد نوزادان (روز گرفته شدن از شیر) در اختیار مادران آن‌ها قرار گرفت. با توجه به مرده زایی در برخی از مادرانی که تحت کیندلینگ شیمیایی با پنتیلن تترازول قرار داشتند، از مجموع تقریباً ۳۰-۲۵ سر نوزاد نر حاصل از ۶ مادر در گروه‌های دریافت‌کننده PTZ، ۱۵ نوزاد نر (دو تا سه نوزاد نر از هر مادر) به‌طور تصادفی انتخاب شد. در گروه کنترل سالم نیز همین تعداد نوزاد نر انتخاب گردید.

آزمون حافظه فضایی

به کمک ماز آبی موریس ارزیابی حافظه فضایی در گروه‌های موردمطالعه انجام شد. ماز حوضچه‌ای سیاه‌رنگ با قطر ۱۳۶ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر است که تقریباً تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متری با آب (درجه حرارت ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد) پر شده است. حرارت آب توسط یک گرماساز کنترل گردید. یک سکو با قطر ۱۰ سانتی‌متر در حدود یک سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز یکی از ربع‌های دایره قرار دارد. استخر در اتاقی قرار گرفته است که اشکالی در خارج از ماز بر روی دیوار نصب‌شده است و موقعیت فرد آزمون گیرنده در کل مدت آزمایش ثابت است. میزان تأخیر در یافتن سکو در این آزمون بررسی شد. اگر حیوان در مدت ۶۰ ثانیه، نتوانست سکو را بیابد، به سمت آن هدایت گردید و به مدت ۱۵ ثانیه بر روی سکو باقی ماند. در هرروز آزمایش، با توجه به اینکه موقعیت سکو و مختصات آن برای همه گروه‌های مورد آزمایش ثابت است، هر موش صحرایی روزانه چهار بار و به مدت ۵ روز مورد آزمایش قرار گرفت. چهار روز اول (چهار بلوک) مرحله یادگیری (مرحله آموزش) محسوب شد. در روز پنجم (مرحله آزمون یا پروب)، سکو برداشته و حیوان به مدت ۶۰ ثانیه در استخر رها گردید. شاخص مدت‌زمان تأخیر در یافتن سکوی مخفی و سرعت شنا کردن طی آزمون‌های مرحله یادگیری مورد ارزیابی و تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. در آزمون پروب، مدت‌زمانی که موش‌های صحرایی در ربع سکو (ربع هدف) شنا کرده و به جستجوی سکو می‌پردازند، محاسبه گردید (۱۷).

سنجش سطح هیپوکامپی BDNF

پس از پایان آزمون شناختی حیوانات با استنشاق گاز کلروفورم در دسیکاتور به‌طور عمیق بی‌هوش شدند و بلافاصله سر حیوان جدا گردید و مغز به‌طور کامل از جمجمه خارج و به‌سرعت بر روی یخ قرار داده شد. هیپوکامپ موش‌های صحرایی با دقت در زیر استریوسکوپ (Olympus, Japan) از بقیه قسمت‌های مغز جدا شد. پس از شستشو با محلول سالین به همراه بافر تریس (Sigma, Germany) به مدت ۵ دقیقه با دستگاه هموژنایزر (IKA, Germany) با ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه شده توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار (Hermle, Germany) سانتریفوژ گردید. جهت جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تمامی مراحل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام شد و از محلول ۰/۵ میلی‌مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید (Sigma-Aldrich, Germany) به عنوان مهارکننده پروتئازها استفاده شد (۱۸). پس از سانتریفیوژ، رو شناور به کمک سمپلر برداشته شد و سپس میزان بافتی BDNFتوسط روش ELISA و به کمک دستگاه الایزاریدر مدل 2100(Stat Fax, USA) و کیت شرکت باستر (Rat BDNF Picokine™, Boster, China) موردسنجش قرار گرفت.

آنالیز آماری

تجزیه‌وتحلیل آماری بین گروه‌های مختلف با استفاده از نرم-افزارهای آماری SPSS ویرایش ۲۲ انجام شد. به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های موردنظر، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده گردید. ازنظر آماری مقادیر $P<0/05$، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر لیتیوم بر حافظه فضایی

