فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۵، شماره ۲، پائیز و زمستان ۸۰
Archive of SID

اثر فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A_1 در ناحیهٔ هیپوکمپ بر تشنج‌های ناشی از تحریک الکتریکی آمیگدال

مسعود علاسوند ، سید جواد میرنجفی زاده ، یعقوب فتح الهی ، سید مصطفی مرتضوی ، محمدرضا پالیزوان

دانشگاه تربیت مدرس ، دانشکدهٔ پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

در این تحقیق نقش گیرنده‌های A_1 آدنوزین در ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ بر تشنج‌هایی که از طریق کیندلینگ آمیگدال ایجاد شده بود، مورد ارزیابی قرار گرفت. در تمامی حیوانات یک الکترود سه قطبی در آمیگدال و دو کانول راهنما در ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ کار گذاشته شد و با تحریک روزانهٔ آمیگدال حیوانات کیندل شدند. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که در حیوانات کیندل شده تزریق دو طرفهٔ N^6-سیکلوهگزیل آدنوزین (CHA) با غلظت‌های ۰/۱ ، ۱ و ۱۰ میکرومولار به ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ در زمان‌های ۵ ، ۱۵ و ۶۰ دقیقه پس از تحریک باعث کاهش معنی‌دار مدت زمان امواج تخلیهٔ متعاقب (ADD) و مدت زمان مرحلهٔ۵ تشنج گردید. همچنین زمان تأخیری بین تحریک تا شروع مرحله ٤ تشنج را افزایش داد اما در مرحلهٔ حمله هیچ تغییری به وجود نیاورد.

همچنین تزریق دو طرفهٔ ۱، ۳- دی متیل -۸- سیکلوپنتیل گزانتین (CPT) با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میکرومولار به ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ هیچ تغییر معنی‌داری در کمیت‌های تشنج ایجاد نکرد. هنگامی که ۵ دقیقه بعد از تزریق دو طرفهٔ CHA با غلظت‌های ۰/۱ و ۱ میکرومولار به داخل هیپوکمپ، CPT با غلظت ۱ میکرومولار به این ناحیه تزریق شد، به طور معنی‌داری اثرات CHA بر کمیت های تشنجی حذف گردید. بنابراین با توجه به نتایج فوق می‌توان این احتمال را مطرح نمود که ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ در گسترش امواج تشنجی از آمیگدال به سایر نواحی نقش داشته و فعالیت گیرنده‌های A_1 آدنوزین این ناحیه، در بروز اثرات ضد تشنجی آگونیست‌های آدنوزین دخیل می‌باشند.

واژه‌های کلیدی : صرع ، آدنوزین ، آمیگدال ، هیپوکمپ ، کیندلینگ.

مقدمه

با توجه به اینکه مکانیسم‌های ایجاد صرع هنوز به درستی شناخته نشده‌اند و راه درمانی مناسبی برای این اختلال عصبی یافت نشده است [۳۸] برای شناخت بیشتر این اختلال عصبی، از مدل‌های آزمایشگاهی مختلفی برای ایجاد آن در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود. یکی از این مدل‌ها کیندلینگ می‌باشد. در این مدل اعمال مکرر تحریکاتی که در ابتدا قادر به ایجاد تشنج نمی‌باشند، به تدریج منجر به بروز رفتارهای تشنجی در حیوان می گردد

