

نقش گیرنده های A_1 آدنوزین ناحیه CA1 هیپوکمپ در تشنج های ایجاد شده به روش کیندلینگ الکتریکی در قشر پیریفورم موش صحرایی

نویسندگان: مریم زراعتی^۱، دکتر سیدجواد میرنجفی زاده^{۲*}، دکتر یعقوب فتح الهی^۳ و سیمین نامور^۱

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی دانشگاه تربیت مدرس
۳. استاد گروه فیزیولوژی دانشگاه تربیت مدرس

Email: mirnajaf@modares.ac.ir

* نویسنده مسئول:

چکیده

مقدمه و هدف: صرع یکی از شایع ترین اختلالات عصبی است و علی رغم تحقیقات گسترده هنوز مکانیسم اصلی آن ناشناخته است. در این تحقیق، نقش گیرنده های آدنوزینی A_1 نورون های ناحیه CA1 هیپوکمپ در تشنج های ناشی از کیندلینگ قشر پیریفورم مورد بررسی قرار گرفت. روش بررسی: پس از کیندل شدن حیوانات توسط تحریک الکتریکی روزانه، N6-سیکلو هگزیل آدنوزین (CHA)، آگونیست اختصاصی گیرنده A_1 ، با غلظت های ۰/۱، ۱، ۱۰، ۱۰۰ میکرومولار و ۱،۳-دی متیل-۸-سیکلو پنتیل گزانترین (CPT) آنتاگونیست گیرنده A_1 با غلظت های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار به ناحیه CA1 هیپوکمپ تزریق شدند. حیوانات در زمان های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق تحریک شدند. به تمام حیوانات ۲۴ ساعت قبل از تزریق دارو، مایع مغزی نخاعی مصنوعی تزریق شد و از داده های حاصل به عنوان گروه کنترل استفاده گردید.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که تزریق داروی CHA با غلظت ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار به ناحیه CA1 هیپوکمپ، باعث کاهش معنادار در مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (SSD)، و مدت زمان کل تشنج (SD) شده و مدت زمان تأخیری بین تحریک تا شروع مرحله ۴ تشنج (S4L) را به طور معنادار افزایش می دهد. تزریق CHA با غلظت ۱ میکرومولار فقط ADD را به طور معناداری کاهش داد و تزریق آن با غلظت ۰/۱ میکرومولار تأثیر معناداری بر کمیت های تشنجی نداشت. تزریق CPT با غلظت ۱۰ میکرومولار به ناحیه CA1 تأثیر معناداری بر کمیت های تشنجی نداشت، ولی با غلظت ۲۰ میکرومولار باعث افزایش معنادار ADD گردید. پیش درمانی حیوانات با (۱۰۰ میکرومولار) CPT آثار CHA (۱۰۰ و ۱۰ میکرومولار) را بر کمیت های تشنجی از بین برد.

بحث: نتایج حاصل، این احتمال را مطرح می کند که فعالیت نورون های ناحیه CA1 هیپوکمپ در گسترش امواج تشنجی از قشر پیریفورم به سایر نواحی نقش داشته، فعالیت گیرنده های A_1 این نورون ها توسط CHA، باعث ایجاد آثار ضد تشنجی در کیندلینگ ناشی از تحریک قشر پیریفورم می شود.

واژه های کلیدی: تشنج، قشر پیریفورم، هیپوکمپ، کیندلینگ

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال سیزدهم - شماره ۶۲
اردیبهشت ۱۳۸۵

تاریخ وصول: ۸۳/۴/۲۸
تاریخ پذیرش: ۸۴/۱/۲۴

مقدمه

صرع بعد از سکت‌های مغزی، شایع‌ترین اختلال عصبی است [۱]. شناخت مکانیسم‌های ایجاد صرع از دیرباز از موضوعات مورد تحقیق بشر بوده و علی‌رغم تحقیقات گسترده در این زمینه هنوز مکانیسم اصلی ایجاد این اختلال ناشناخته است. امروزه تحقیقات زیادی با استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع از جمله کیندلینگ انجام می‌شود. کیندلینگ از مهم‌ترین مدل‌ها برای ایجاد تشنج به صورت مزمن است [۲]. در این مدل، حیوانات مورد آزمایش به صورت مکرر و با فواصل زمانی مشخص توسط محرک ضعیفی که در ابتدا قادر به تشنج نیست، تحریک می‌شوند و به مرور زمان همان تحریک ضعیف باعث بروز رفتار تشنجی شدیدتر شده، در نهایت به تشنج عمومی منجر می‌شود. تشنج‌های ایجاد شده به روش کیندلینگ، مشابه رایج‌ترین نوع تشنج، یعنی تشنج‌های پیچیده موضعی هستند [۳]. قشر پیریفورم به دلیل خصوصیات ذاتی و همچنین مدارهای نورونی خود، نقشی کلیدی در گسترش صرع دارد [۵ و ۴]. این قشر دارای ارتباطات زیاد با سایر نواحی سیستم لیمبیک و نواحی حسی و حرکتی بوده و به نظر می‌رسد نقش مؤثری در تولید و گسترش حملات تشنجی داشته باشد. قشر پیریفورم به دلیل ارتباطات زیاد با سایر نواحی مغزی به عنوان یک جایگاه محوری شناخته می‌شود؛ زیرا ورودی‌های زیادی از قشر لیمبیک و غیر لیمبیک دریافت می‌کند و خروجی‌های خود را به نواحی خارج لیمبیک می‌فرستد. از آنجا که ناحیه CA1 هیپوکمپ دارای ارتباطات آناتومیک با قشر پیریفورم است [۴]، احتمال دارد در گسترش امواج تشنجی از قشر پیریفورم نقش داشته باشد و انتظار می‌رود عواملی که فعالیت نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکمپ را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بر انتشار امواج تشنجی از قشر پیریفورم به سایر نقاط مغز تأثیر بگذارند. بسیاری از کارهای تحقیقاتی نشان داده‌اند که آدنوزین در مدل‌های مختلف ایجاد صرع، از