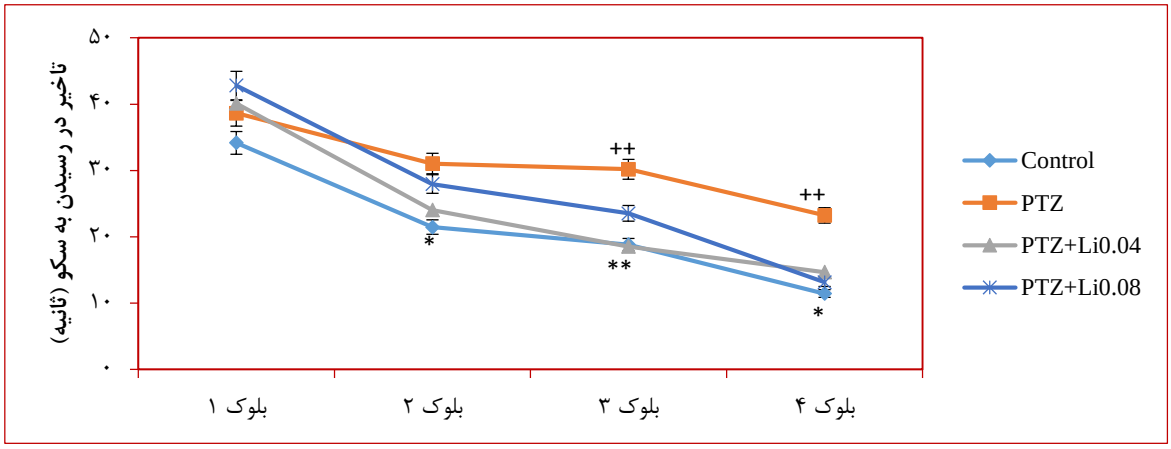
مدت‌زمان رسیدن به سکوی مخفی در ماز آبی موریس: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی از مرحله یادگیری طی ۴ بلوک مختلف آزمایش نشان از کاهش پیش‌رونده در مدت‌زمان رسیدن به سکوی مخفی و مسافت پیمایش مسیر در کلیه گروه‌های موردمطالعه دارد (نمودار ۱). درواقع، مدت‌زمان رسیدن به سکوی مخفی در گروه PTZ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل در بلوک دوم ($p<0/05$، ۶/۴±۳۱/۰۵ در مقابل ۳/۵±۲۱/۴۷ ثانیه)، بلوک سوم ($p<0/01$، ۵/۸±۳۰/۱۹ در مقابل

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]

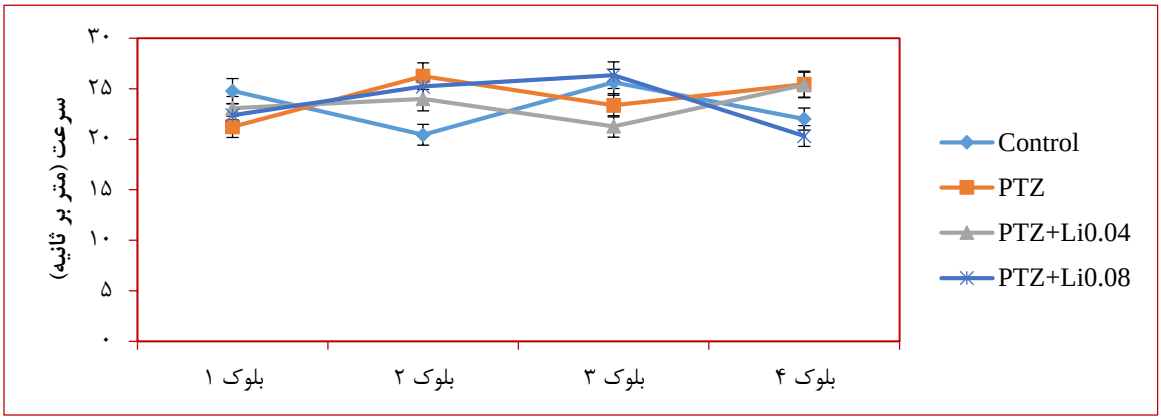
۱۸/۸۴±۲/۷ ثانیه) و بلوک چهارم ($p<۰/۰۵$، ۲۳/۲۴±۴/۹ در مقابل ۱۱/۴۶±۲/۵ ثانیه) دارد. همچنین، در گروه‌های دریافت‌کننده لیتیوم کلراید میانگین مدت‌زمان رسیدن به سکوی مخفی را در بلوک سوم و چهارم یادگیری نسبت به گروه PTZ کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۱$). به‌گونه‌ای که در گروه PTZ+Li0.04 کاهش معنی‌داری در تأخیر تا رسیدن به سکو نسبت به گروه PTZ در بلوک سوم (۱۸/۵۵±۳/۷ در مقابل ۳۰/۱۹±۵/۸ ثانیه) و بلوک چهارم (۱۴/۶۷±۴/۳ در مقابل ۲۳/۲۴±۴/۹ ثانیه) دیده شد. همچنین گروه PTZ+Li0.08 نیز نسبت به گروه PTZ شاهد کاهش معنی‌دار تأخیر دررسیدن به سکوی مخفی در بلوک سوم (۲۳/۵۴±۸/۶ ثانیه) و چهارم (۱۳/۱۷±۲/۸ ثانیه) بود. در بین گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۰/۰۴ درصد و ۰/۰۶ درصد لیتیوم اختلاف معنی‌داری در هیچ‌یک از بلوک‌های موردبررسی دیده نشد.

