Archive of SID

پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال ۱۰، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۸۴، صفحات ۱۵۳ تا ۱۶۰

تاریخ دریافت مقاله:۳۱ /۶/ ۱۳۸۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۲۴ /۳/ ۱۳۸۴

نقش گیرنده‌های آدنوزینی A_1 بر فعالیت تشنجی هیپوکمپ و آمیگدال در کیندلینگ هیپوکمپ در موشهای صحرایی

سید جواد میرنجفی‌زاده[1*]، محمد حسین پورغلامی[2]، یعقوب فتح‌الهی[1]

چکیده

سابقه و هدف: *هیپوکمپ یکی از حساس‌ترین نواحی مغز در ایجاد فعالیت صرعی می‌باشد و تحقیقات زیادی در رابطه با تأثیر مواد مختلف بر شدت تشنجهای ناشی از فعالیت نورونهای هیپوکمپ در حال انجام است. در این تحقیق اثر تزریق داخل صفاقی N6- سیکلوهگزیل آدنوزین (CHA) آگونیست اختصاصی گیرنده‌های آدنوزینی A1 و ۱-۳ دی متیل -۸-سیکلوپنتیل گزانتین (CPT)، آنتاگونیست اختصاصی این گیرنده‌ها در حیواناتی که با تحریک الکتریکی هیپوکمپ کیندل شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت.*

مواد و روش‌ها: *تزریق داخل صفاقی CHA (با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) امواج تخلیه متعاقب ثانویهٔ هیپوکمپ و امواج تخلیه متعاقب آمیگدال را به طور معنی‌داری کاهش داد. از این میان تنها تزریق دوز mg/kg ۱ این دارو زمان تأخیری بین تحریک و شروع مرحلهٔ ٤ تشنج را نیز افزایش داد. تزریق داخل صفاقی CPT (با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مدت زمان مرحلهٔ ۵ تشنج و مدت زمان امواج تخلیه متعاقب ثانویهٔ هیپوکمپ و امواج تخلیه متعاقب آمیگدال افزایش معنی‌داری ایجاد کرد. چنانچه قبل از تزریق CHA، CPT (با دوز mg/kg ۰/۵) به حیوانات تزریق شود، جلوی اثرات CHA بر کمیتهای تشنجی گرفته خواهد شد.*

یافته‌ها: *تمامی حیواناتی که با تحریک هیپوکمپ کیندل شده بودند، قبل و پس از تزریق سالین، مرحلهٔ ۵ تشنج را نشان دادند. CHA و CPT در دوزهای مورد استفاده، اثر قابل توجهی بر رفتار و فعالیت حرکتی حیوان نداشتند. تزریق دوزهای مختلف CHA اثر معنی‌داری بر مرحلهٔ حمله تشنج، ADD هیپوکمپ و مدت زمان مرحلهٔ ۵ تشنج نداشت، اما مدت زمان تأخیری بین تحریک و شروع مرحلهٔ ۴ تشنج را به طور وابسته به دوز و معنی‌داری افزایش داد. SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال نیز به طور معنی‌داری کاهش یافتند. که این اثرات شدیداً وابسته به دوز و زمان می‌باشند. تزریق داخل صفاقی CPT بر کمیتهای ADD هیپوکمپ و S4L اثری نداشت اما به طور معنی‌داری S5D، SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال را تحت تأثیر قرار داد. تزریق داخل صفاقی CPT، ۵ دقیقه قبل از تجویز CHA موجب کاهش پاسخ‌دهی به CHA شد. CPT اثر CHA بر SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال را در زمانهای ۱۵ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق CHA حذف کرد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج حاصل نشان می‌دهد که در مدل صرعی کیندلینگ هیپوکمپ، آدنوزین درون‌زا دارای اثرات ضد تشنجی است و تزریق آگونیست گیرنده‌های آدنوزینی A1 این اثر را تشدید می‌نماید. همچنین می‌توان این احتمال را مطرح نمود که بخشی از این اثرات از طریق کاهش فعالیت ناحیه آمیگدال اعمال می‌شود.*

واژگان کلیدی: *تشنج، آدنوزین، هیپوکمپ، کیندلینگ*

مقدمه

هیپوکمپ به عنوان مهمترین کانون ایجاد صرعهای موضعی پیچیده (Complex Partial Seizures) در انسان شناخته شده است (۱). تحقیقات زیادی در رابطه با مکانیسم‌های ایجاد این نوع صرع در انسان صورت گرفته است. مطالعات نشان می دهد که در اغلب موارد در ناحیه هیپوکمپ افراد مصروع، اسکلروز (Sclerosis) ایجاد شده است و پیشنهاد شده که وقوع این اسکلروز می‌تواند عامل ایجاد