www.SID.ir

[۹]. تاکنون با استفاده از این مدل نقش بسیاری از عوامل تشنج‌زا مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از این مواد، آدنوزین است. آدنوزین به عنوان یک تعدیل کننده عصبی با اثرات ضد تشنجی درون‌زاد، شناخته شده است [۴۵، ۸، ۷]. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که تزریق آگونیست‌های آدنوزین به صورت داخل صفاقی [۲۵، ۱۹، ۱۰، ۹] و داخل بطنی [۱۲] موجب مهار حملات ناشی از کیندلینگ آمیگدال می‌گردد اما مشخص نیست که این اثر در نتیجهٔ مهار عمومی تحریک پذیری مغز می‌باشد یا مربوط به قسمتی از مغز است که در تولید امواج تخلیهٔ متعاقب نقش دارد و یا در نتیجهٔ جلوگیری از توسعه و انتشار صورت می‌گیرد. بنابراین با تزریق موضعی آگونیست‌های آدنوزین اثرات ضد تشنجی این ماده در نواحی مختلف مغز مشخص می‌گردد [۲۹، ۲۶، ۲۵، ۲۰، ۱۹، ۱۵]. هیپوکمپ یکی از نواحی مهم مغزی است که در توسعه و انتشار کیندلینگ آمیگدال نقش دارد [۱]. گزارش شده است که استفاده از آگونیست‌های گیرندهٔ آدنوزین A_1 موجب مهار رهایش واسطه‌های شیمیایی تحریکی در هیپوکمپ شده [۴۴، ۴۱] و تزریق آگونیست اختصاصی گیرندهٔ آدنوزینی A_1 موجب مهار کیندلینگ هیپوکمپ می‌گردد [۲۹]. بنابراین با توجه به ارتباط آناتومیکی [۳، ۱۷، ۴۰] و عملی [۱۸، ۳۶] بین آمیگدال و هیپوکمپ، در این تحقیق اثر تزریق N^6-(CHA) cyclohexyladenosine. آگونیست اختصاصی گیرندهٔ آدنوزینی A_1 و ۱، ۳ دی متیل -۸- سیکلوپنتیل گزانتین (CPT)، آنتاگونیست اختصاصی گیرندهٔ آدنوزینی A_1، در کیندلینگ آمیگدال مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جراحی حیوانات و ایجاد کیندلینگ : در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر با وزن ۳۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. برای کارگذاری الکترود و کانول، حیوانات به وسیلهٔ پنتوباربیتال (۵۰ mg/kg i.p.) بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکس قرار داده شدند. پوست سر از قسمت میانی برش داده شد. یک الکترود سه قطبی در هستهٔ قاعده‌ای - جانبی آمیگدال که مختصات آن بر اساس اطلس Paxinos [۲۳]، ۲/۵ میلیمتر به عقب، ۴/۸ میلیمتر به راست نسبت به برگما و ۷/۵ میلیمتر از سطح سخت شامه است، قرار داد شد. دو الکترود دیگر که به عنوان زمین و دیفرنشیال به کار می‌روند، به وسیلهٔ پیچ به سطح جمجمه متصل گردیدند. دو کانول راهنما نیز در هیپوکمپ با مختصات ۳/۶ میلیمتر به عقب، ۲/۳ میلیمتر به راست و چپ نسبت به برگما و ۲/۲ میلیمتر پایین‌تر از سخت شامه کار گذاشته شد. سپس پین‌های متصل به الکترودها را وارد سوکت کرده و سوکت به وسیلهٔ سیمان دندانپزشکی بر روی سطح جمجمه متصل گردید. بعد از جراحی، حیوانات به مدت یک هفته استراحت کرده و سپس مورد آزمایش قرار گرفتند. در این تحقیق ابتدا باید موش‌ها کیندل شوند. برای این کار ابتدا آمیگدال با شدت ۱۰ میکرو آمپر تحریک می‌شد. اگر این شدت جریان قادر به ایجاد امواج تخلیهٔ متعاقب به مدت ۵ ثانیه بود، به عنوان شدت آستانه در نظر گرفته می‌شد. در غیر این صورت، به تدریج شدت جریان هر بار به اندازهٔ ۱۰ میکروآمپر افزایش داده می‌شد تا آستانهٔ تحریک مشخص گردد. آنگاه هر ۲۴ ساعت یک بار حیوانات با شدت آستانه تحریک می‌شدند تا کیندل شوند. بعد از این مرحله آزمایش‌های مربوط به تزریق دارو انجام می‌گرفت. شاخص‌هایی که پس از هر بار تحریک حیوان اندازه‌گیری می‌شدند، عبارتند از : مدت زمان تأخیری بین تحریک و شروع مرحلهٔ ۴ تشنج (Stage 4 Latency; S4L)، مدت زمان امواج تخلیهٔ متعاقب (Afterdischarge Duration; ADD)، مدت زمان مرحلهٔ ۵ تشنج (Stage 5 Duration; S5D) و مرحلهٔ حمله تشنجی (Seizure Stage; SS) مراحل حمله تشنجی در مدل کیندلینگ عبارتند از : مرحلهٔ