جمله کیندلینگ، اثر ضد تشنجی دارد [۷ و ۶، ۸]. آدنوزین یک تعدیل‌کننده نورونی درونزاد است که در شرایط طبیعی اثر مهاری بر فعالیت مغزی دارد که این اثر مهاری، تحریک‌پذیری نورون‌ها را تعدیل می‌کند [۹]. تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که آدنوزین اثر ضد تشنجی خود را از طریق گیرنده A_1 اعمال می‌کند [۹ و ۱۰]. گیرنده‌های A_1 با تراکم زیاد در ناحیه CA1 هیپوکمپ وجود دارند [۱۱ و ۱۲]. با توجه به تراکم گیرنده‌های آدنوزینی در CA1 هیپوکمپ و وجود ارتباطات بین پیریفورم و هیپوکمپ، هدف از این تحقیق، مشخص کردن نقش فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A_1 در نورون‌های CA1 هیپوکمپ بر تشنج‌های ایجاد شده به روش کیندلینگ در قشر پیریفورم است.

مواد و روش کار

در این تحقیق از موش صحرایی نر نژاد اسپراگ - داوولی (Sprague-Dawely)، در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۱۰۰ mg/kg) و رامپون (به نسبت ۸ به یک) بیهوش شده، در استریوتاکس قرار می‌گرفتند. پس از باز کردن سطح جمجمه، دو الکتروود تک قطبی که به عنوان Differential و Earth بودند توسط پیچ‌های متصل به آن‌ها، بر روی جمجمه محکم می‌شدند. در این تحقیق برای ایجاد کیندلینگ در قشر پیریفورم، بر اساس اطلس پاکسینوز و واتسون [۱۳] الکتروود سه قطبی در قشر پیریفورم با مختصات ۰/۲ میلی‌متر به سمت جلو نسبت به برگما، ۴ میلی‌متر به سمت راست و ۷/۶ میلی‌متر پایین‌تر از سخت شامه قرار می‌گرفت. دو قطب از این الکتروود برای تحریک قشر پیریفورم و یک قطب آن برای ثبت به کار می‌رفت. کانول‌های راهنما نیز به صورت دو طرفه در ناحیه CA1 هیپوکمپ پستی با مختصات ۳/۶ میلی‌متر به سمت عقب نسبت به برگما، ۲/۳ میلی‌متر به سمت راست و چپ و ۲/۲

حمله تشنج (seizure stage: SS). فواصل زمانی در تمام کمیت‌ها به وسیله کامپیوتر اندازه‌گیری می‌شد. آزمایش‌ها در ۲۴ گروه صورت گرفت و در هر گروه حداقل ۶ حیوان استفاده گردید.

داروها

در این تحقیق از داروی N6-سیکلوهاگزیل آدنورین (CHA; ساخت شرکت سیگما-آمریکا) به‌عنوان آگونیست اختصاصی گیرنده‌های A1 آدنورینی و داروی ۳-او-دی متیل-۸-سیکلوپنتیل گزانتین (CPT; ساخت شرکت RBI - آمریکا) به‌عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های آدنورینی A1 استفاده شد. داروها برای تزریق در مایع مغزی نخاعی (ACSF) حل و pH آن‌ها در محدوده ۷/۲ تا ۷/۴ تنظیم شد. ترکیبات لازم برای ساخت ACSF عبارتند از:

- NaH_2PO_4 (1.25 mM)
- Glucose (10 mM)
- CaCl_2 (1 mM)
- NaHCO_3 (2.6 mM)
- MgSO_4 (2 mM) NaCl (114 mM)
- KCl (3 mM)

تزریق دارو

تزریق CHA یا CPT به ناحیه CA1 هیپوکمپ CHA با غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار و CPT با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میکرومولار به حیوانات کیندل شده تزریق شد (1 μL/2min). حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق تحریک شده، کمیت‌های تشنجی آن‌ها اندازه‌گیری گردید. در همه آزمایش‌ها، ۲۴ ساعت قبل از تزریق داروها، به حیوانات ACSF تزریق و از داده‌های به‌دست آمده به‌عنوان گروه کنترل استفاده می‌گردید. برای بررسی اثر هر غلظت از دارو در هر زمان از یک گروه مجزا استفاده شد.

