

Repeated Foot Pad Electrical Stimulation Facilitate Electrical Kindling in Rats

Mohammad Reza Palizvan¹,
Shadi Khademi²

¹ Associate Professor, Department of Physiology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

² General Practitioner, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

(Received August 5, 2013 ; Accepted October 6, 2013)

Abstract

Background and purpose: Kindling is an animal model of epilepsy induced by repeated stimulation of the brain. The amygdala has been the focus of interest due to large part to its role in epilepsy induction and in fear conditioning in both human and rats. The purpose of the present study was to evaluate whether low electrical stimulation of foot pad of rats during fear can facilitate amygdala electrical kindling susceptibility.

Material and methods: 32 Wistar male rats trained for the two way active avoidance learning in the shuttle box on the basis of escape response were divided into fast and slow learning animals and then each group was randomly assigned to two groups. Test groups (n= 10) received conditional and unconditional stimulus and control groups (n= 8) received conditional stimulus for ten days. The rats were kindled by electrical stimulation of basolateral amygdala and the seizure parameters were noted. The data were analyzed using one way ANOVA and Tukey's test.

Results: The results of the present study demonstrate that repeated electrical stimulation of slow learning animals during fear condition facilitates kindling induction.

Conclusion: It seems that repeated electrical stimulation after fearing in rats that have impairments in performance of shuttle box conditioning increase the susceptibility to electrical kindling.

Keywords: fear conditioning, kindling, electrical stimulation, electrical kindling

J Mazand Univ Med Sci 2014; 24(109): 63-69 (Persian).

بررسی کیندلینگ الکتریکی به وسیله تحریکات الکتریکی مکرر کف پای موش صحرایی

محمد رضا پالیزوان^۱

شادی خادمی^۲

چکیده

سابقه و هدف: کیندلینگ یکی از مدل‌های صرع است که توسط تحریکات مکرر مغز ایجاد می‌گردد. آمیگدال به دلیل نقشی که هم در انسان و هم در موش در ایجاد کیندلینگ و در شرطی شدن ناشی از ترس دارد مورد توجه قرار گرفته است. به این ترتیب هدف از مطالعه حاضر ارزیابی تحریکات الکتریکی مکرر کف پای موش‌های صحرایی به هنگام ترس و اثر آن بر روی تسهیل ایجاد کیندلینگ الکتریکی آمیگدال است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۲ موش صحرایی نر از نژاد Wistar برای ایجاد شرطی شدن احترازی فعال دو طرفه تحت آزمایش شاتل باکس قرار گرفته و بر اساس پاسخ‌های ارائه شده توسط حیوان به دو گروه دیر یادگیر و زود یادگیر تقسیم شدند. بر اساس تحقیقات قبلی آزمایش‌ها بر روی گروه دیر یادگیر انجام گرفت. موش‌های دیر یادگیر به دو گروه تقسیم شدند. گروه آزمون برای ۱۰ روز متوالی تحت تأثیر تحریکات هم‌زمان صوتی و الکتریکی کف پا قرار گرفتند (n=۱۰). با گروه کنترل همانند گروه آزمون رفتار شد با این تفاوت که فقط تحریکات صوتی را دریافت کردند (n=۸). پس از ۱۰ روز برای ایجاد کیندلینگ الکتریکی تحت تأثیر تحریکات الکتریکی آمیگدال قرار گرفته و کیندل شده و پارامترهای تشنجی مورد ارزیابی قرار گرفت. در پایان داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که قرار گرفتن موش‌های صحرایی نر دیر یادگیر در معرض تحریکات مکرر الکتریکی سبب تسهیل ایجاد کیندلینگ در آن‌ها می‌گردد.

استنتاج: بر اساس یافته‌های حاضر، به نظر می‌رسد قرارگیری موش‌هایی که با شرطی شدن در شاتل باکس مشکل دارند، در معرض تحریکات الکتریکی مکرر در شرایط ترس می‌تواند استعداد ابتلاء آن‌ها به کیندلینگ را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: شرطی شدن ترس، کیندلینگ الکتریکی، تحریک الکتریکی، آمیگدال

مقدمه

بازداشتن فرد از انجام فعالیت‌های روزمره می‌گردد. صرع می‌تواند نقش به‌سزایی در پیشگیری از وقوع آن و تأثیر بهتر روش‌های درمانی داشته باشد (۱). صرع در

صرع از شایع‌ترین بیماری‌های نورولوژیکی است که در صورت عدم درمان، منجر به عوارض مغزی پایدار، عقب ماندگی ذهنی، ناهنجاری‌های شخصیتی و

مجموع به وسیله حملات متناوب حسی، حرکتی، اتونومیک یاروانی مشخص می گردد (۲).