Archive of SID
www.SID.ir

۱، حرکات دهان و صورت؛ مرحلهٔ ۲، حرکات نوسانی سر؛ مرحلهٔ ۳، کلونوس یک اندام جلویی؛ مرحلهٔ ٤، ایستادن روی دو پای عقب همراه با کلونوس دو اندام جلویی و مرحلهٔ ٥، ایستادن روی دو پای عقب همراه با کلونوس دو اندام جلویی و از دست دادن تعادل [۲۸].

از کمیت‌های فوق ADD یک کمیت الکتروفیزیولوژیک است. کمیت‌های S4L، S5D و SS کمیت‌های رفتاری هستند که با مشاهدهٔ حیوان و ثبت زمان به وسیلهٔ زمان سنج اندازه‌گیری می‌شوند.

داروهای مورد استفاده : در این تحقیق از داروی N^6- سیکلوهگزیل آدنوزین (CHA، خریداری شده از شرکت Sigma)، با دوزهای (۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) به عنوان آگونیست اختصاصی گیرندهٔ آدنوزینی A_1 و از ۱، ۳- دی متیل -۸- سیکلوپنتیل گزانتین (CPT، خریداری شده از شرکت RBI)، با دوزهای (۰/۱ و ۱ میکرومولار) به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده آدنوزینی A_1 استفاده گردید.

گروه بندی حیوانات : در این تحقیق سه مرحله آزمایش به شرح زیر روی حیوانات انجام شد :

الف - آزمایش اول : در این آزمایش حیوانات به ٤ گروه تقسیم‌بندی شدند و به ترتیب دوزهای ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار، CHA به صورت دو طرفه به هیپوکمپ تزریق (۱ میکرولیتر در ۲ دقیقه) و در زمان‌های مختلف پس از تزریق (٥، ۱٥ و ٦۰ دقیقه) حیوانات تحریک و تمامی کمیت‌های تشنج اندازه‌گیری شدند. داده‌های حاصل با داده‌های به دست آمده از حیواناتی که به آنها فقط ACSF تزریق شده بود، مقایسه شدند.

ب - آزمایش دوم : در این آزمایش حیوانات به دو گروه تقسیم شده و دوزهای ۰/۱ و ۱ میکرومولار، CPT به صورت دو طرفه به هیپوکمپ تزریق (۱ میکرولیتر در ۲ دقیقه) و در زمان‌های ٥، ۱٥ و ٦۰ دقیقه پس از تزریق حیوانات تحریک و تمامی کمیت‌های تشنج اندازه‌گیری شدند. داده‌های حاصل با داده‌های به دست آمده از حیواناتی که به آنها فقط ACSF تزریق شده بود، مقایسه شدند.

ج - آزمایش سوم : در این آزمایش به گروه سوم از حیوانات، ٥ دقیقه بعد از تزریق CPT، داروی CHA تزریق گردید و حیوانات در زمان‌های ٥، ۱٥ و ٦۰ دقیقه بعد از تزریق CHA، تحریک و کمیت‌های تشنجی در آنها اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل از این آزمایش با داده‌های حاصل از حیواناتی که فقط CHA دریافت کرده بودند (گروه اول) مقایسه شدند.

تأیید بافت شناسی : تمامی حیوانات در پایان آزمایش‌ها کشته شده و مغز آنها در فرمالین قرار می‌گرفت. سپس جایگاه الکترود و کانول مشخص می‌گردید. فقط نتایج حیواناتی که محل کارگذاری الکترود و کانول آنها صحیح بوده، مورد استفاده قرار گرفت.