میلی‌متر پایین‌تر از سخت شامه کار گذاشته می‌شدند [۱۳]. سپس پین‌های متصل به الکترودها وارد سوکت مخابراتی شده، سوکت به وسیله سیمان دندان‌پزشکی روی سطح مجسمه محکم می‌گردید. یک هفته پس از جراحی، شدت آستانه تحریک تعیین می‌شد؛ بدین ترتیب که ابتدا قشر پیریفورم حیوان توسط جریانی با شدت ۱۰ μA تحریک می‌شد. اگر این شدت جریان برای ایجاد امواج تخلیه متعاقب حداقل به مدت ۵ ثانیه کافی بود به‌عنوان جریان آستانه در نظر گرفته می‌شد و در غیر این صورت، با فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای، شدت جریان هر بار ۱۰ میکرو آمپر افزایش می‌یافت تا این‌که تخلیه‌های متعاقب ثبت گردد. سپس حیوانات هر ۲۴ ساعت یک بار با شدت جریان آستانه تحریک می‌شدند تا این‌که کیندل شده، مرحله ۵ تشنج را نشان دهند. مراحل حمله تشنجی در مدل کیندلینگ عبارتند از: مرحله اول، حرکات دهان و صورت؛ مرحله دوم، انقباض عضلات گردن و حرکات سر به بالا و پایین؛ مرحله سوم، کلونوس در یکی از اندام‌های جلویی؛ مرحله چهارم، ایستادن حیوان روی اندام‌های عقبی همراه با کلونوس دو اندام جلویی؛ و مرحله پنجم، اختلال در تعادل و زمین خوردن [۱۴].

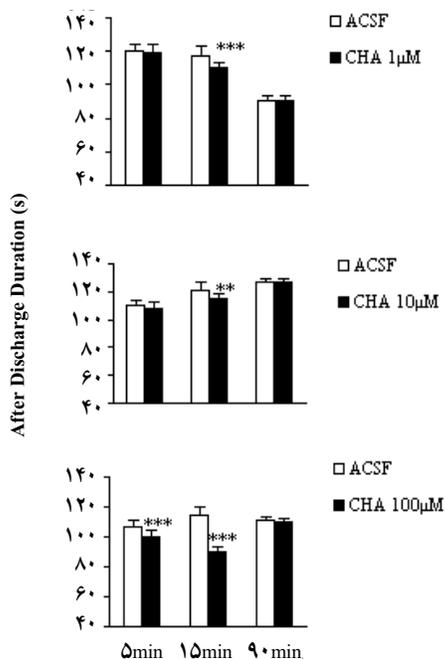
آزمایش‌ها بر روی حیواناتی صورت می‌گرفت که حداقل پنج بار مرحله ۵ تشنج را نشان می‌دادند. کمیت‌هایی که بعد از هر بار تحریک اندازه‌گیری می‌شدند، عبارت بودند از: مدت زمان تخلیه‌های متعاقب قشر پیریفورم، یعنی فاصله زمانی بین شروع تحریک اعمال شده به حیوان تا خاتمه ثبت امواج تخلیه متعاقب از قشر پیریفورم (afterdischarge duration: ADD)، مدت زمان تأخیری بین تحریک الکتریکی و شروع مرحله ۴ (stage 4 latency: S4L)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (stage 5 duration: S5D) که فاصله زمانی بین شروع مشاهده علائم مرحله ۵ تشنج تا خاتمه علائم این مرحله تشنج است، (seizure duration: SD) یعنی فاصله زمانی بین تحریک اعمال شده به حیوان تا خاتمه علائم تشنجی و برگشت حیوان به حالت طبیعی، و مرحله

دادند. CHA و CPT در دوزهای مورد استفاده اثر قابل توجهی بر رفتار و فعالیت حرکتی حیوان نداشتند. بررسی‌های بافت‌شناسی نیز وجود الکترودر قشر پیرفورم و کانول را در ناحیه CA1 هیپوکمپ تأیید کردند.

نتایج

اثر تزریق CHA به ناحیه CA1 هیپوکمپ

به دنبال تزریق غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار CHA، کاهش معناداری در ADD ثبت شده از قشر پیرفورم در زمان‌های ۵ و ۱۵ دقیقه پس از تزریق مشاهده شد و آزمون آنوا دوطرفه نشان داد که این اثر وابسته به دوز ($p < 0/001$)، زمان ($p < 0/001$) و دوز \times زمان ($p < 0/001$) است (شکل ۱).



شکل ۱ اثر تزریق دو طرفه CHA (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به هیپوکمپ بر زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD) حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار و بر حسب ثانیه نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در تمام گروه‌ها ۶ سر است. * نشان‌دهنده $p < 0/05$ ، ** نشان‌دهنده $p < 0/01$ ، *** نشان‌دهنده $p < 0/001$ و در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون «تی» زوجی است.

تزریق CHA همراه با CPT به ناحیه CA1 هیپوکمپ در این آزمایش، تزریق CPT (۱۰ میکرومولار) ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA (۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) صورت گرفت و حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق CHA تحریک شدند و تمام کمیت‌های تشنجی بعد از تحریک اندازه‌گیری گردید.