[1*] نویسنده مسؤول: دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، آدرس برای مکاتبه: تهران ـ تقاطع بزرگراه جلال آل احمد و شهید چمران ـ دانشگاه تربیت مدرس ـ دانشکده علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی، صندوق پستی ۱۱۱-۱۴۱۱۵،
E-mail:mirnajaf@modares.ac.ir
[2] دانشیار گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

www.SID.ir

Archive of SID

صرع باشد (۲). بنابراین، احتمال داده می‌شود که جلوگیری از آسیب و مرگ نورونها و یا کاهش دادن میزان فعالیت نورونهای هیپوکمپ می‌تواند از زنجیره حوادثی که منجر به ایجاد صرع می‌شود، جلوگیری نماید.

برای مطالعه و بررسی صرع، از مدلهای آزمایشگاهی مختلفی استفاده می‌شود. یکی از این مدلها کیندلینگ است. در مدل صرعی کیندلینگ، ناحیه خاصی از مغز بطور مکرر تحریک می‌شود و این امر به تدریج منجر به بروز رفتار تشنجی در حیوان می‌شود.

در طی ایجاد این پدیده، امواج تخلیه متعاقب از ناحیهٔ تحریک شده قابل ثبت می‌باشند. با افزایش تعداد تحریکات به تدریج زمان امواج تخلیه متعاقب افزایش یافته و رفتارهای تشنجی تشدید می‌شوند (۳). مکانیسمهای دخیل در پیشرفت و گسترش تشنج هنوز به درستی مشخص نشده‌اند و با پی‌بردن به این مکانیسم‌ها، چشم‌اندازهای جدیدی به اصول پاتوفیزیولوژیک تشنج گشوده خواهد شد. در همین راستا، امروزه تحقیقات زیادی در زمینهٔ نحوهٔ عملکرد مواد ضد تشنجی در حال انجام است.

آدنوزین یکی از تعدیل کنندگان عصبی (neuromodulators) است که عملکرد آن در سرتا سر سیستم عصبی دیده می‌شود (۴،۵،۶) و در بسیاری از تحقیقات نشان داده شده است که این ماده در مدلهای تشنجی مختلف، اثرات ضد تشنجی ایجاد و این اثرات را از طریق گیرنده A1 اعمال می نماید (۷،۸،۹).

اما آزمایشهای اخیر ما نشان داد که اثرات ضد تشنجی این ماده در همه شرایط مشاهده نمی‌شود (۱۰)، به علاوه، تزریق آگونیست اختصاصی گیرنده A1 به ناحیه آمیگدال فقط بر تخلیه‌های متعاقب ثانویه این ناحیه اثر مهاری دارد و قادر به کاهش سایر کمیتهای تشنجی نیست (۱۱).

لذا، برای پی بردن به این که آیا در کیندلینگ هیپوکمپ فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A1 مغز تأثیری بر شدت تشنج دارد یا خیر، در این تحقیق ابتدا با تحریک الکتریکی مکرر هیپوکمپ و ایجاد رفتار تشنجی در حیوانات (کیندلینگ هنپوکمپ) و سپس با تزریق داخل صفاقی آگونیست و آنتاگونیست اختصاصی گیرندهٔ آدنوزینی A1 به حیوانات، تأثیر این ترکیبات بر شدت تشنج درزمانهای مختلف پس از تزریق بررسی شد. به علاوه، با ثبت همزمان امواج تخلیه متعاقب از ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ پشتی و آمیگدال، فعالیت این دو ناحیه به دنبال تزریق مواد فوق مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جراحی حیوانات و ایجاد کیندلینگ: در این آزمایش از موش‌های صحرایی نر، نژاد Sprague Dawley در محدودهٔ وزنی ۳۳۰-۳۰۰ گرم استفاده گردید. حیوانات با تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (۵۰mg/kg) بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکس قرار داده شدند. در هر حیوان یک الکترود سه قطبی در ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ پشتی (با مختصات ۳/۶ میلیمتر به سمت عقب و ۲/۳ میلیمتر به سمت راست نسبت به برگما و ۲/۲ میلیمتر پایین‌تر از سخت شامه) کار گذاشته شد. دو قطب از این الکترود برای تحریک و یک قطب دیگر جهت ثبت امواج تخلیه متعاقب بکار می‌رفت. علاوه بر این، یک الکترود تک قطبی دیگر نیز در هستهٔ قاعده‌ای-جانبی آمیگدال (با مختصات ۲/۵ میلیمتر به سمت عقب و ۴/۸ میلیمتر به سمت راست نسبت به برگما و ۷/۵ میلیمتر پایین‌تر از سخت شامه) کار گذاشته شد.