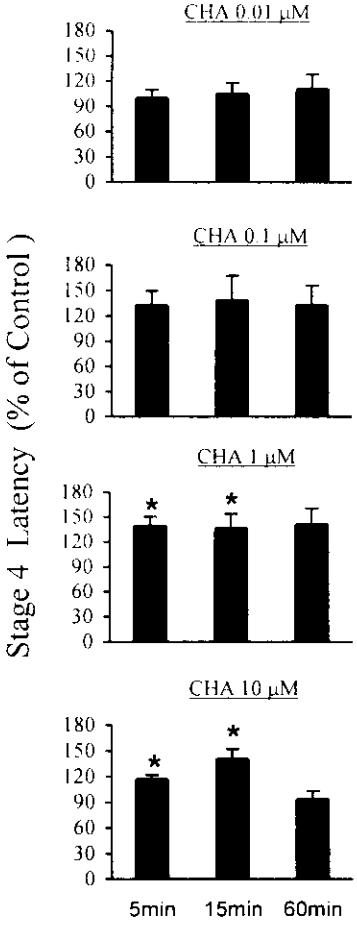
تجزیه و تحلیل آماری : در آزمایش‌های اول و دوم برای مقایسهٔ تأثیر دوزهای مختلف CHA و CPT، در زمان‌های مختلف پس از تحریک بر کمیت‌های تشنج، از آزمون ANOVA دو طرفه استفاده شد. در این آزمایش‌ها برای نمایش آسان‌تر نتایج، داده‌ها به صورت درصد کنترل نشان داده شدند و در این حالت در هر گروه برای نشان دادن وجود یا عدم وجود اختلاف بین هر یک از کمیت‌ها به گروه کنترل مربوطه، از آزمون Wilcoxon استفاده گردید. در آزمایش سوم برای مقایسهٔ کمیت‌های به دست آمده از گروهی که CHA دریافت کرده بودند، با گروهی که CHA به همراه CPT دریافت کرده بودند، از آزمون t غیر زوج‌ها استفاده شد.

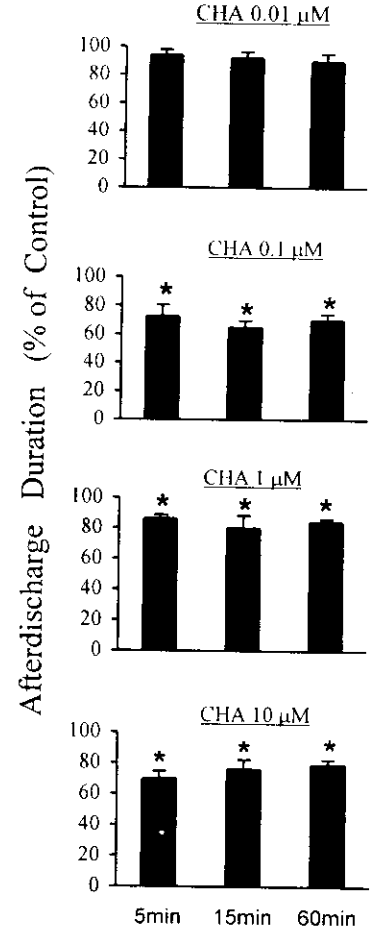
Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

نتایج حاصل از تزریق دو طرفهٔ CHA و یا CPT به هیپوکمپ : نتایج حاصله نشان داد که دوزهای مختلف CHA (۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) در زمان‌های مختلف پس از تزریق، (۵ ، ۱۵ و ۶۰) دقیقه تأثیری بر مرحلهٔ حمله (SS) نداشته است. در تمام دوزهای به کار رفته بجز دوز ۰/۰۱ میکرومولار، کاهش معنی‌داری در ADD، در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۶۰ دقیقه مشاهده شده است و آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که این اثر وابسته به دوز بوده [$F_{(۳،۶۰)}$=۰/۷، P<۰/۰۰۱] اما وابسته به زمان [$F_{(۳،۶۰)}$=۰/۷۹، P=۰/۴۵] و یا دوز × زمان





شکل ۱- اثر تزریق دو طرفه CHA (۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) به هیپوکمپ، بر ADD. حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± اشتباه معیار میانگین و بر حسب درصد کنترل نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در همهٔ گروه‌ها ۶ سر می‌باشد.