تأیید بافت‌شناسی

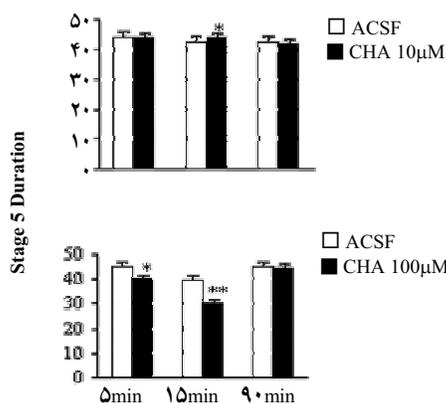
پس از پایان هر آزمایش برای اطمینان از قرار داشتن الکترودها و کانول‌ها در محل مورد نظر به محل کانول ۱μl رنگ آبی متیلن تزریق شد و محل الکترودر نیز توسط جریان الکتریکی مستقیم با شدت ۱mA و به مدت ۸ ثانیه تخریب گردید. پس از پرفیوژن، مغز حیوانات خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. بعد از یک هفته محل الکترودر و کانول برش‌گیری شد تا محل الکترودر و کانول مشخص گردد. فقط از داده‌های حاصل از حیواناتی که الکترودر و کانول آن‌ها در موقعیت مناسب قرار داشت، استفاده گردید.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

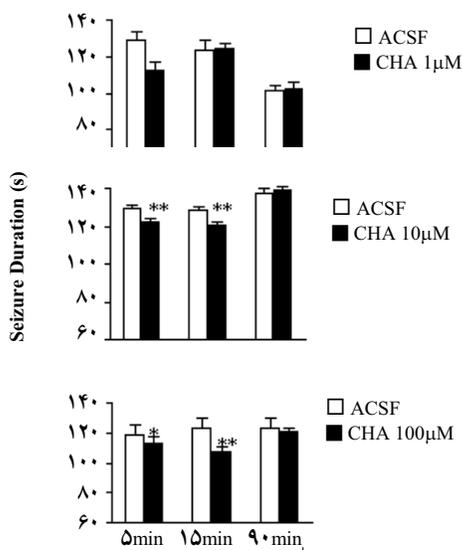
برای مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف CHA، CPT در زمان‌های پس از تزریق دارو بر کمیت‌های تشنج از آزمون آنوا (ANOVA) دوطرفه (از نوع کاملاً رندوم) و آزمون توکی (tukey) استفاده شد. جهت مقایسه هر یک از کمیت‌ها با گروه کنترل مربوط از آزمون «تی» زوجی استفاده گردید. همچنین برای مقایسه گروه‌هایی که CHA همراه با CPT دریافت کرده بودند، با گروه‌هایی که CHA به تنهایی گرفته بودند، ابتدا داده‌ها بر حسب درصد کنترل محاسبه شد و سپس از آزمون «تی» غیر زوجی استفاده شد.

یافته‌ها

تمام حیواناتی که با تحریک قشر پیرفورم کیندل شده بودند، قبل و بعد از تزریق ACSF مرحله ۵ را نشان



شکل ۳ اثر تزریق دوطرفه CHA (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به هیپوکمپ بر مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S5D). حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و بر حسب ثانیه نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در تمام گروه‌ها ۶ سر است. * نشان‌دهنده $p < 0.05$ ، ** نشان‌دهنده $p < 0.01$ ، *** نشان‌دهنده $p < 0.001$ (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون t-زوجی است.

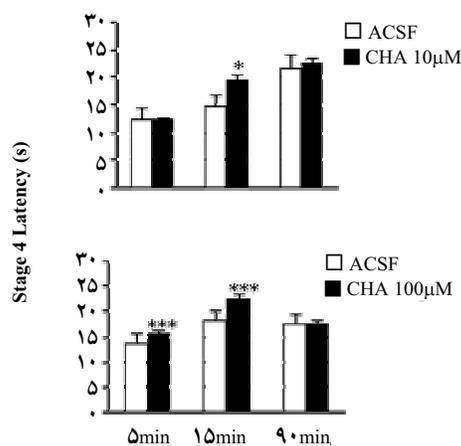


شکل ۴ اثر تزریق دو طرفه CHA (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به هیپوکمپ بر مدت زمان حمله تشنج (SD). حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و بر حسب ثانیه نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در تمام گروه‌ها ۶ سر است. * نشان‌دهنده $p < 0.05$ ، ** نشان‌دهنده $p < 0.01$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون «تی» زوجی است.

کمیت S4L، ۵ و ۱۵ دقیقه پس از تزریق CHA با غلظت ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار و در زمان ۱۵ دقیقه پس از تزریق ۱۰ میکرومولار CHA به‌طور معنادار افزایش یافت و بر اساس آزمون آنوا دو طرفه این اثر وابسته به دوز، زمان یا دوز × زمان نیست (شکل ۲).

کمیت‌های S5D و SD، ۵ و ۱۵ دقیقه پس از تزریق CHA با غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار به‌طور معنادار کاهش یافتند. آزمون آنوا دوطرفه نشان داد که فقط تغییرات S5D وابسته به دوز ($p < 0.001$) و وابسته به زمان ($p < 0.01$) است (شکل ۳).