به دلیل شیوع نسبتاً فراوان این بیماری امروزه تحقیقات وسیعی بر روی علل ایجاد آن و راه‌های جلوگیری از بروز این بیماری در حال انجام است. یکی از انواع صرع، صرع رفلکسی Reflex Epilepsy است که در آن محرک‌های بیرونی و یا در موارد نادر محرک‌های درونی از قبیل پردازش ذهنی اطلاعات می‌توانند در فرد مستعد، تشنج ایجاد کنند. افراد دارای صرع رفلکسی، از بروز حملات خود به خودی رنج نمی‌برند بلکه عامل بیماری آن‌ها تشنج ناشی از برخی از محرک‌های خاص است. از انواع این محرک‌ها می‌توان به تابش متناوب نور، طرح‌های رنگی، مطالعه، حرکت، غذا خوردن، دست زدن، لمس کردن، تحریکات متناوب شنوایی و غوطه ور شدن در آب داغ را نام برد (۳). مشخصه تمام این محرک‌ها، تحریک متناوب مغز است. به عبارت دیگر، در افراد مبتلا به صرع رفلکسی، تحریکات متناوب مغز (توسط آوران‌های حسی و یا مدارهای موضعی پردازش کننده اطلاعات) قادر به ایجاد تشنجات رفتاری می‌باشند (۴). تحریکات متناوب الکتریکی مغز در حیوانات، تحت تجربه (۵) و در انسان (۶، ۷) نیز قادر به ایجاد حملات صرع می‌باشند. برای مطالعه صرع از مدل‌های آزمایشگاهی مختلفی از جمله مدل کیندلینگ استفاده می‌شود. در این مدل با تحریک مکرر یک ناحیه مغزی به وسیله محرکی الکتریکی و یا شیمیایی - که در ابتدا قادر به ایجاد تشنج نیست، در حیوان تشنج ایجاد می‌کنند (۸-۱۰). کیندلینگ به عنوان مدلی از تشنج‌های موضعی پیچیده (complex partial seizure) در انسان شناخته شده است. با توجه به این که این تشنج‌ها یکی از شایع‌ترین انواع تشنج در انسان می‌باشند، از این مدل در تحقیقات زیادی استفاده شده است (۱۱-۱۳). با توجه به توضیحات بیان شده، سؤالی که این تحقیق سعی در پاسخ‌گویی آن را دارد، این است که آیا تحریکات متناوب حسی در

حیوانات سالم نیز می‌توانند سبب بروز حملات صرعی شده و یا استعداد حیوان را برای ابتلا به کیندلینگ افزایش دهند؟

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۳۲ موش صحرایی نر از نژاد Wistar با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ gr در شروع آزمایش که در دمای 24°C - 22°C و سیکل روشنایی خاموشی ۱۲ ساعت (۷ صبح تا ۷ شب روشن و ۷ شب تا ۷ صبح تاریک) نگهداری می‌شدند تحت آزمایش قرار گرفتند (به جز در هنگام آزمایش آب و غذا که به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار داشت) و حیوانات در گروه‌های سه تا چهارتایی در قفس‌ها نگهداری شدند. در این مطالعه تمام آزمایش‌ها توسط یک نفر انجام شد. نتایج تحقیقات قبلی نشان داد که استعداد موش‌ها برای ابتلا به کیندلینگ بستگی به میزان یادگیری آن‌ها در شاتل باکس دارد (۱۴) بر این اساس قبل از شروع آزمایش، بر اساس یادگیری حیوانات در شاتل باکس آن‌ها را به دو گروه دیر یادگیر و زود یادگیر تقسیم‌بندی کردیم و آزمایش بر روی حیوانات دیر یادگیر انجام گرفت. به این ترتیب حیوانات به دو گروه تقسیم بندی شدند.

۱- حیوانات دیر یادگیری که ده روز قبل از شروع کیندلینگ تحت تأثیر تحریکات صوتی و الکتریکی وارده به کف پا قرار گرفتند ($n=10$).