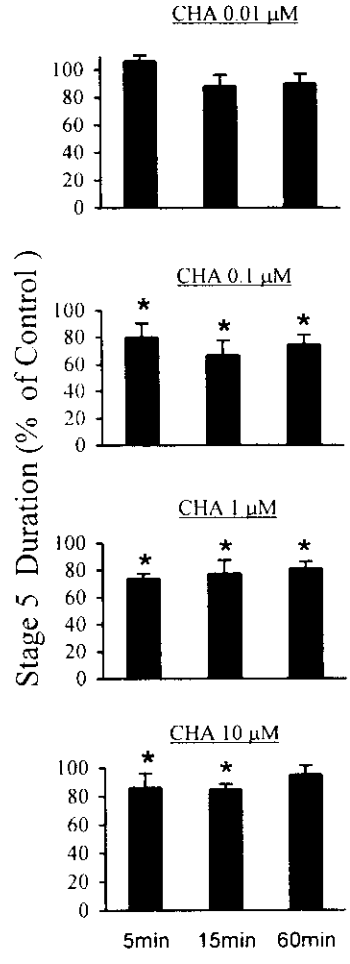
* نشان دهنده P<۰/۰۵ در مقایسه با کنترل مربوطه با استفاده از آزمون Wilcoxon می‌باشد.

شکل ۲- اثر تزریق دو طرفه CHA (۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) به هیپوکمپ، بر S4L، حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± اشتباه معیار میانگین و بر حسب درصد کنترل نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در همه گروه‌ها ۶ سر می‌باشد.

* نشان دهنده P<۰/۰۵ در مقایسه با کنترل مربوطه با استفاده از آزمون Wilcoxon می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

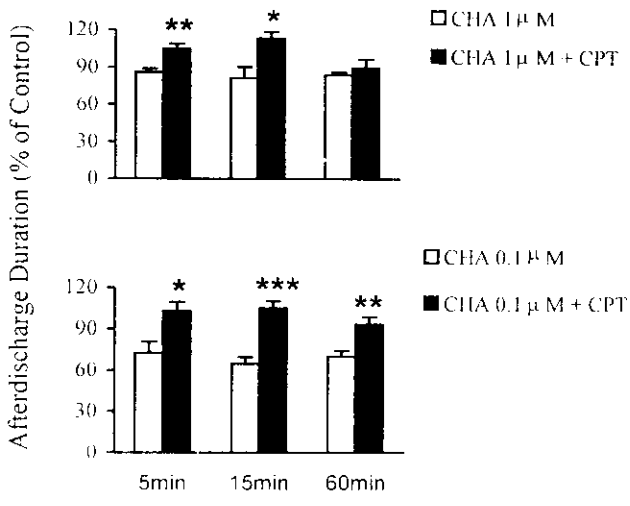


شکل ۳- اثر تزریق دو طرفه CHA (۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) به هیپوکمپ، بر حسب S5D. حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± اشتباه معیار میانگین و بر حسب درصد کنترل نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در همه گروه‌ها ۶ سر می‌باشد.

نشان دهنده $P<0/05$ در مقایسه با کنترل مربوطه با استفاده از آزمون Wilcoxon می‌باشد.

[$P=0/66$، $F(6,60)=0/67$] نمی‌باشد (شکل ۱).