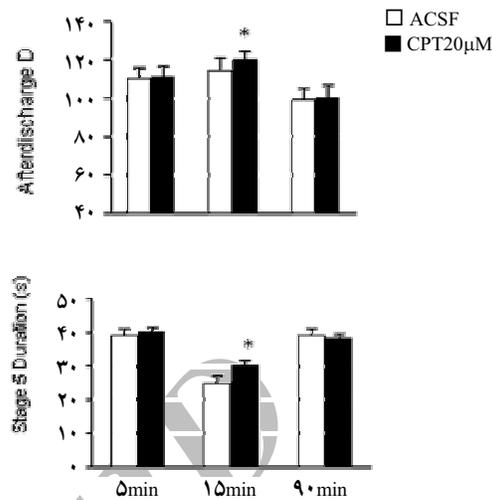
اثر تزریق CPT به ناحیه CA1 هیپوکمپ با غلظت ۲۰ میکرومولار ۱۵ دقیقه پس از تزریق باعث افزایش معنادار در ADD و S5D گردید. آزمون آنوا دو طرفه نشان داد که این تغییرات وابسته به دوز، زمان یا دوز × زمان نیستند (شکل ۴).



شکل ۵ اثر تزریق دو طرفه CHA (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به هیپوکمپ بر زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S4L). حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و بر حسب ثانیه نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در تمام گروه‌ها ۶ سر است. * نشان‌دهنده $p < 0.05$ ، ** نشان‌دهنده $p < 0.01$ ، *** نشان‌دهنده $p < 0.001$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون «تی» زوجی است.

گردیده نشان می‌دهند که آدنوزین و آگونیست‌های آن، آثار ضد تشنجی خود را از طریق گیرنده A₁ اعمال می‌کنند [۱۵ و ۱۶]. در تحقیقات قبلی این آزمایشگاه نیز به دنبال تزریق آگونیست اختصاصی گیرنده‌های آدنوزینی A₁ به ناحیه هیپوکمپ [۱۷]، آمیگدال [۱۸]، قشر پری رانیال [۱۹] و قشر انتورنیال [۲۰]، آثار مهار بر کیندلینگ آمیگدال مشاهده شده است. همه این آثار نشان‌دهنده اهمیت گیرنده‌های آدنوزینی A₁ است. با توجه به تراکم زیاد گیرنده‌های A₁ در ناحیه CA1 هیپوکمپ به نظر می‌رسد ناحیه CA1 هیپوکمپ نقش مؤثری در ایجاد آثار ضد تشنجی از طریق گیرنده‌های A₁، در تشنج‌های ناشی از کیندلینگ نواحی مختلف از جمله پیرفورم داشته باشد. در این تحقیق، تزریق CHA با غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار به صورت دو طرفه به ناحیه هیپوکمپ پشتی، باعث کاهش معنادار در ADD ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکمپ شد که این مسئله نشان‌دهنده تأثیرات ضد تشنجی آدنوزین از طریق گیرنده‌های A₁ است.

مطالعات گذشته نشان می‌دهد که قشر پیرفورم دارای پتانسیل صرع زایی زیاد است. عنوان شده که قشر پیرفورم نقش حیاتی در تولید و توزیع تخلیه‌های صرعی سیستم لیمبیک دارد. سیستم لیمبیک، قشر پیرفورم را برای فعالیت‌های صرعی بسیج می‌کند و یک کانون ثانویه به وجود می‌آورد که به عنوان یک تقویت‌کننده دائمی حملات صرعی عمل می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که فعالیت‌های صرعی در قشر پیرفورم منجر به آسیب‌های نورونی غیر قابل برگشت در ناحیه CA1 هیپوکمپ می‌شود [۲۱]. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که اگر فعالیت نورونی در ناحیه قشر پیرفورم مهار شود، آسیب به هیپوکمپ بر اثر اسکیمی یا تحریک زیاد کاهش می‌یابد [۲۲]. بنابراین، نقش هیپوکمپ در گسترش امواج تشنجی ناشی از قشر پیرفورم مهم به نظر می‌رسد. تغییرات مشاهده شده در این تحقیق، همگی دلالت بر آثار ضد تشنجی داروی به کار رفته دارند.