۲- حیوانات دیر یادگیری که همانند گروه اول ده روز قبل از شروع کیندلینگ در جعبه‌ای که برای تحریکات الکتریکی طراحی شده بود قرار گرفتند اما تحریکات الکتریکی را دریافت نکردند و فقط تحریکات صوتی به آن‌ها وارد شد ($n=8$).

حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (100mg/kg) و گزایلوزین (رامپون) ۲ درصد به صورت تزریق داخل صفاقی، بی‌هوش شده و سپس مطابق دستور اطلس Paxinos (۱۵) در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. الکتروود سه قطبی با

مشخصاً استریوتاکیسی ۲/۵ mm در جهت خلفی و ۴/۸ mm در جهت جانبی و ۷/۵ mm پائین تر سطح Dura قرار داده نسبت به برگما در هسته‌های آمیگدال نیم کره راست حیوان قرار داده شد. در طرف چپ جمجمه نیز توسط مته دندان پزشکی چهار سوراخ ایجاد شد و در دو عدد از آن‌ها الکترودهای تک قطبی توسط پیچ متصل به آن‌ها به جمجمه وصل شدند. یکی از این الکترودها به عنوان الکتروده earth و دیگری به عنوان الکتروده differential به کار رفت. در پایان کار گذاری الکترودها پنج پین مادگی متصل به الکترودها به قسمت مادگی سوکت مخابراتی وارد شدند. در انتهای جراحی، سوکت را به وسیله سیمان دندان پزشکی به استخوان جمجمه متصل و پوست دو طرف جمجمه بخیه زده شد. ده روز پس از عمل جراحی، تحریکات الکتریکی در این حیوانات شروع شد. به این ترتیب که حیوانات هر دو گروه آزمون و کنترل در جعبه‌ای که برای تحریکات الکتریکی کف پای حیوان طراحی شده بود، قرار گرفتند. در حیوانات گروه آزمون شوک الکتریکی به مدت ۲۰ ثانیه ۵ بار در روز و به فواصل یک دقیقه به کف پای حیوان وارد می‌شد. عرض موج ۱۸۰ μ s فرکانس آن ۸۰ Hz و شدت ۰/۶ MA بود. در حالی که حیوانات گروه کنترل فقط تحریک صوتی را دریافت می‌کردند. پس از این مدت تحریکات الکتریکی آمیگدال برای ایجاد کیندلینگ الکتریکی آغاز شد.

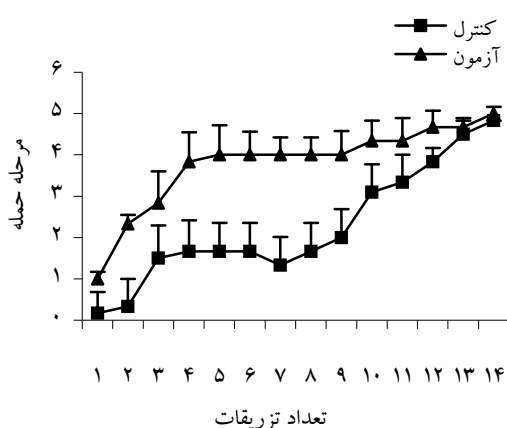
برای ایجاد کیندلینگ در موش‌ها، هسته‌های آمیگدال با جریان الکتریکی که در ابتدا از نظر ایجاد تشنج زیر آستانه بودن تحریک شدند. برای این کار از موج تحریکی مربعی با فرکانس ۱۰۰ Hz، مدت زمان هر هر پالس ۰/۵ ms، مدت تحریک ۲ ثانیه، ولتاژ ۷ تا ۱۵ MA استفاده شد. برای تولید موج تحریکی از یک دستگاه استیمولاتور استفاده گردید. موج تولید شده در این دستگاه سپس از طریق ایزولاتور و پس از آن CCU عبور کرد و سپس از طریق سوکت مخابراتی وارد آمیگدال حیوان گردید. در ابتدا