سرعت پیمایش مسیر

به دنبال بررسی میانگین و انحراف معیار سرعت پیمایش مسیر (سرعت شنا کردن) بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی پنتیلن تترازول و کنترل، نتایج حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین سرعت شنا کردن در گروه‌های مختلف است ($p>۰/۰۵$). به‌عبارت‌دیگر، بین گروه PTZ و گروه کنترل در بلوک ۱ (۲۱/۲۴±۳/۴ در مقابل ۲۴/۷۹±۲/۶ ثانیه)، بلوک ۲ (۲۶/۲۶±۴/۲ در مقابل ۲۰/۴۵±۳/۱ ثانیه)، بلوک ۳ (۲۳/۳۷±۲/۸ در مقابل ۲۵/۶۴±۳/۵ ثانیه) و بلوک ۴ (۲۵/۴۷±۳/۷ در مقابل ۲۲/۰۲±۴/۳ ثانیه) اختلاف معنی‌داری دیده نشد. همچنین،



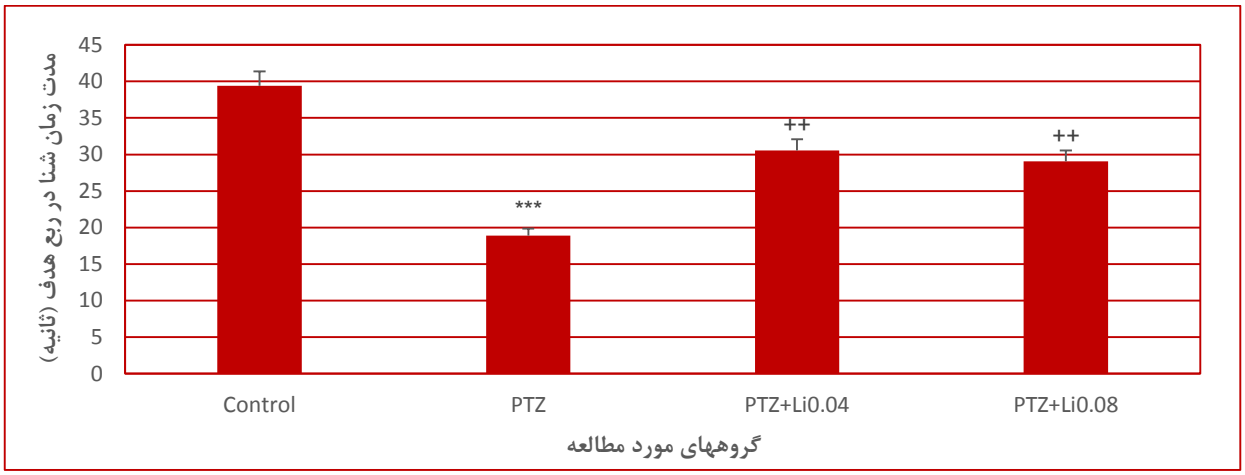
نمودار ۱- میانگین ± انحراف معیار مدت‌زمان رسیدن به سکو در جنس نر در چهار بلوک آزمایش در گروه‌های مختلف طی ماز آبی موریس. نتایج نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با گروه PTZ($p<۰/۰۵$* و $p<۰/۰۱$**) و گروه‌های تیمار با لیتیوم و گروه PTZ است ($p<۰/۰۱$++).