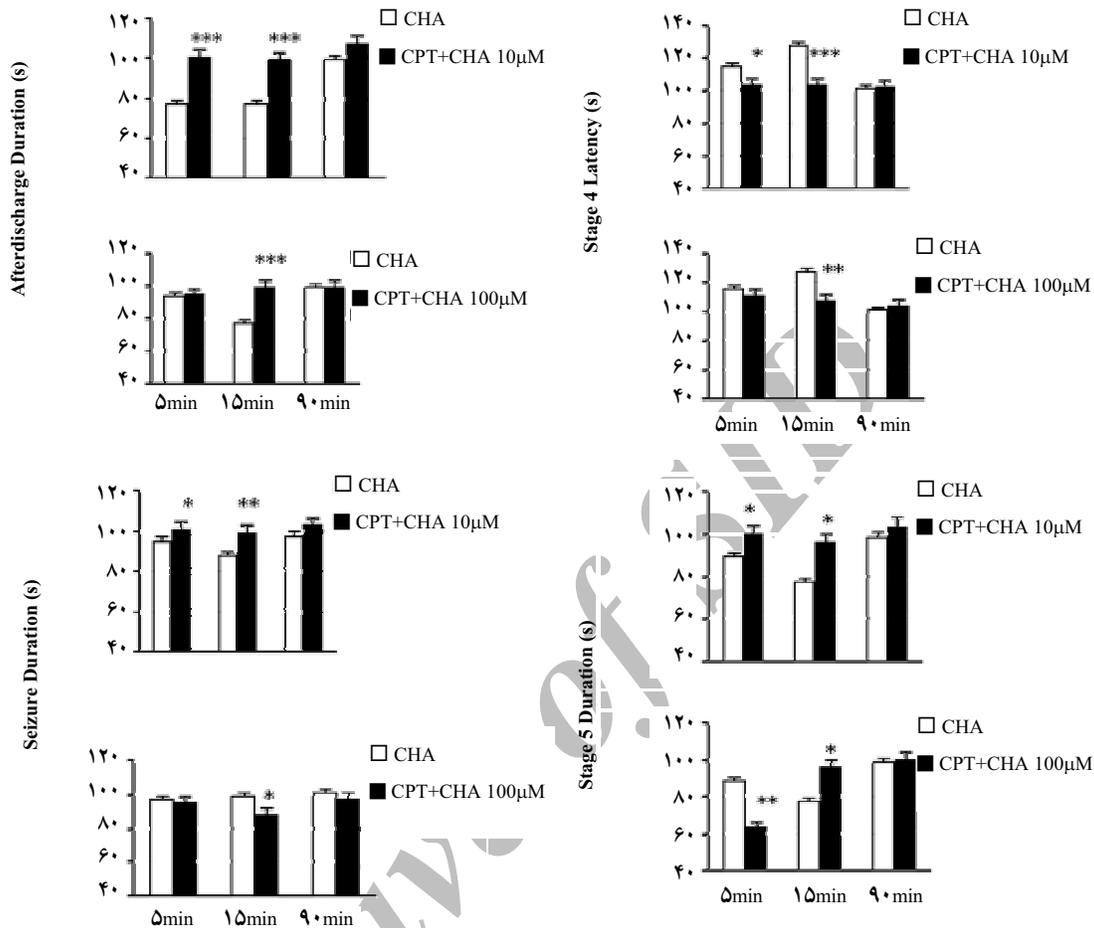
شکل ۵ اثر تزریق دو طرفه CPT (۲۰ میکرومولار) به هیپوکمپ بر زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD) و مدت زمان مرحله ۵ تشنج (SSD). حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار و بر حسب ثابته نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در تمام گروه‌ها ۶ سر است. * نشان‌دهنده $p < 0.05$ ، ** نشان‌دهنده $p < 0.01$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون «تی» زوجی است.

اثر تزریق CHA همراه با CPT به ناحیه CA1 هیپوکمپ
آزمون «تی» غیر زوجی نشان داد در دو گروه از حیوانات که CPT با غلظت ۱۰ میکرومولار را ۵ دقیقه قبل از CHA ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولاری به حیوانات، اثر CHA بر کمیت‌های تشنجی در مقایسه با گروهی که CHA به تنهایی تزریق شده بود، کاهش یافت (شکل ۵).

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A₁ ناحیه CA1 هیپوکمپ، شدت تشنج‌های ناشی از کیندلینگ قشر پیرفورم را کاهش می‌دهد.

آثار ضد تشنجی آدنوزین در بسیاری از مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد تشنج، از جمله کیندلینگ نشان داده شده است [۶ و ۸]. مطالعاتی که در گذشته انجام



شکل ۶ اثر تزریق دو طرفه CPT (۱۰ میکرومولار)، ۵ دقیقه قبل از CHA (۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به هیپوکمپ بر زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD)، زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S4L)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (SSD) و مدت زمان حمله تشنج (SD). حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار و بر حسب ثابته نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در تمام گروه‌ها ۶ سر است. * نشان‌دهنده $p < 0.05$ ، ** نشان‌دهنده $p < 0.01$ ، *** نشان‌دهنده $p < 0.001$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون «تی» غیرزوجی است.