موش توسط جریان الکتریکی با شدت ۱۵ MA تحریک گشت، در صورتی که موج تحریکی به اندازه کافی برای تحریک نورون‌های موجود در هسته‌های آمیگدال کافی باشد، نورون‌های این ناحیه به طور هم‌زمان شروع به تولید پتانسیل عمل می‌کردند که این پتانسیل‌های عمل به صورت امواج تخلیه متعاقب توسط الکتروده ثبات موجود در آمیگدال و الکترودهای earth و differential پیچ شده به جمجمه به وسیله دستگاه ثبت می‌شدند. اگر بعد از تحریک ۱۵ MA امواج تخلیه متعاقب ثبت نمی‌شدند، شدت جریان را به اندازه ۲۵ MA بالا برده و پس از ۵ دقیقه موش، مجدداً تحریک می‌شد و این کار آن‌قدر ادامه پیدا می‌کرد تا بعد از تحریک، امواج تخلیه متعاقب تولید و ثبت گردند (این کار را تا ۳۰۰ MA ادامه دادیم اگر تا این شدت جریان موش تحریک نشد از بقیه مراحل آزمایش حذف می‌گردید). بدین روش پس از به دست آوردن آستانه، موش به طور مرتب هر ۲۴ ساعت یک بار با همین شدت جریان تحریک می‌شد. با تکرار تحریکات دامنه و مدت زمان امواج تخلیه متعاقب افزایش یافته و موج‌ها شکل پیچیده‌ای به خود گرفتند و مراحل تشنج به تدریج در حیوان ظاهر می‌شد. تحریکات ادامه پیدا کرد تا این که حیوان به مرحله پنچ تشنج رسید. پس از این که حیوان سه بار پشت سر هم مرحله پنچ تشنج را از خود نشان داد، حیوان کیندل کامل در نظر گرفته می‌شد.

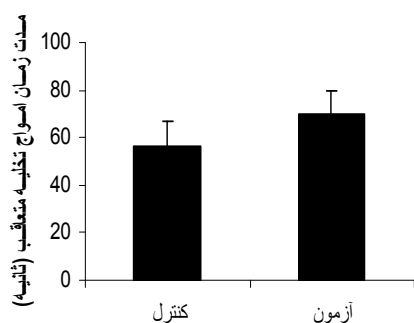
مراحل تشنج به شکل زیر تقسیم بندی شدند:

- مرحله ۱- حرکات دهان و صورت
- مرحله ۲- تکان دادن سر به طرف بالا و پایین
- مرحله ۳- کلونوس یک طرفه در اندام جلویی که مخالف جهت الکتروده تحریکی می‌باشد
- مرحله ۴- بلند شدن روی دو اندام عقبی همراه با کلونوس دو اندام جلویی
- مرحله ۵- بلند شدن روی دو اندام عقبی و از دست دادن تعادل

۳۳/۱۳±۳۱۸/۱۷ در گروه کنترل) از آغاز تحریکات تا زمانی که حیوان به مرحله پنج تشنج می‌رسد نشان داد که این متغیرها در موش‌های گروه آزمون از گروه کنترل کم‌تر است، با این حال تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی دانش‌آموزی نشان داد که، اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نیست (نمودارهای شماره ۲ و ۳). مقایسه مدت زمانی که حیوان در مرحله پنج تشنج به سر می‌برد (۲۳±۵/۵ در گروه کنترل و ۳۱±۱۷/۸۳ در گروه آزمون) نیز نشان داد که بین دو گروه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (نمودار شماره ۴).



نمودار شماره ۱: مقایسه پیشرفت مرحله حمله در گروه کنترل و گروه آزمون که تحریک الکتریکی را ۱۰ روز قبل از شروع کیندلینگ دریافت کرده بودند ($p < 0/05$)



نمودار شماره ۲: مقایسه مدت زمان امواج تخلیه متعاقب در گروه کنترل و گروه آزمون که تحریک الکتریکی را ۱۰ روز قبل از شروع کیندلینگ دریافت کرده بودند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی دانش‌آموزی تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه نشان نداد.