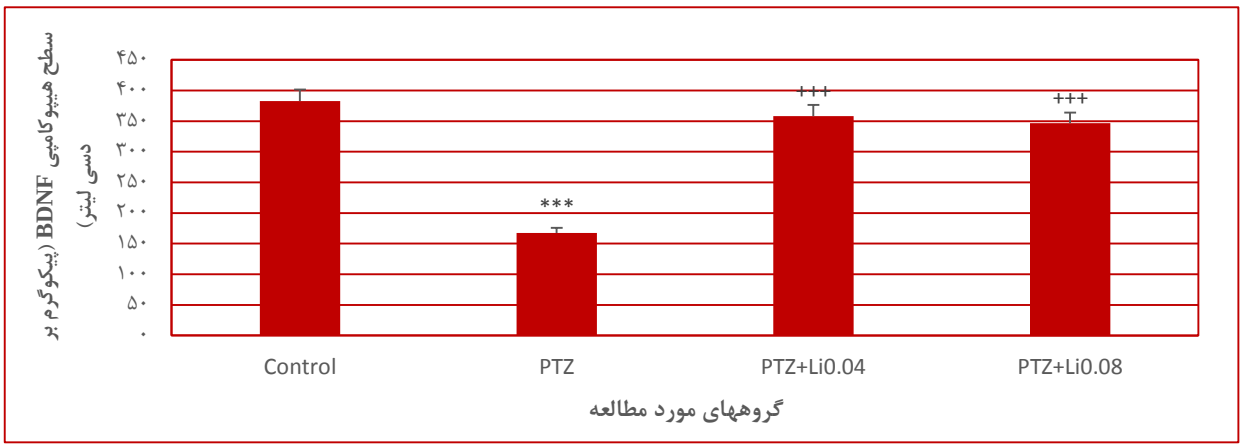
نمودار ۲- میانگین ± انحراف معیار سرعت پیمایش مسیر در چهار بلوک یادگیری (آموزش) در گروه‌های مختلف طی ماز آبی موریس. اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف در مراحل مختلف مرحله آموزش دیده نشد.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]

گروه PTZ+Li0.04 در بلوک ۱ (۲/۸±۲۳/۰۹ ثانیه)، بلوک ۲ (۲/۶±۲۴/۰۲ ثانیه)، بلوک ۳ (۲/۳±۲۱/۲۹ ثانیه) و بلوک ۴ (۲/۹±۲۵/۴۰ ثانیه) و گروه PTZ+Li0.08 در هر چهار بلوک گروه‌های PTZ+Li0.04 (۲/۷±۳۰/۵۶ ثانیه) و PTZ+Li0.08 (۲/۴±۲۹/۰۸ ثانیه) اختلاف معنی‌داری دیده شد (نمودار ۳. $p<۰/۰۰۱$).



نمودار ۳. میانگین ± انحراف معیار مدت‌زمان باقی ماندن در ربع هدف در مرحله آزمون (پروب) در گروه‌های مختلف. بین گروه کنترل با گروه PTZ اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۰۰۱$***). بین گروه‌های تیمار با لیتیوم و گروه PTZ اختلاف معنی‌داری دیده شد ($p<۰/۰۰۱$++).



نمودار ۴. میانگین ± انحراف معیار سطح هیپوکامپی BDNF در گروه‌های مختلف. بین گروه کنترل با گروه PTZ اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۰۰۱$***). همچنین، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های PTZ+Li0.04 و PTZ+Li0.08 با گروه PTZ اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۰۰۱$+++).

(بلوک ۱: ۳/۴±۲۲/۴۰، بلوک ۲: ۲/۸±۲۵/۲۴، بلوک ۳: ۳/۱±۲۶/۳۵ و بلوک ۴: ۲/۵±۲۰/۳۳ ثانیه) با گروه PTZ و کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. این نتیجه بیانگر عدم تأثیر تجویز پریناتال پنتیلن تترازول بر سرعت شنا کردن یا به عبارتی القاء اختلال حرکتی در حیوان است (نمودار ۲).

مرحله آزمون (پروب): نتایج میانگین مدت‌زمان سپری‌شده در ربع هدف (ربع محل قرارگیری سکو طی آزمون‌های یادگیری) ماز آبی موریس نشان داد که در گروه PTZ(۱/۸±۱۸/۹۱ ثانیه) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (۲/۵±۳۹/۳۹ ثانیه) وجود دارد (نمودار ۳. $p<۰/۰۰۰۱$). از طرفی، بین گروه PTZ و

سنجش سطح بیان هیپوکامپی BDNF

تشنجات القاء شده با PTZ سطح هیپوکامپی BDNF را در مقایسه با گروه کنترل به‌شدت کاهش داد. به‌گونه‌ای که میزان BDNF در عصاره هیپوکامپ گروه PTZ (۱۵/۶±۱۶۷/۴۳ پیکوگرم بر دسی لیتر) بسیار کمتر از گروه کنترل (۲۷/۸±۳۸۲/۶۷ پیکوگرم بر دسی لیتر) است (نمودار ۴. $p<۰/۰۰۰۱$). این در حالی است که تیمار با لیتیوم کلراید سبب افزایش قابل‌توجهی در سطح هیپوکامپی BDNF در گروه‌های تیمار نسبت به گروه PTZ گردید. بدین ترتیب که بین گروه‌های PTZ+Li0.04 (۲۲/۵±۳۵۸/۴۷ پیکوگرم بر دسی لیتر) و

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]

PTZ+Li0.08 (۳۴۶/۷۸±۲۴/۹ پیکوگرم بر دسی لیتر) با گروه PTZ اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود ($p< ۰/۰۰۰۱$).