کمیت S4L، با تزریق دوزهای ۱ و ۱۰ میکرومولار در زمان‌های ۵ و ۱۵ دقیقه بعد از تزریق به طور معنی‌داری افزایش یافت. بر اساس آزمون ANOVA دو طرفه این اثر فقط وابسته به دوز می‌باشد [$P=0/05$، $F(3,60)=3/11$] و به زمان [$P=0/76$، $F(3,60)=0/28$] یا دوز × زمان



شکل ٤- کاهش اثرات CHA بر مدت زمان تخلیهٔ متعاقب هیپوکمپ (ADD) با تزریق CPT با غلظت یک میکرومولار، ۵ دقیقه قبل از CHA با غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میکرومولار تزریق شد. حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± اشتباه معیار میانگین و بر حسب درصد کنترل نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در همه گروه‌ها ٦ سر می‌باشد.

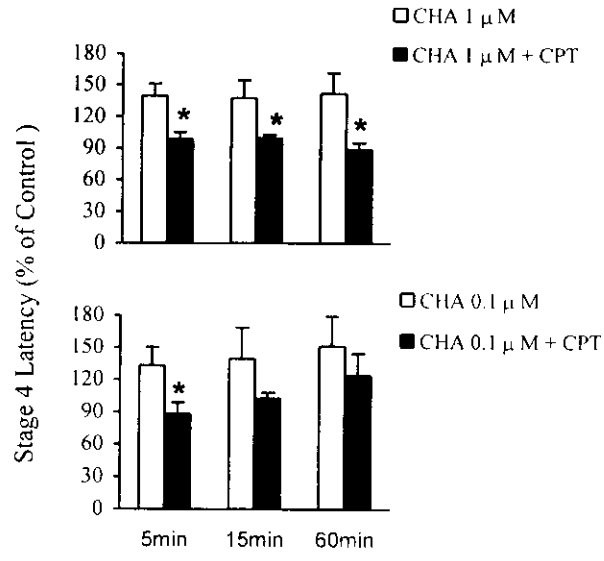
* نشان دهنده $P<0/05$ ** نشان دهنده $P<0/01$ و *** نشان دهنده $P<0/001$ در مقایسه با گروه CHA با استفاده از آزمون t غیر زوج‌ها می‌باشد.

[$P=0/66$، $F(3,60)=3/11$] و به زمان [$P=0/76$، $F(3,60)=0/28$] یا دوز × زمان [$P=0/66$، $F(6,60)=0/67$] وابسته نیست (شکل ۲).

کمیت S5D نیز با تزریق دوزهای ۱ و ۰/۱ میکرومولار، در همهٔ زمان‌ها و در دوز ۱۰ میکرومولار در زمان‌های ۵ و ۱۵ دقیقه کاهش معنی‌داری یافت. در رابطه با این کمیت اثر مشاهده شده وابسته به دوز بوده [$P=0/001$، $F(6,60)=18/35$] اما به زمان [$P=0/3$، $F(3,60)=3/45$] یا دوز × زمان [$P=0/15$، $F(6,60)=2/8$] وابسته نمی‌باشد (شکل ۳).

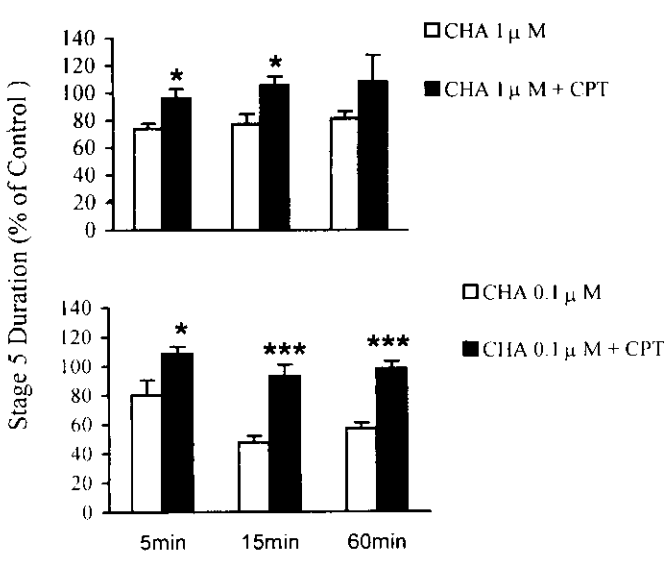
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵- افزایش اثرات CHA بر زمان تأخیری بین لحظه تحریک تا شروع مرحله ٤ حمله CPT. (S4L) با غلظت یک میکرومولار، ۵ دقیقه قبل از CHA با غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میکرومولار به هیپوکمپ تزریق شد. حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ٦۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± اشتباه معیار میانگین و بر حسب درصد کنترل نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در همه گروه‌ها ٦ سر می‌باشد.