تمام طول الکترودها بجز نوک آنها، پوشیده از عایق تفلونی بود. دو الکترود دیگر نیز به عنوان الکترودهای differential,earth توسط پیچ عینک به جمجمه متصل شدند. یک هفته پس از جراحی، آستانهٔ تحریک هیپوکمپ تعیین گردید. برای این منظور، حیوان توسط یک محرک الکتریکی تک فازی با فرکانس ۶۰ هرتز که مدت زمان هر موج آن ۱ میلی ثانیه بود، به مدت ۲ ثانیه تحریک گردید. شدت تحریک در ابتدا ۱۰μA بود. اگر این شدت تحریک می‌توانست باعث ایجاد امواج تخلیه متعاقب به مدت حداقل ۵ ثانیه گردد، به عنوان آستانه تحریک در نظر گرفته می‌شد. در غیر این صورت، بعد از ۱۰ دقیقه، شدت جریان ۱۰μA افزایش داده شده و حیوان مجدداً تحریک می‌گردید تا جایی‌که امواج تخلیه متعاقب ثبت گردد. آستانه تحریک حیوانات در این تحقیق در محدوده ۳۰ الی ۱۵۰ میکروآمپر بود. پس از تعیین شدت جریان آستانه، هر ۲۴ ساعت یکبار، حیوان تحریک شدند تا تمام مراحل حمله تشنج را نشان داده و به طور کامل کیندل شوند. هنگامی که حیوان کیندل می‌شود، ۵ مرحلهٔ تشنجی را نشان می‌دهد. این ۵ مرحله بر اساس تقسیم‌بندی Racine (۳) عبارتند از: مرحلهٔ ۱؛ انقباض عضلات سر و صورت؛ مرحلهٔ ۲، حرکت سر به سمت بالا و پایین؛ مرحلهٔ ۳، کلونوس یک اندام جلویی؛ مرحلهٔ ۴، ایستادن روی اندامهای عقبی همراه با کلونوس دو اندام جلویی و مرحلهٔ ۵، بلند شدن روی اندامهای عقبی همراه با از دست دادن تعادل و به زمین خوردن حیوان. در حیوانات کنیدل شده

www.SID.ir

Archive of SID

امـواج تخلیه متعاقب اولیه از هیپوکمپ و آمیگدال و نیز امواج تخلیه متعاقب ثانویه از هیپوکمپ ثبت می گردید (شکل ۱).

تزریق داخل صفاقی CHA یا CPT: CHA با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و CPT نیز با همین دوزها به حیوانات کیندل

شکل ۱- امواج تخلیه متعاقب اولیه *(afterdischarge)* ثبت شده از آمیگدال و هیپوکمپ و امواج تخلیه متعاقب ثانویه *(secondary afterdischarge)* ثبت شده از هیپوکمپ در یک موش صحرایی که با تحریک الکتریکی هیپوکمپ کیندل شده است.

کمیتهای اندازه‌گیری شده عبارتند از: مرحلهٔ تشنج(Seizure stage)، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب اولیه (Afterdischarge duration; ADD) ثبت شده از هیپوکمپ و آمیگدال، مدت زمان امواج تخلیه متعاقب ثانویهٔ هیپوکمپ (Secondary afterdischarge duration; SAD) ، مدت زمان تأخیری بین شروع تحریک و شروع مرحلهٔ ۴ تشنج (Stage 4 latency; S4L) و مدت زمان مرحلهٔ ۵ تشنج (Stage 5 seizure duration; S5D).

آماده سازی دارو: در این تحقیق از N6- سیکلوهگزیل آدنوزین (CHA، خریداری شده از شرکت Sigma)، به عنوان آگونسیت اختصاصی گیرندهٔ آدنوزینی A1 و ۱-۳ دی متیل-۸- سیکلوپنتیل گزانتین (CPT، خریداری شده از شرکت RBI)، به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده آدنوزینی A1 استفاده شد. داروی CHA در سالین نرمال حل شد اما CPT ابتدا در اتانول حل گردید (۰/۱ میلی‌لیتر اتانول به ازای هر میلی‌گرم از دارو) و سپس با سالین نرمال رقیق گشت تا به غلظت دلخواه برسد. میزان نهایی اتانولی که برای ساخت دارو به کار می‌رفت، همراه با سالین به گروه کنترل نیز تزریق شد. نتایج حاصله نشان داد که این میزان اتانول تأثیری بر کمیتهای تشنجی ندارد.

شده تزریق شدند و حیوانات در زمانهای ۱۵، ۶۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق تحریک شده و کمیتهای تشنجی آنها اندازه‌گیری شد. ۲۴ ساعت قبل از تزریق هر دارو، سالین به حیوانات تزریق و داده‌های حاصله به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد.