بحث

تزریق PTZ یکی از روش‌های مناسب جهت ایجاد یک مدل صرعی در جوندگان است (۳). مطالعات حاضر به‌وضوح نشان می‌دهد که قرار گرفتن جنین موش در معرض تشنج مادری که توسط PTZ القاء شده عواقب مضری بر یادگیری و حافظه آن می‌گذارد (۱۹). روز ۱۳ بارداری برای تزریق PTZ و شروع کیندلینگ، مناسب‌تر است. چون در این مرحله از بارداری ساختار مغز در حال تشکیل است و تشنج مادری تأثیراتی منفی بر نوروژنز، مهاجرت نورونی به هیپوکامپ جنین و درنهایت بر حافظه نوزاد دارد (۲۰). مطالعه حاضر نشان داد که آسیب در حافظه فضایی و میزان یادگیری در موش‌های صحرایی که در دوران جنینی در معرض تشنجات مادری بوده‌اند، ایجاد شده است. درواقع افزایش مسافت پیمایش مسیر تا رسیدن به سکوی مخفی در ماز آبی موریس و کاهش مدت‌زمان شنا در ربع هدف در گروه PTZ نسبت به گروه کنترل دیده شد که از نشانه‌های آسیب‌شناختی کیندلینگ در دوران بارداری بر مغز نوزادان است.

PTZ مسدودکننده کمپلکس یونوفور کلراید در گیرنده گابا است. پس از تجویز PTZ تشنج پی‌درپی رخ می‌دهد و بر چندین سیستم انتقال‌دهنده عصبی مانند سیستم گابا ارژیک و گلوتاماترژیک تأثیر می‌گذارد. هم گابا و گیرنده آن در کنترل تحریک نورونی و صرع درگیر هستند. نتایج نشان می‌دهد که صرع مادری باعث کاهش بیان گیرنده گابا در جنین که بیشتر منجر به تغییرات درون‌سلولی در سطح بیان پروتئین کیناز A (PKA) می‌شود (۲۱).

PKA یک مولکول اصلی در انتقالات سیناپسی است که در رویدادهای مولکولی و سیناپسی صرع نیز دخالت دارد. تجویز PTZ در دوران بارداری می‌تواند باعث تغییرات مختلف درون‌سلولی ازجمله تغییرات پیامبرهای ثانویه مانند cAMP شود که این امر باعث فعال شدن بیان ژن پروتئین PKA می‌شود. صرع القاء شده توسط PTZ تأثیر مستقیمی بر سطح بیان PKA دارد و مولکول PKA با تغییرات در سطح بیان گیرنده گابا در نورون‌های هیپوکامپ جنین ارتباط دارد (۲۱). بیان گیرنده‌های گابا در نورون‌های هیپوکامپ طی تشنج کاهش می‌یابد؛ بنابراین، کاهش سطح بیان گیرنده گابا طی تشنج مادری در نورون‌های هیپوکامپ جنین اتفاق می‌افتد (۲۲). کاهش بیان mRNA گیرنده‌های گابا در منطقه CA_1 و CA_3 سلول‌های هرمی شکل هیپوکامپ در مدل حیوانی طی تشنج دیده شده است (۲۳).

نوزادان متولدشده از زنان مبتلابه صرع در معرض خطر بالاتری برای اختلالات شناختی و تأخیر در رشد هستند (۲۴). تشنج تونیک – کلونیک ژنرالیزه در دوران بارداری ممکن است منجر به مشکلات شناختی برای کودکان در مراحل بعدی زندگی شود. این تشنج باعث افزایش اسیدوز و هیپوکسی می‌شود که درنتیجه آسیب‌های جبران‌ناپذیری در CNS و سایر ارگان‌های جنین به وجود می‌آورد. صرع مادر باعث تغییر شکل هیپوکامپ در نوزادان می‌گردد و این مسئله باعث بروز اختلالات شناختی در آن‌ها می‌شود (۲۱). به‌گونه‌ای که در مطالعه حاضر نیز آسیب در حافظه فضایی نوزادان کاملاً مشخص بود. نورون‌های ناحیه هیپوکامپ به دلیل تغییرات پاتولوژیک صرع دچار آسیب می‌شوند و دچار مرگ نورونی خواهند شد (۲۲).