* نشان دهنده P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه CHA با استفاده از آزمون t غیر زوج‌ها می‌باشد.



شکل ٦- کاهش اثرات CHA بر مدت زمان مرحله ۵ حمله CPT.(S5D) با غلظت یک میکرومولار، ۵ دقیقه قبل از CHA با غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میکرومولار تزریق شد. حیوانات در زمان‌های ۵، ۱۵ و ٦۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± اشتباه معیار میانگین و بر حسب درصد کنترل نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در همه گروه‌ها ٦ سر می‌باشد.

* نشان دهنده P<۰/۰۵، ** نشان دهنده P<۰/۰۱ و *** نشان دهنده P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه CHA با استفاده از آزمون t غیر زوج‌ها می‌باشد.

از طرفی آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که هیچ یک از دوزهای CPT تغییر معنی‌داری در کمیت‌های اندازه‌گیری شده ایجاد نکرد.

نتایج حاصل از CHA به همراه CPT: آزمون t غیرزوج‌ها نشان داد که در گروهی که CHA یک میکرومولار همراه با CPT یک میکرومولار دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروهی که به آنها CHA یک میکرومولار به تنهایی تزریق شده بود، اثرات ضدتشنجی CHA بسیار کاهش می‌یابد (شکل‌های ٦-٤).

همچنین مقایسهٔ فوق بین گروهی که CHA ۰/۱ میکرومولار همراه با CPT یک میکرومولار دریافت کرده با گروهی که CHA ۰/۱ میکرومولار به آنها تزریق شده بود، انجام شد و مشخص گردید که در این حالت نیز CPT جلوی اثرات کاهشی CHA بر کمیت‌های تشنج را می‌گیرد (شکل‌های ٦-٤).

www.SID.ir

بحث

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهند که تزریق دو طرفهٔ CHA به ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ پشتی بر حملات ناشی از کیندلینگ آمیگدال اثرات ضدتشنجی دارد.

مشاهدات نشان می‌دهند که کاربرد آدنوزین به صورت in vivo و in vitro در مغز اثرات ضد تشنجی دارد [۱۱] و آنالوگ‌های آن موجب مهار حملات تشنجی در مدل‌های مختلف ایجاد صرع از جمله کیندلینگ می‌گردد [۲۵، ۸، ۷]و همچنین ثابت شده است که اثرات ضد تشنجی آدنوزین از طریق گیرنده‌های آدنوزینی A_1 بروز می‌کنند [۱۶، ۴۵]. اگر چه در بسیاری از مطالعات انجام شده اثرات ضد تشنجی آگونیست‌های آدنوزین مشخص گردیده است ولی نقش نواحی مختلف مغزی در بروز این اثرات هنوز به درستی مشخص نیست. با تزریق آگونیست اختصاصی گیرندهٔ A_1 به نواحی مختلف مغز می‌توان به نقش هر یک از نواحی مغز در ایجاد اثرات ضد تشنجی پی برد. مطالعاتی که در گذشته انجام گرفته است، نشان می‌دهند که تزریق آدنوزین به آمیگدال [۲۵]، قشر پری‌رایناL [۲۰] و جسم سیاه [۱۵] اثرات ضد تشنجی به دنبال دارد.