بدین ترتیب پنج متغیر در حیوان قابل اندازه‌گیری بود:

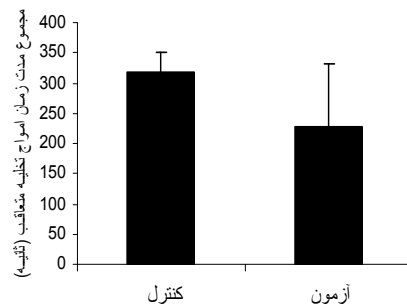
- ۱- مرحله حمله
 - ۲- تعداد تحریکات لازم برای ایجاد مرحله پنجم تشنج
 - ۳- معکوس مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان بعد از تحریک الکتریکی وارد مرحله پنجم تشنج گردد.
 - ۴- مدت زمانی که حیوان در مرحله پنجم تشنج به سر می‌برد.
 - ۵- مدت زمان صدور امواج تخلیه متعاقب پس از هر تحریک و در مجموع از ابتدای تحریک تا مرحله پنجم تشنج
- بدین ترتیب توانستیم میزان تأثیر تحریکات مکرر الکتریکی را بر روی پاسخ‌های تشنجی حیوان مورد ارزیابی قرار دهیم.

یافته ها

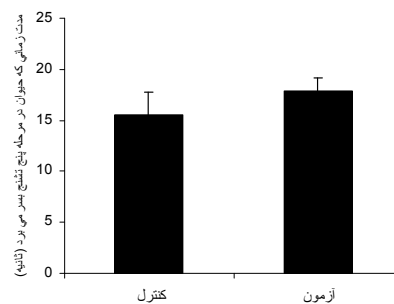
نتایج حاصل از کیندلینگ الکتریکی نشان داد که حیوانات دیر یادگیری که تحت تأثیر تحریک الکتریکی قرار گرفته بودند برای ایجاد کیندلینگ تحریکات کم‌تری نسبت به گروه کنترل نیاز داشتند. در حین تحریک الکتریکی یکی از موش‌ها تمام مراحل تشنج را از خود نشان داد. در نتیجه به نظر می‌رسد که می‌توان با تحریک الکتریکی پوست، در حیوانات کیندلینگ ایجاد کرد. البته این یافته در موش‌های دیگر تکرار نشد. هم‌چنین مرحله حمله در موش‌های دیر یادگیری که تحت تحریک تحریکات الکتریکی قرار گرفته بودند (۷۱۵±۱/۶۶) به شکل معنی‌داری از گروه دیر یادگیری که تحریکات الکتریکی پوست را دریافت نکرده بودند (۷۴۹±۳/۸) بالاتر است (نمودار شماره ۱).

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی نشان داد که این اختلاف معنی‌دار است ($p < 0/05$) مقایسه مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (۶۷۳±۱۰/۶۲ در گروه کنترل و ۶۹۷۳±۹/۸ در گروه آزمون) و مجموع مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (۱۰۳/۱۷±۲۲۸/۳۳ در گروه آزمون

بسیار کم تر از شدت جریانی است که می تواند در انسان و یا حیوان تشنج ایجاد کند ($MA 30$) (۱۶) و نکته دوم در مورد تحریکات در این مطالعه متناوب بودن این تحریکات است. تحقیقات نشان داد که، تحریک متناوب نقاطی از مغز مثل آمیگدال و هیپوکمپ با جریان الکتریکی با شدت پایین می تواند در نهایت حملات تشنجی را در حیوان (۵) و یا انسان ایجاد کند (۶، ۷). با این حال در مورد اثر تحریکات متناوب الکتریکی با شدت کم و از راه پوست تحقیقاتی صورت نگرفته است. به این ترتیب نتایج ما نشان داد که تحریکات مکرر الکتریکی با شدت کم از راه پوست کف پا نیز می تواند استعداد حیوان را برای بروز تشنج افزایش دهند. اختلاف بین گروه های دیر یاد گیر و زود یاد گیر در استفاده از مدل یاد گیری از نوع شرطی شدن احترازی فعال دوطرفه می باشد که تحقیقات نشان داد که، یکی از مراکز مهم در گیر در این نوع یاد گیری آمیگدال است (۱۷، ۱۸). بسیاری از شواهد موجود نشان دهنده دخالت آمیگدال در یاد گیری و تظاهرات رفتاری ترس هستند. به عنوان مثال نشان داده شد که، هسته مرکزی (central nucleus) آمیگدال برای یاد گیری شرطی شدن ناشی از ترس ضروری است (۱۹)، به علاوه تخریب آمیگدال از یاد گیری پاسخ های شرطی ترس جلوگیری می کند (۲۰، ۲۱). از طرف دیگر نشان داده شد که، حساسیت آمیگدال برای کیندلینگ در موش های صحرایی از نقاط دیگر مغز بیش تر است و آمیگدال نسبت به نقاط دیگر مغز برای ایجاد کیندلینگ نیاز به تحریکات الکتریکی کم تری دارد (۲۲). بدین ترتیب رابطه جالبی بین ترس، کیندلینگ و آمیگدال به دست می آید. مشخص شد که، کیندلینگ می تواند سبب ایجاد ترس گردد (که این کار را یا از طریق تغییر در چرخه های نورونی و یا از طریق تغییر در میزان مهار انجام می دهد) (۲۳). هم چنین نشان داده شد که، کیندلینگ الکتریکی آمیگدال سبب افزایش پاسخ ایجاد شده در اثر ترس در حیوان می گردد (۲۴-۲۶). بنابراین به نظر