به نظر می‌رسد که بعد از تشنج در دوران بارداری تعادل میان تکثیر سلولی و آپوپتوز سلولی در هیپوکامپ جنین از بین می‌رود و این امر باعث کاهش نورون‌ها در هیپوکامپ جنین می‌شود. کاهش در سلول‌های PSA-NCAM ممکن است به دلیل اختلال در نوروژنز پس از تولد و عقب‌ماندگی در زمان بلوغ شود. بااین‌حال مطالعات بیشتری برای بررسی اثر تشنج مادر بر تغییرات پلاستیسیته مغز جنین و تغییرات بیولوژیکی آن نیاز است (۲۵). به‌طورکلی تشنج مادر دارای اثرات منفی بر بافت مغز و درنتیجه در توانایی یادگیری و حافظه فرزندان است (۲۶). این نوزادان دارای اختلال در حافظه فضایی و همچنین حافظه غیرفعال اجتنابی در مقایسه با نوزادان متولدشده از مادران سالم است (۲۱).

مطالعات نشان داده‌اند که لیتیوم در بهبود اختلالات رفتاری و شناختی در مطالعات حیوانی مانند سکته مغزی، اسکروزیس آمیوتروفیک، سندرم X شکننده، هانتینگتون، آلزایمر و بیماری پارکینسون استفاده می‌شود (۲۷).

در کشت سلول‌های گرانول مخچه‌ای رت، لیتیوم از آپوپتوز آن‌ها جلوگیری می‌کند. مطالعه حاضر نشان داد که تیمار درازمدت با لیتیوم کلراید از طریق مصرف آن به همراه آب آشامیدنی می‌تواند از شدت آسیب‌های شناختی ناشی از تشنجات مادری در نوزادان جلوگیری به عمل آورد. درمان با لیتیوم در نورون‌های مغز رت باعث کاهش جریان کلسیم به درون سلول شده و از مرگ سلولی جلوگیری می‌کند (۱۱).

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]

خانواده نوروتروفین‌ها شامل پروتئین‌های شبیه به هم مثل NGF، BDNF، NT-3 (Neurotrophin-3) و NT-4.5 هستند که هرکدام به گیرنده‌های تیروزین کیناز باند می‌شوند (۲۸). در هیپوکامپ BDNF یک ترکیب حیاتی برای پلاستیسیته سیناپسی و تشکیل حافظه است. ازاین‌رو وقفه در بیان BDNF یا تغییر در سطح گیرنده‌های آن‌ها ممکن است باعث آسیب به تشکیل حافظه و دژنره شدن نورون‌ها شود (۲۸). مطالعه حاضر نشان داد که تشنجات مادری سطح بیان BDNF را در مغز نوزادان به‌شدت کاهش می‌دهد و ازاین‌رو می‌تواند سبب آسیب‌شناختی گردد. مطالعات نشان داده است که درمان با لیتیوم باعث افزایش قابل‌توجهی در میزان BDNF که تحت تأثیر پاسخ به درمان رخ می‌دهد، می‌شود. در یک کارآزمایی بالینی با بیماران مانیای حاد ۴ هفته پس از مصرف لیتیوم افزایش قابل‌توجهی در سطح BDNF پلاسما مشاهده شد (۲۹).

لیتیوم اولین مسیر درمانی برای اختلالات دوقطبی است که از مسیر GSK-3 ممانعت می‌کند و باعث فعالیت مسیر سیگنالینگ Wnt و تحریک نوروژنز بزرگ‌سالان می‌شود که ممکن است درروند درمانی بسیار مهم باشد. مهار GSK-3 هم به‌صورت مستقیم و هم به‌صورت غیرمستقیم باعث بالا بردن احتمال اثرات دارویی لیتیوم و فعال شدن مسیر سیگنال Wnt می‌شود. علاوه بر اینکه GSK-3 مسیر سیگنال Wnt را که در تکامل و عملکرد نورون‌ها درگیر است تنظیم می‌کند، نقش مهمی در پاسخ به لیتیوم نیز دارد (۳۰).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که درنتیجه کیندلینگ ناشی از پنتیلن تترازول در دوران بارداری به همراه آسیب در یادگیری و حافظه فضایی سطح بیان هیپوکامپی BDNF کاهش می‌یابد و تیمار با لیتیوم به همراه آب آشامیدنی مادر توانسته است از آسیب حافظه جلوگیری نماید. این مطالعه به نقش حمایت گر عصبی لیتیوم و مصرف آن را در جلوگیری از اختلالات شناختی نوزادان در مادران مبتلابه صرع می‌پردازد. هرچند، مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است.