تزریق داخل صفاقی CHA همراه با CPT: در گروهی از حیوانات کیندل شده، ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA (۰/۵mg/kg)، داروی CPT (۰/۵mg/kg) تزریق شد. این زمان بر اساس تجربیات قبلی بدست آمده است (۸،۱۱). سپس در زمانهای ۱۵، ۶۰، ۱۸۰ دقیقه پس از تزریق CHA، حیوانات تحریک شده و کمیتهای تشنجی آنها اندازه‌گیری گردید. درصد پاسخ بدست آمده در این گروه، با درصد پاسخ ثبت شده به هنگام تزریق CHA (۰/۵mg/kg) به تنهایی مقایسه گردید.

تأیید بافت شناسی: پس از اتمام آزمایش، حیوانات به وسیلهٔ اتر بیهوش و کشته شدند. مغز آنها از جمجمه خارج شده و در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. سپس با برش‌گیری از مغز، موقعیت الکترودها مشخص گردید. فقط داده‌های حاصل از حیواناتی که الکترودهای آنها در موقعیت مناسب قرار داشت، مورد استفاده قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج حاصله بصورت میانگین ± خطای معیار میانگین نشان داده شده و در هر مورد تعداد نمونه نیز ذکر گردیده است. برای مقایسهٔ داده‌های گروههای مختلف در زمانهای پس از تزریق، از آزمون ANOVA دو طرفه و آزمون Tukey استفاده شد. تغییرات داده‌هایی که به صورت درصد کنترل نمایشی داده شده‌اند، با استفاده از آزمون Wilcoxon مورد بررسی قرار گرفت. مقایسهٔ بین داده‌های حاصل از حیواناتی که CHA به تنهایی دریافت کرده‌اند با حیواناتی که CHA به همراه CPT به آنها تزریق شده بود، توسط آزمون t- غیر زوجها انجام شد. در تمامی موارد، مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تمامی حیواناتی که با تحریک هیپوکمپ کیندل شده بودند، قبل و بعد از تزریق سالین، مرحلهٔ ۵ تشنج را نشان دادند. CHA و CPT در دوزهای مورد استفاده، اثر قابل توجهی بر رفتار و فعالیت حرکتی حیوان نداشتند. بررسی‌های بافت‌شناسی نشان داد که الکترودها در نواحی CA1 هیپوکمپ پشتی و آمیگدال به درستی کار گذاشته شده بودند. اثر تزریق داخل صفاقی CHA یا CPT- تزریق دوزهای مختلف CHA (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثر معنی‌داری بر مرحلهٔ حمله تشنج، ADD هیپوکمپ و مدت زمان مرحلهٔ ۵ تشنج نداشت، اما مدت زمان تأخیری بین تحریک و شروع مرحلهٔ ۴ تشنج (S4L) را بطور معنی‌داری افزایش داد. آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که این اثر وابسته به دوز [$F(2,45)=3.71,P<0/05$] و زمان [$F(2,45)=4.61,P<0/05$] بوده اما بین این دو متغیر بر هم‌کنشی نیست و به دوز X زمان وابسته نمی‌باشد [$F(4,45)=1.82, P=0/141$] (شکل ۲). SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال نیز به طور معنی‌داری کاهش یافتند (نمودار ۲). آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که این اثرات شدیداً وابسته به دوز X زمان می‌باشند [$F(4,45)=4.26,P<0/001$] برای SAD هیپوکمپ و $F(4.45) = 3.12, P<0/05$ برای ADD آمیگدال].

تزریق داخل صفاقی CPT با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر کمیتهای ADD هیپوکمپ و S4L اثری نداشت اما بطور معنی‌داری S5D، SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال را تحت تأثیر قرار داد. در دوزهای ۰/۲۵، ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۵ دقیقه پس از تزریق CPT، S5D افزایش معنی‌داری نشان داد (نمودار ۳). آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که این اثر فقط وابسته به زمان

نمودار ۲- اثر تزریق مقادیر مختلف CHA بر زمان تأخیری شروع مرحلهٔ ۴ (S4L)، SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال (A-ADD) در زمانهای ۱۵ (■)، ۶۰ (□) و ۱۸۰ (□) دقیقه پس از تزریق دارو، داده‌ها به صورت mean±SEM بیان شده‌اند، n=۶ در هر گروه ، * p<۰/۰۵ در مقایسه با کنترل، آزمون Wilcoxon