احتمال مطرح شود که آثار دارو ۵ دقیقه پس از تزریق مربوط به هیپوکمپ بوده، ولی در ۱۵ دقیقه دارو به نواحی دیگری در اطراف هیپوکمپ منتشر شده و آن نواحی نیز نقش داشته‌اند، ولی آزمایش‌های قبلی بر روی توزیع رنگ‌های قطبی در مغز موش‌های صحرایی نشان داد که حتی پس از ۱۵ دقیقه هم دامنه انتشار دارو

مشاهده تغییرات معنادار در کمیت‌های تشنجی در مدت زمان ۵ و ۱۵ دقیقه پس از تزریق CHA به این علت است که اولاً CHA به راحتی توسط آنزیم‌ها تجزیه نشده و همچنین به دلیل این‌که محلولیت آن در چربی ناچیز است، می‌توان گفت این آثار، محدود به همان ناحیه تزریق است. هر چند ممکن است این

۵ دقیقه قبل از CHA در ناحیه CA1 هیپوکمپ تزریق گردید و نتایج به دست آمده نشان داد که در این حالت اثرات ضد تشنجی هنگام تزریق آگونیست‌های آدنوزین به تنهایی مشاهده می‌شد، بروز نمی‌کند و حذف اثرات ضد تشنجی هنگام استفاده از CPT قبل از CHA نشان می‌دهد که اثرات CHA از طریق گیرنده‌های آدنوزینی A₁ اعمال می‌شود. برای پی بردن به نقش آدنوزین درونزاد در ناحیه CA1 هیپوکمپ CPT، به تنهایی و به صورت دو طرفه در این ناحیه تزریق گردید که در غلظت ۱۰ میکرومولار هیچ تغییری در کمیت‌های تشنجی ایجاد نکرد در صورتی که با دوز ۲۰ میکرومولار باعث تقویت کمیت‌های تشنجی شد. بنابراین تشدید شدت تشنج‌های ناشی از کیندلینگ قشر پیرفورم به دنبال تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده A₁، نشان می‌دهد که آنتاگونیست به کار برده شده از تأثیر آدنوزین درونزاد جلوگیری کرده و نقش آدنوزین درونزاد به عنوان یک تبدیل کننده حملات تشنجی تأیید می‌شود.

محدود به ناحیه تزریق است و دارو حداکثر تا فاصله ۵mm از محل تزریق منتشر می‌شود. در این تحقیق، هیچ یک از کمیت‌های ثبت شده در زمان ۹۰ دقیقه پس از تزریق دارو تغییر معناداری نداشتند و احتمالاً در این زمان، دارو فرصت متابولیسم را داشته و ممکن است به نواحی اطراف منتشر شده باشد.

آدنوزین به وسیله گیرنده‌های آدنوزینی A₁ از طریق فعال کردن کانال‌های پتاسیمی و کلری، مهار آدنیلات سیکلاز، فعال کردن فسفولیپاز C، مهار کانال‌های کلسمی و مهار ره‌ایش نوروترانسمیترهای تحریکی عمل می‌کند [۲۳]. در شرایط گزارش شده است که آنالوگ‌های آدنوزین باعث مهار ره‌ایش میانجی‌های تحریکی مثل گلوتامات، آسپاراتات [۲۴]، استیل‌کولین و نورآدرنالین [۲۵] است. بنابراین احتمال داده می‌شود آدنوزین در ناحیه CA1 هیپوکمپ از طریق مهار ره‌ایش نوروترانسمیترهای تحریکی عمل می‌کند.

برای تأیید این موضوع که آیا CHA واقعاً از طریق فعال کردن گیرنده‌های A₁، اثرات ضد تشنجی خود را اعمال می‌کند، CPT، آنتاگونیست اختصاصی گیرنده A₁،

جدول ۱ اثر تزریق دو طرفه CPT به ناحیه هیپوکمپ بر کمیت‌های تشنجی در کیندلینگ قشر پیرفورم حیوانات ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق تحریک شدند. در هر مورد، داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در این گروه‌ها ۶ سر است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود تزریق CPT اثر معناداری بر کمیت‌های تشنجی نداشت.

SD	S5D	S4L	ADD	ماده تزریقی	زمان
$\pm 107/72$	$\pm 26/55$	$\pm 12/89$	$\pm 111/54$	ACSF CPT	۵ دقیقه
$\pm 406/34$	$\pm 26/13$	$\pm 12/57$	$\pm 112/66$		
$\pm 103/05$	$\pm 30/54$	$\pm 24/75$	$\pm 108/37$	ACSF CPT	۱۵ دقیقه
$\pm 102/70$	$\pm 31/08$	$\pm 25/20$	$\pm 109/63$		
$\pm 109/33$	$\pm 21/83$	$\pm 12/74$	$\pm 99/91$	ACSF CPT	۹۰ دقیقه
$\pm 110/63$	$\pm 19/19$	$\pm 12/64$	$\pm 96/36$		

نتیجه‌گیری

مه‌ار کامل فعالیت‌های تشنجی می‌شود. اگرچه تزریق CHA به ناحیه CA1 هیپوکمپ باعث تغییر معنادار در کمیت‌های تشنجی گردید، اما چون قادر به مه‌ار مرحله تشنجی به‌طور کامل نیست، احتمالاً علاوه بر ناحیه CA1 هیپوکمپ نواحی دیگری در مه‌ار تشنجات ناشی از قشر پیرفورم نقش دارند که البته تحقیقات وسیع‌تری برای بررسی این موضوع لازم است.