تشکر و قدردانی

از زحمات معاونت و مدیریت محترم پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی شیراز در اعطای تسهیلات لازم جهت اجرای این پروژه صمیمانه قدردانی می‌شود. مطابق مجوز شماره ۳۴۵۶-۲۸۳۲-۹۵ و بر اساس قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی ملاحظات اخلاقی با نظارت کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز رعایت گردید.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Georgiadis I, Kapsalaki EZ, Fountas KN. Temporal lobe resective surgery for medically intractable epilepsy: a review of complications and side effects. Epilepsy Res Treat. 2013; 2013:752195.
2. Koutroumanidou E, Kimbaris A, Kortsaris A, Bezirtzoglou E, Polissiou M, Charalabopoulos K, et al. Increased seizure latency and decreased severity of pentylenetetrazol-induced seizures in mice after essential oil administration.Epilepsy Res Treat. 2013; 2013:532657.
3. Naseer MI, Shupeng L, Kim MO. Maternal epileptic seizure induced by pentylenetetrazol: apoptotic neurodegeneration and decreased GABAB1 receptor expression in prenatal rat brain. Mol Brain. 2009;2:20.
4. Aguiar CC, Almeida AB, Araújo PV, de Abreu RN, Chaves EM, do Vale OC, et al. Oxidative stress and epilepsy: literature review. Oxid Med Cell Longev. 2012; 2012:795259.
5. Jia LJ, Wang WP, Li ZP, Zhen JL, An LW, Duan RS. Memantine attenuates the impairment of spatial learning and memory of pentylenetetrazol-kindled rats. Neurol Sci. 2011;32(4):609-13.
6. Jia P, Ewers JM, Zhao Z. Prioritization of epilepsy associated candidate genes by convergent analysis. PLoS One. 2011; 6(2):e17162.
7. Yerby MS. Special considerations for women with epilepsy.Pharmacotherapy. 2000;20(8 Pt 2):159S-170S.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]