است[$F(4,45)=7.83,P<0/01$] اما وابسته به دوز [$F(2,45)=0.12,P=0/89$] یا دوز X زمان[$F(4,45)=1.56,P=0/20$] نیست. SAD هیپوکمپ نیز ۱۵ دقیقه پس از تزریق دوزهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۶۰ دقیقه پس از تزریق دوز ۱ میلی‌گرم

www.SID.ir

Archive of SID

بـر کـیلوگرم CPT بـه طـور معنـی‌داری افـزایش پـیدا کـرد (شـکل ۳). ایـن اثـر وابسـته به دوز[F(2,45)=7.31 , P <۰/۰۱] و زمان[F(2, 45) =3.95, P<۰/۰۵] بود اما بر هم‌کنش معنی‌داری بین دوز و زمـان وجـود نداشت [F(4, 45) =1.34, P = 0.27]. ADD آمـیگدال هـم ۱۵ دقـیقه پـس از تـزریق CPT با دوز ۱ میلی‌گرم بر کـیلوگرم بـه طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳) که این اثر فقط وابسته به دوز بود[F(2, 45) =3/53, P<۰/۰۵].

*نمودار ۳- اثر تزریق مقادیر مختلف CPT بر روی مدت زمان مرحلهٔ ۵ تشنج (S5D)، SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال (A-ADD) در زمانهای ۱۵ (■)، ۶۰(□) و ۱۸۰(□) دقیقه پس از تزریق دارو، داده‌ها به صورت mean±SEM بیان شده‌اند، n=۶ در هر گروه ، * p<۰/۰۵ در مقایسه با کنترل، آزمون Wilcoxon*

اثـر تـزریق داخـل صفاقی CHA همراه با CPT: هنگامی که ۵ دقیقه قـبل از تزریق داخل صفاقی CHA (۰/۵mg/kg)، CPT (۰/۵ mg/kg) بـه حـیوانات تـزریق گردید، پاسخ‌دهی به CHA بسیار کاهش یافـت. CPT اثر CHA بر SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال را در زمانهای ۱۵ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق CHA حذف کرد (نمودار ۴).

*نمودار ۴- حذف اثرات کاهشی CHA بر کمیتهای SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال به دنبال پیش درمانی با CPT، CPT ؛ ۰/۵ mg/kg ۵ دقیقه قبل از CHA (۰/۵mg/kg)، داده‌ها به صورت mean±SEM بیان شده‌اند، n=۶ در هر گروه ، ** p<۰/۰۱ ، *** p<۰/۰۰۱، آزمون t مستقل*

بحث

آدنوزیـن یـک نورومدولاتـور اسـت (۵،۶) و مطالعات مختلف نشان داده‌انـد کـه تـزریق داخـل صـفاقی آنالوگهـای آن دارای اثرات ضد تشنجی می‌باشد (۹،۱۲،۱۳). CHA آگونسیت اختصاصی گیرنده‌های آدنوزینـی A1 اسـت (۱۴) کـه خـواص ضـد تشـنجی نـیز دارد (۸،۱۱،۱۵،۱۶) امـا ایـن اثـرات ضـد تشنجی در همه شرایط مشاهده نمـی‌شـود (۱۰). نـتایج بدسـت آمـده در ایـن تحقـیق نشـان داد در حیواناتـی کـه بـا تحریک الکتریکی هیپوکمپ کیندل شده‌اند، تجویز

www.SID.ir

Archive of SID

داخل صفاقی CHA شدت تشنج‌ها را کاهش داد و بیشترین تأثیر بر SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال گذاشته شد. از آنجا که تزریق CPT قبل از CHA موجب حذف این اثرات می‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که این اثرات به علت فعال شدن گیرنده‌های آدنوزینی A1 اعمال می‌شود.

پیشنهاد شده است که منشأ ایجاد SAD، هیپوکمپ نمی‌باشد (۱۷). ساختمانهایی در مغز وجود دارد که اگر به هنگام کیندلینگ هیپوکمپ به اندازه کافی فعال شوند، موجب ایجاد تشنجهای جنرالیزه شده (۱۸،۱۹) و به دنبال آن امواج تحریکی را به سوی هیپوکمپ می‌فرستند. نشان داده شده که اگر هستهٔ قاعده‌ای ـ جانبی آمیگدال کاملاً آسیب ببیند، امواج SAD هیپوکمپ کاهش می‌یابند، بدون اینکه بر امواج تخلیه متعاقب اولیه هیپوکمپ اثری گذاشته شود (۲۰). بنابراین، این احتمال مطرح شده است که ایجاد امواج SAD منعکس کننده مدارهای تحریکی بازگشتی به هیپوکمپ می باشند. این مدارها به دنبال فعالیت صرع زایی حلقه های نورونی که در خارج هیپوکمپ و به ویژه در آمیگدال قرار دارند، فعال می‌شوند (۲۰) البته برخی محققین نیز منشأ امواج SAD را نورونهای هیپوکمپ می‌دانند (۲۱). در تحقیق حاضر نیز مشابهتی که بین کاهشADD آمیگدال و SAD هیپوکمپ وجود دارد، این ایده را تقویت می‌کند که آمیگدال می‌تواند جزء نواحی خارج هیپوکمپی باشد که تخلیه‌های تحریکی را به هیپوکمپ باز می‌گرداند و باعث ایجاد SAD می‌شود (۲۰).