نمودار شماره ۳: مجموع مدت زمان امواج تخلیه متعاقب از اولین تحریک تا رسیدن به مرحله پنج تشنج. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی دانش آموزشی تفاوت معنی داری را بین دو گروه نشان نداد



نمودار شماره ۴: مقایسه مدت زمانی که حیوان در مرحله پنج تشنج به سر می برد در دو گروه کنترل و آزمون تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی دانش آموزشی تفاوت معنی داری را بین دو گروه نشان نداد

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که تحریکات مکرر الکتریکی با شدت $MA 0/6$ سبب تسهیل ایجاد کیندلینگ در موش های دیر یاد گیر می گردد. در مورد اثر تحریکات الکتریکی بر روی ایجاد تشنج در انسان و حیوانات تحت تجربه تحقیقات زیادی انجام گرفته است. یکی از مدل های رایج ایجاد تشنج در حیوانات مدل الکتروشوک است. در این مدل با جریان الکتریکی که به گوش های حیوان وارد می کنند حیوان وارد تشنج می گردد. از تحریک الکتریکی و ایجاد تشنج برای مقاصد درمانی در روان پزشکی در انسان نیز استفاده می گردد. با این حال شدت جریانی که در این مطالعه برای تحریک الکتریکی به کار رفته است ($MA 0/6$)

میزان یادگیری احترازی استعداد افراد را برای حملات تشنجی مورد ارزیابی قرار داد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک می باشد که از این معاونت تشکر به عمل می آید.

می رسد که بر اساس نتایج این تحقیق می توان این گونه نتیجه گرفت که موش های دیر یادگیر احتمالاً به دلیل اختلال در مدارهای نورونی آمیگدال توانایی یادگیری کمتری در این مدل از یادگیری از خود نشان می دهند و این موش ها به دلیل اختلال در مدارهای نورونی آمیگدال استعداد بیشتری برای ابتلاء به تشنج دارند. به این ترتیب شاید بتوان در آینده در انسان ها نیز از روی

References

- Westbrook GL. Seizures and Epilepsy. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of neural science. 4th ed. New York: McGraw-Hill; 2000. p. 910-916.
- Rall TW, Shleifer LS. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In: Goodman Gillman A, Rall TW, Nies AS, Taylor P, (eds). The pharmacological basis of therapeutics. New York: Pergamon Press; 1991. p. 436-462.
- Striano S, Coppola A, del Gaudio L, Striano P. Reflex seizures and reflex epilepsies: old models for understanding mechanisms of epileptogenesis. *Epilepsy Res* 2012; 100(1-2): 1-11.
- Kasteleijn-Nolst Trenité DG. Provoked and reflex seizures: surprising or common? *Epilepsia* 2012; 53(Suppl 4): 105-113.
- Mirnajafi-zadeh J, Pourgholami MH, Palizvan MR, Rostampour M, Fallahi M. Anticonvulsant action of 2- chloroadenosine injected focally into the perirhinal cortex in amygdaloid kindled rats. *Epilepsy Res* 1999; 37: 37-43.
- Dehuna A, Leone AP, Longendorf F. Chronic habitual cocaine abuse and kindling- induced epilepsy, a case report. *Epilepsia* 1991; 32: 890-894.
- Collins DR, Pare D. Differential fear conditioning induces reciprocal changes in the sensory responses of lateral amygdala neurons to the CS(+) and CS(-). *Learn Mem* 2000; 7(2): 97-103.
- Barat SA, Abdel-Rahman MS. Cocaine and lidocaine in combination are synergistic convulsants. *Brain Res* 1996; 742: 157-162.
- Ebert U, Rundfeldt C, Losher W. Development and pharmacological suppression of secondary afterdischarges in the hippocampus of amygdala-kindled rats. *Eur J Neurosci* 1995; 17: 732-741.
- Alasvand Zarasvand M, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Palizvan MR. Anticonvulsant effect of bilateral injection of N6-cyclohexyladenosine into the CA1 region of the hippocampus in amygdala-kindled rats. *Epilepsy Res* 2001; 47(1-2): 141-149.
- Mirnajafi-Zadeh J, Mortazavi M, Fathollahi Y, Alasvand Zarasvand M, Palizvan MR. Effect of transient hippocampal inhibition on amygdaloid kindled seizures and amygdaloid kindling rate. *Brain Res* 2002; 954(2): 220-226.
- Palizvan MR, Fathollahi Y, Semnani S, Hajezaheh S, Mirnajafizadeh J. Differential effects of pentylentetrazol-kindling on long-term potentiation of population excitatory postsynaptic potentials and population spikes in the CA1 region of rat hippocampus. *Brain*