8. Ferrari-Marinho T, Perucca P, Mok K, Olivier A, Hall J, Dubeau F, et al.Pathologic substrates of focal epilepsy influence the generation of high-frequency oscillations.Epilepsia. 2015; 56(4):592-8.
9. Nivoli AM, Murru A, Goikolea JM, Crespo JM, Montes JM, González-Pinto A, et al. New treatment guidelines for acute bipolar mania: a critical review.J Affect Disord. 2012; 140(2):125-41.
10. Kessing LV, Feldt-Rasmussen B, Andersen PK, Gerds TA, Licht RW. Continuation of lithium after a diagnosis of chronic kidney disease.Acta Psychiatr Scand. 2017; 136(6):615-22.
11. Chiu CT, Chuang DM. Neuroprotective action of lithium in disorders of the central nervous system.Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2011; 36(6):461-76.
12. Amare AT, Schubert KO, Baune BT. Pharmacogenomics in the treatment of mood disorders: Strategies and Opportunities for personalized psychiatry.EPMA J. 2017;8(3):211-27.
13. Valvassori SS, Borges CP, Varela RB, Bavaresco DV, Bianchini G, Mariot E, et al. The different effects of lithium and tamoxifen on memory formation and the levels of neurotrophic factors in the brain of male and female rats.Brain Res Bull. 2017; 134:228-35.
14. Tahmasebi F, Movahedin M, Mazaheri Z. Poly Cystic Ovary Model as an Elevated Oxidative Stress Factor. J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(127): 82-91. [in Persian]
15. Pourmotabbed A, Mahmoodi G, Mahmoodi S, Mohammadi-Farani A, Nedaei SE, Pourmotabbed T, et al. Effect of central muscarinic receptors on passive-avoidance learning deficits induced by prenatal pentylenetetrazol kindling in male offspring. Neuroscience. 2014; 279:232-7.
16. Haggag BS, Hasanin AM, Raafat MH, Abdel Kawy HS, Lamotrigine decreased hippocampal damage and improved vascular risk markers in a rat model of pentylenetetrazole induced kindling seizure. Korean J Physiol Pharmacol. 2014;18:269-78.
17. Yazdani M, Edalatmanesh MA, Rafiei S. Ameliorative effect of lithium chloride on working and spatial memory deficit in a PTZ-induced seizure model. Feyz 2017; 21(2): 110-7. [in Persian]
18. Sadoughi D, Khayatzadeh J. Effect of Curcumin on Hippocampal Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Serum Levels of Inflammatory Cytokines in Rat Model for Alzheimer's Disease. Shefaye Khatam. 2018; 6(1): 1-9. [in Persian]
19. Ye-wei X, Rong W, Xun-tai M, Shan Z, Qian C, Shi-hua H, et al.Cognitive impairment and spontaneous epilepsy in rats with malformations of cortical development. Seizure. 2015; 33:29-34.
20. Pourmotabbed A, Nedaei SE, Cheraghi M, Moradian S, Touhidi A, Aeinfar M, et al.Effect of prenatal pentylenetetrazol-induced kindling on learning and memory of male offspring. Neuroscience. 2011;172:205-11.
21. Naseer MI, Shupeng L, Kim MO. Maternal epileptic seizure induced by pentylenetetrazol: apoptotic neurodegeneration and decreased GABAB1 receptor expression in prenatal rat brain. Mol Brain. 2009; 2:20.
22. Ishikura N, Tsunashima K, Watanabe Ki, Nishimura T, Minabe Y, Kato N. Neuropeptide Y and somatostatin participate differently in the seizure-generating mechanisms following trimethyltin-induced hippocampal damage. Neurosci Res. 2002;44(3):237-48.
23. Sperk G, Furtinger S, Schwarzer C, Pirker S. GABA and its receptors in epilepsy. Adv Exp Med Biol. 2004;548:92-103.
24. Parisi P, Francia A, Vanacore N, Fiore S, Giallonardo AT, Manfredi M. Psychomotor development and general movements in offspring of women with epilepsy and anticonvulsant therapy. Early Hum Dev.2003; 74(2):97-108.
25. Rajabzadeh AA, Bideskan AR, Haghir H, Fazel AR. Morphometrical study of polysialylated neural cell adhesion molecule positive cells in rat pups hippocampus following induction of seizure during pregnancy.Iran Biomed J. 2011; 15(4):157-63.
26. Gopinath N, Muneer AK, Unnikrishnan S, Varma RP, Thomas SV. Children (10-12 years age) of women with epilepsy have lower intelligence, attention and memory: Observations from a prospective cohort case control study.Epilepsy Res. 2015; 117:58-62.
27. Fajardo VA, Fajardo VA, LeBlanc PJ, MacPherson REK. Examining the Relationship between Trace Lithium in Drinking Water and the Rising Rates of Age-Adjusted Alzheimer's Disease Mortality in Texas.J Alzheimers Dis. 2018; 61(1):425-34.
28. Gibon J, Barker PA. Neurotrophins and Proneurotrophins.Neuroscientist. 2017; 23(6):587-604.
29. Diniz BS, Reynolds CF 3rd, Begley A, Dew MA, Anderson SJ, Lotrich F, et al. Brain-derived neurotrophic factor levels in late-life depression and comorbid mild cognitive impairment: a longitudinal study.J Psychiatr Res. 2014; 49:96-101.
30. Valvezan AJ, Klein PS. GSK-3 and Wnt Signaling in Neurogenesis and Bipolar Disorder.Front Mol Neurosci. 2012; 5:1.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]

Oiginal Article

The Lithium Effect on Learning and Memory Deficits and Hippocampal Level of BDNF in Prenatal Seizure Kindled Rats

Edalatmanesh M*, Amooei KH

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

Received: 18 Jan 2018 Accepted: 29 Jun 2018

Abstract

Background & Objective: Prenatal seizures cause neuronal damage in the limbic area of fetal brain leading to learning deficits and cognitive impairment in newborns. This study examined the effect of prenatal tonic-clonic seizure and lithium chloride (LiCl) therapy on the learning and memory of rat's pups.

Materials & Methods: Pregnant Wistar rats were kindled by (i.p) injections of 40 mg/kg/BW of Penthylentetrazole (PTZ) on embryonic day (ED) 13 for 7 consecutive days. LiCl treated rats in PTZ+Li0.04, and PTZ+Li0.08 groups received 0.04% and 0.08% of LiCl in tap water from ED10 to postnatal day (PND) 24, respectively. The spatial performance learning was evaluated at PND 30 using Morris water maze (MWM) .After behavioral study, the hippocampal level of BDNF was measured using ELISA.

Results: In comparison to controls, PTZ group showed a significant increase in latency time and distance to hidden platform in MWM test and decrease level of hippocampal BDNF. LiCl-treated rats showed a significant lower latency time and distance to hidden platform in MWM and higher level of BDNF than PTZ group.

Conclusion: The LiCl with elevated of BDNF in hippocampus can ameliorate spatial memory in prenatal seizure model.

Keywords: Seizure, Lithium, Pregnancy, Rat

***Corresponding Author: : Edalatmanesh Mohammad Amin,** Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
Email: amin.edalatmanesh@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-7936-1145

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2019.8.4.6.2]