کمیت S4L نیز پس از تزریق CHA با دوز mg/kg ۱ به طور معنی‌داری افزایش یافت. از آنجا که شروع مرحلهٔ ۴ تشنج نشان دهنده مرحلهٔ عمومی شدن تشنج در هر دو نیمکره مغز می‌باشد، افزایش S4L به معنای تأخیر در ایجاد تشنج عمومی است. با توجه به اینکه در این دوز فعالیت اولیهٔ نورونهای هیپوکمپ (امواج تخلیه متعاقب اولیه هیپوکمپ) تغییر معنی‌داری نمی‌کند و فقط از فعالیت نورونهای آمیگدال کاسته شده است، می‌توان این احتمال را مطرح کرد که آمیگدال در عمومی شدن تشنج در کیندلینگ هیپوکمپ نقش دارد. برخی محققین نیز اعتقاد دارند که امواج متعاقب هیپوکمپ با انتشار به نواحی دیگر، موجب ایجاد تشنجهای عمومی می‌شوند و پیشنهاد شده است که آمیگدال دارای شبکه عصبی لازم برای تقویت و گسترش امواج تشنجی و ایجاد تشنجهای عمومی می‌باشد ۲۰. اما وقوع تشنج عمومی (مراحل ۴ و ۵) حتی پس از تزریق دوز بالای CHA (mg/kg ۱ که در برخی موارد امواج تخلیه متعاقب آمیگدال را تا حد زیادی مهار می‌کرد)، نشان دهنده این مطلب است که نواحی دیگری به جز آمیگدال نیز نقش مهمی در گسترش امواج تشنجی از هیپوکمپ به سایر نواحی مغز را به عهده دارند.

از طرف دیگر، افزایش شدت تشنج به دنبال تزریق داخل صفاقی CPT نشان می‌دهد که آدنوزین درون‌زا در برخی نواحی مغز به عنوان یک عامل محافظت کننده عمل می‌کند و این نکته را که آدنوزین یک ماده ضد تشنجی درون‌زا در مغز می‌باشد (۷) تأیید می‌کند.

بیشترین میزان تأثیر CPT نیز همانند CHA، بر امواج SAD هیپوکمپ و امواج تخلیه متعاقب آمیگدال اعمال شد. اینکه CPT موجب افزایش SAD هیپوکمپ و ADD آمیگدال شده و طول مدت زمان مرحلهٔ ۵ تشنج را زیاد می‌کند، اما بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب اولیهٔ هیپوکمپ تأثیری ندارد، نشان می‌دهد که رهایش آدنوزین درون‌زا در نواحی خارج از هیپوکمپ (مانند آمیگدال) در تعدیل شدت حملات تشنجی دخیل می‌باشد.

هنگامی که CHA به صورت داخل صفاقی به حیوانات کیندل شده تزریق شود، این ماده از سد خونی مغز عبور کرده وارد سیستم اعصاب مرکزی می‌شود (۲۲،۲۳) و گیرنده‌های آدنوزینی A1 را در نواحی مختلف مغز از جمله آمیگدال و هیپوکمپ تحریک می‌کند (۲۴). احتمالا فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A1 که با تراکم بسیار زیادی در ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ قرار دارند (۲۵،۲۶) شروع و گسترش امواج تشنجی از هیپوکمپ را کاهش می‌دهد. نشان داده شده است که در برشهای زنده هیپوکمپ، کاربرد آنتاگونیستهای گیرنده آدنوزینی A1 اثرات مهاری بر فعالیت نورونهای این ناحیه دارد (۲۷،۲۸). بنابراین در این تحقیق، هیپوکمپ را می‌توان یکی از نواحی احتمالی دخیل در ایجاد اثرات ضد تشنجی CHA در نظر گرفت.

علاو بر هیپوکمپ، نواحی دیگر مغز از جمله آمیگدال نیز ممکن است در اعمال اثرات ضد تشنجی CHA نقش داشته باشند. وجود گیرنده‌های آدنوزینی در آمیگدال نیز به اثبات رسیده است (۲۹). از آنجا که در این تحقیق ADD آمیگدال که نشان دهندهٔ میزان فعالیت سلولهای این ناحیه می‌باشد به دنبال تزریق داخل صفاقی CHA کاهش یافت، می‌توان احتمال نقش داشتن این ناحیه را نیز در بروز اثرات ضد تشنجی CHA مطرح نمود.