به‌طور کلی نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد در حیواناتی که با تحریک الکتریکی قشر پیرفورم کیندل شده‌اند تزریق دو طرفه غلظت‌های مختلف CHA به ناحیه CA1 هیپوکمپ در گسترش امواج تشنجی قشر پیرفورم مؤثر بوده است. فعالیت گیرنده‌های A_1 موجب کاهش شدت تشنج در این ناحیه گردیده است. مطالعات نشان می‌دهد تزریق CHA به شکل IP موجب

منابع

- Gregory L, Holmes G, Ben-Ari Y. The neurobiology and consequences of epilepsy in the developing brain. *Ped Res* 2001; 49:320-325.
- Krous T.K. Sensitization phenomena in psychiatric illness: Lessons from the kindling model. *J Neuropsychiat Clin Neurosci* 2000; 12: 328-355.
- Simonato M, Varani K, Muzzollini A, Bianchi C, Beani L, Borea P A. Adenosine A_1 receptors in the rat brain in the kindling model of epilepsy. *Eur J Pharmacol* 1994; 262:121-124.
- Loscher W, Ebert U. The role of the piriform cortex in kindling. *Prog Neurobiol* 1996; 50:427-481.
- Suhomeleva L, Haugvicova R. Lithium pilocarpine status epilepticus-induced neuropathology of piriform cortex and adjoining structures in rats is age-dependent. *Physiol Res* 2003; 52:251-264.
- Albertso T.E, Start L.G, Tooy R.M, Bowyer J.F. Aminophyline and kindled seizures. *Ezp Neurol* 1983; 81:703-713.
- Bortolotto Z A, Mello L E, Turski L, Cavalheiro E A. Effect of 2-chloroadenosine on amygdaloid and hippocampal kindled seizures. *Arch Int. Pharmacodyn. Ther* 1985; 277:313-320.
- Dragunow M, Goddard G V, Lavrty R. Is adenosine an endogenous anticonvulsant? *Epilepsia* 1985; 26: 480-487.
- Dunwiddie TV, Masino S. The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 31-55.
- Dunwiddie T. Adenosin and suppression of seizures. *Med Res* 1999; 79:1001-1010.
- Klinger M, Fressmuth M, Nanoff C. Adenosine receptors: Gprotein mediated signaling and the role of accessory proteins. *Cell. Signal* 2002; 14:99-108.
- Dunwiddie TV, Masino S. The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 31-55.
- Paxinos G, Watson C. The rat brain stereotaxic coordinates. Academic press.1986.
- Mc Namara I O, Byrne M C, Dasheiff R M, Fitz J G. The kindling model of epilepsy: A review. *Prog Neurobiol* 1980; 15:139-159.
- Dunwidde T V. Adenosine and suppression of seizure. In ; jaspers basic mechanisms of epilepsies, vol 79; edited by Delgado- Escueta A. V., Wilson W. A., Olsen R. W., Proter R. J., Philadelphia; lippincott Williams and Wilkins; 1999: pp.1001-1010.
- Green W, Ltass H.L. The electrophysiology of adenosine in the mamalian central nervous system. *Prog Neurobiol* 1991; 36:329-341.
- Alasvandzarasvand M, Mirnajafizadeh J, fathollahi Y, Palizvan M R. Anticonvulsant effect of bilateral injection of N^6 -cyclohexyladenosine into the rats. *Epilepsy Res* 2001; 41-49.
- Mirnajafi Zadeh J, Fathollahi Y, Purgholami M H. Intraperitoneal, intra amygdala N^6 -cyclohexyladenosine suppress hippocampal kindled seizures in rats. *Brain Res* 2000; 858:48-54.
- Mirnajafi Zadeh J, Pourgholami M H, Palizvan MR, Rostampour M, Fallahi M. Anticonvulsant action of 2-choloroadenosine injected focally into the perirhinal cortex in amygdala kindled rats. *Epilepsy Res* 1999; 37:37-43.
- محمدزاده محمد، میرنجفی‌زاده سیدجواد، فتح‌اللهی یعقوب، روضاتی سیدعلی، اثر تعدیل فعالیت‌های گیرنده‌های آدنوزینی نورون‌های قشر اتورینال بر شدت تشنج‌های ناشی از کیندلینگ آمیگدال در موش‌های صحرایی. نشریه پزشکی یاخته، سال ۱۳۸۱، شماره ۱۴: صفحات ۷۱-۷۸.

21. Snakar R, Shine D L, Mazarati A, Vasconcelos A, Wasterlain C G. Pattern of status epilepticus- induced neuronal injury during development and long-term consequent. *J Neurosci* 1998; 18: 8382-8393.
22. Ekstrand J, Domroese E, Johnson m G, Feig L, Knodel M, Haberly B. A new subdivision of anterior piriform cortex and associated deep nucleus with novel features of interest for olfaction and epilepsy. *J Comp Neurolo* 2001; 434: 289-307.
23. Guieu R, Couraud F, Pouget J, Sampierri F, Bechis G, Rochat H. Adenosine and the nervous system. *Clin Neuropharmacol* 1996; 19: 459-474.
24. Dragunow M, Goddard G V, Laverty R. Is adenosine an endogenous anticonvulsant? *Epilepsia* 1998; 26:480-487.
25. Bengzon J, Kalen P, Lindvall O. Evidence for long term reduction of noradrenalin release after kindling in the rat hippocampus. *Brain Res* 1988; 449: 161-164.

Archive of SID