- Res 2001; 898(1): 82-90.
13. Cui LJ, Xie ZF, Piao HR, Li G, Chai KY, Quan ZS. Synthesis and anticonvulsant activity of 1-substituted-7-benzoyloxy-4, 5-dihydro-[1,2,4] triazolo[4,3-a] quinoline. *Biol Pharm Bull* 2005; 28(7): 1216-1220.
 14. Palizvan MR, Khademi Sh, Ghaznavi E. Effect of repeated electrical stimulation in Pentylentetrazol induced kindling in male rats. *Arak Medical University Journal* 2005; 8(30): 21-14.
 15. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxis coordinates. California: Academic Press; 1986.
 16. Ngoupaye GT, Ngo Bum E, Ngah E, Talla E, Moto FC, Taiwe GS, et al. The anticonvulsant and sedative effects of *Gladiolus dalenii* extracts in mice. *Epilepsy Behav* 2013; 28(3): 450-456.
 17. Moscarello JM, LeDoux JE. Active avoidance learning requires prefrontal suppression of amygdala-mediated defensive reactions. *J Neurosci* 2013; 33(9): 3815-3823.
 18. Aldavert-Vera L, Huguet G, Costa-Miserachs D, Ortiz SP, Kádár E, Morgado-Bernal I, et al. Intracranial self-stimulation facilitates active-avoidance retention and induces expression of c-Fos and Nurr1 in rat brain memory systems. *Behav Brain Res* 2013; 250: 46-57.
 19. Wilensky AE, Schafe GE, Kristensen MP, LeDoux JE. Rethinking the fear circuit: the central nucleus of the amygdala is required for the acquisition, consolidation, and expression of Pavlovian fear conditioning. *J Neurosci* 2006; 26(48): 12387-12396.
 20. LeDoux JE, Farb C, Ruggiero DA. Topographic organization of neurons in the acoustic thalamus that project to the amygdala. *J Neurosci* 1990; 10: 1043-1054.
 21. Collins DR, Pare D. Differential fear conditioning induces reciprocal changes in the sensory responses of lateral amygdala neurons to the CS⁺ and CS⁻. *Learn Mem* 2000; 7: 97-103.
 22. D.R. Collins, and D. Pare, Differential fear conditioning induces reciprocal changes in the sensory responses of lateral amygdala neurons to the CS⁺ and CS⁻. *Learn Mem* 2000; 7(2): 97-103.
 23. Iwata J, LeDoux JE, Meeley MP, Arneric S, Reis DJ. Intrinsic neurons in the amygdaloid field projected to by medial geniculate body mediate emotional responses conditioned acoustic stimuli. *Brain Res* 1986; 383(1-2): 195-214.
 24. Martin JH. The collective electrical behavior of cortical neurons: In: Principles of neural science. Kandel ER, Schwartz JH, (eds). Jessell TM. USA: McGrohill; 1991. p. 1227-1246.
 25. Fisher RS. Animal models of epilepsies. *Brain Res Rev* 1989; 14: 245-278.
 26. Nieminen SA. Amygdala kindling increased fear-response, but did not impair spatial memory in rats. *Physiol Behav* 1992; 51: 845-849.
 27. Kellett J, Kokkinidis L. Extinction deficit and fear reinstatement after electrical stimulation of the amygdala: implications for kindling-associated fear and anxiety. *Neuroscience* 2004; 127(2): 277-287.