تحقیقات زیادی وجود دارد که اهمیت آمیگدال و هیپوکمپ و ارتباط وسیع بین این دو ناحیه را در مدل صرعی کیندلینگ نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

علیرغم مطالعات زیادی که در مورد فعالیت تشنجی هر یک از دو ناحیهٔ آمیگدال و هیپوکمپ صورت گرفته است، اطلاعات کمی در مورد نحوهٔ گسترش امواج تشنجی در بین این دو ناحیه در مدل صرعی کیندلینگ در دست است. هیپوکمپ به عنوان ناحیه‌ای که فعالیت آن برای ایجاد کیندلینگ ضروری است در نظر گرفته می‌شود (۳۰)، اما پیشنهاد شده است که برای بروز تشنجهای جنرالیزه، فعالیت نواحی خارج هیپوکمپی مهمتر از فعالیت نورونهای خود هیپوکمپ می‌باشد (۱۹). از طرف دیگر، گزارش شده که آمیگدال نقش مهمی در ایجاد تشنجهای سیستم لیمبیک ایفا می‌کند [۳۱] و صرف نظر از کانون ایجاد کیندلینگ، قادر به تولید امواج بین حمله‌ای(interictal spikes) می‌باشد (۳۲) و به عنوان یک محل رله‌کننده در گسترش تشنجهای هیپوکمپ عمل می‌کند (۳۳). همچنین نشان داده شده است که به دنبال کیندلینگ هیپوکمپ میزان مصرف گلوکز آمیگدال افزایش می‌یابد (۳۳).

یکی از یافته‌های مهم این تحقیق، مشاهده همزمانی امواج تخلیه متعاقب اولیه آمیگدال و هیپوکمپ است که نشان می‌دهد این امواج از هیپوکمپ به آمیگدال منتشر می‌شوند. بنابراین به دنبال تحریک هیپوکمپ، آمیگدال نیز می‌تواند به عنوان یک تولید کننده امواج تخلیه متعاقب عمل کند تا فعالیت تشنج‌زایی را در بسیاری از هسته‌های دیگر مغز نیز بوجود آورد (۲۱).

مجموع در بر اساس نتایج مطالعه حاضر، آمیگدال را می‌توان به عنوان یک ناحیهٔ رله‌کننده در گسترش امواج تخلیه متعاقب از هیپوکمپ در نظر گرفت و از طرف دیگر این ناحیه ممکن است در مدار برگشتی که هیپوکمپ را مجدداً تحریک کرده و امواج تخلیه متعاقب ثانویه را ایجاد نماید نقش داشته باشد. هر چند فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A1 آمیگدال اثر برگشتی آن بر هیپوکمپ را کاهش می دهد، اما تأثیر معنی داری بر کمیتهای تشنجی دیگر ندارد. بنابراین، نقش نواحی دیگر مغز در بروز اثرات ضد تشنجی CHA باید مورد بررسی قرار گیرد.

REFERENCES

1.Cain DP. Kindding and the amygdala. In: Aggleton, JP, editors. The amygdale: neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction. New York : Willey- liss; 1992. p. 539-60.

2. McNamara JO, Cellular and molecular basis of epilepsy. J Niurosci 1994; 14: 3413-25.

3. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: 2. motor seizure. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1972; 32: 281-94.

4. Phillis JW, Wu PH. The role of adenosine and its metabolites in central synaptic transmission. Prog Neurobiol 1981; 16: 187-239.

5. Cunha RA. Adenosine as a neuromodulator and as a homeostatic regulator in the nervous system: different roles, different sources and different receptors. Neurochem Int 2001; 38: 107–25.

6. Sebastião AM, Ribeiro JA. Fine-tuning neuromodulation by adenosine. Trends Pharmacol 2000; 21: 341–6.

7. Dragunow M. Purinergic mechanisms in epilepsy. Prog Neurobiol 1988; 31: 85-108.

8. Alasvand Zarasvand, Mirnajafi Zadeh J, Fathollahi Y, Palizvan MR. Anticonvulsant effect of bilateral injection of N^6-cyclohexyladenosine into the CA1 region of the hippocampus in amygdala-kindled rats. Epilepsy Res 2001; 47: 141-49.

9. Pourgholami MH, Mirnajafi Zadeh J, Behzadi J. Effect of intraperitoneal and intrahippocampal (CA1) 2-chloroadenosine in amygdaloid kindled rats. Brain Res 1997; 751: 259-64.

10. Mohammad Zadeh M, Amini A, Mirnajafi Zadeh J, Fathollahi Y. The role of adenosine A_1 receptors in the interaction between amygdala and entorhinal cortex of kindled rats. Epilepsy Res 2005; *in press*.

11. Mirnajafi Zadeh J, Fathollahi Y, Pourgholami MH. Intraperitoneal and intraamygdala N^6-cyclohexyladenosine suppress hippocampal kindled seizures in rats. Brain Res 2000; 858: 48-54.

12. Young, D, Dragunow M. Status epilepticus may be caused by loss of adenosine anticonvulsant mechanisms. Neuroscience 1994; 58: 245-261.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Herberg, LJ, Rose IC, Mintz M. Effect of A_1 agonist injected into substantia nigra on kindling of epileptice seizures and convusdion duration. Pharmacol Biochem Behav 1993; 44: 113-17.

14. Jacobson KA, Van Golen PJM, William M. Adenosine receptors: pharmacology, structure activity relationships and therapeutic potential. Med Chem 1992; 35: 407-22.

15. Zuchora B, Wielosz M, Urbanska EM. Adenosine A_1 receptors and the anticonvulsant potential of drugs effective in the model of 3-nitropropionic acid-induced seizures in mice. Eur Neuropsychopharmacol 2005; 5: 85-93.

16. McGaraughty S, Cowart M, Jarvis MF, Berman RF. Anticonvulsant and antinociceptive actions of novel adenosine kinase inhibitors. Curr Top Med Chem 2005; 5: 43-58.

17. Goddrad GV, Maru E. Forces for and against the kindled state as revealed by EEG and field potential analysis in the hippocampal dentate area of perforant path kindled rats. In: Wada JA, editors. Kindling 3 New York: Raven Press; 1986. p. 1-13.

18. Applegate GD, Burchfeil JL. Microinjection of GABA agonists into the amygdale complex attenuated kindled seizure expression in the rat. Exp Neurol 1988; 102: 185-9.

19. McIntyre DC, Kelly ME. Is the pyriformcortex important for limbic kindling? In: Wada JA, editors. Kindling 4 New York: Plenumm press; 1990. p. 21-32.

20. McIntyre DC, Kelly ME, Are differences in dorsal hippocampal kindling related to amygdala-piriform area excitability? Epilepsy Res 1993; 14: 46-61.

21. Ebert U, Rudfedt C, Loscher W. Development and pharmacological suppression of secondary afterdischarges in the hippocampus of amygdale kindled rats. Eur J Neurosci 1995; 7: 732-41.

22. Katims J, Annau Z, Snyder SH. Interaction in the behavioral effects of methylxanthines and adenosine derivatives. J Pharmac Exp Ther 1983; 227: 167-73.

23. Synder SH, Katims J, Annau Z, Bruns RF, Daly W. Adenosine receptors and behavioral actions of methylxanthines. Proc Natl Acad Sci 1981; 75: 3260-4.

24. Braas KM, Newby AC, Wilson VS, Snyder SH. Adenosine containing neurons in the brain localized by immonocytochecistry. J Neurosci 1986; 6: 1952-1961.

25. Lee KS, Reddington M, Schubrt P, Kreutzberg G. Regulation of the strength of adenosine modulation in the hippocampus by a differential distribution of the density of A_1 receptors. Brain Res 1983; 260: 156-9.

26. Murray TF, Cheney DL, Neuronal location of N^6-cyclohexyl^3 Hadenosine binding sites in rat and guinea pig brain. Neuropharmacology 1982; 21: 575-80.

27. Xiao MY, Karpefos M, Gustafsson B, Wigstrom H. On the linkage between AMPA and NMDA receptor-mediated EPSPs in homosycaptic long term depression in the hippocampal CA1 region of young rats. J Neurosci 1995; 15: 4496-506.

28. Thompson SM, Haas HL, Gahwiler BH, Comparison of adenosine at pre and post synaptic renaptic receptors in the rat hippocampus in vitro. J Physiol Lond 1992; 451: 347-63.

29. Ribeiro JA, Sebastiao AM, deMendonca A. Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications. Prog Neurobiol 2003; 68: 377-92.

30. Minamoto Y, Itano T, Tokuda M, Matsui H, Janjua NA, Hosokawa K, et al. In vivo microdialysis of amino acid neurotranscitters in the hippocacpus of amygdaloid dindled rats. Brain Res 1992; 573; 345-48.

31. McIntyre DC, Wong, RKS. Cellular and synaptic properties of amygdala-kindled pyriform cortex in vivo. J Neurophysiol 1986; 55: 1295- 1307.

32. Kairriss EW, Racine RJ, Smith GK. The development of interictal spike during kindling in the rat. Brain Res 1984; 322: 101-10.33. Lothman EW. Functional mapping of limbic seizure originating on the hippocampus: a combined 2-deoxyglucose and electrophysiological study. Brain Res 1985; 360: 92-100.

www.SID.ir