هیپوکمپ نیز از جمله نواحی است که در کیندلینگ آمیگدال نقش اساسی دارد [۴۲، ۳۵، ۲۲] و به دنبال کیندلینگ آمیگدال تغییرات ساختمانی و بیوشیمیایی در هیپوکمپ مشاهده گردیده است [۳۴، ۳۱، ۲۱، ۱]. بسیاری از این تغییرات در نتیجهٔ افزایش تحریک‌پذیری نورون‌های هیپوکمپ به وجود می‌آیند. همچنین نشان داده شده است که تخریب دو طرفهٔ هیپوکمپ، موجب کاهش کیندلینگ آمیگدال می‌گردد [۴۳، ۳۲، ۵] و به دنبال کیندلینگ آمیگدال متابولیسم گلوکز در هیپوکمپ افزایش می‌یابد [۲۲، ۳۰]. علاوه بر این، گزارش شده است که تزریق هورمون آزاد کنندهٔ تیروتروپین به هیپوکمپ موجب بروز اثرات ضدتشنجی در کیندلینگ آمیگدال می‌گردد [۳۷]. نتایج به دست آمده از این تحقیق نیز مؤید ارتباط بین هیپوکمپ و آمیگدال است و نشان می‌دهند که تزریق دو طرفهٔ CHA به هیپوکمپ اثرات ضد تشنجی در کیندلینگ آمیگدال دارد. تراکم گیرنده‌های آدنوزینی A_1 در ناحیه CA1 هیپوکمپ بسیار زیاد است [۲] و کاربرد آگونیست‌های گیرندهٔ A_1 در ناحیه CA1 هیپوکمپ موجب مهار رهایش میانجی‌های نورونی تحریکی [۱۴، ۱۲، ۶، ۴] اسپایک‌های صرعی شکل [۳۰، ۳۳] و انتقال پیام عصبی از طریق سیناپس‌ها [۳۹] می‌گردد. به علاوه تزریق L-فنیل ایزوپروپیل آدنوزین، آگونیست اختصاصی گیرندهٔ A_1 در کیندلینگ هیپوکمپ اثرات مهاری دارد [۲۹]. بنابراین، می‌توان این احتمال را مطرح کرد که در این تحقیق، تزریق CHA به هیپوکمپ موجب مهار فعالیت نورون‌های این ناحیه گردیده است و اثرات ضد تشنجی CHA، ناشی از مهار فعالیت این نورون‌هاست. همچنین این موضوع می‌تواند مؤید این ایده باشد که ناحیهٔ CA1 هیپوکمپ در انتشار حملات ناشی از کیندلینگ آمیگدال نقش دارد [۳۲].

در این تحقیق تزریق CHA به هیپوکمپ به صورت وابسته به دوز موجب کاهش معنی‌داری در زمان پتانسیل متعاقب (ADD)، ثبت شده از آمیگدال گردید. بنابراین می‌توان این احتمال را مطرح کرد که مهار فعالیت نورون‌های هیپوکمپ به وسیلهٔ CHA موجب کاهش فعالیت نورون‌های آمیگدال شده است. کمیت (S4L) زمان لازم برای عمومی شدن تشنج است. بنابراین افزایش آن نشان می‌دهد که هیپوکمپ احتمالا در گسترش یافتن امواج صرعی از آمیگدال به سایر نواحی مغز و یا تقویت آنها نقش دارد. کاهش مدت زمان مرحلهٔ ۵ حمله (S5D) نیز دلیلی بر اثرات ضد تشنجی CHA است.

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

همچنین بروز اثرات ضد تشنجی به فاصلهٔ ۵ دقیقه بعد از تزریق نشان می‌دهد که این اثر به علت گسترش دارو به نواحی دیگر مغزی نبوده است. زیرا در مدت زمان ۵ دقیقه دارو فرصت انتشار به سایر نواحی مغزی را نداشته است. به علاوه، اثرات ضد تشنجی دارو تا ۶۰ دقیقه پس از تزریق نیز مشاهده می‌شود که این امر نشان دهندهٔ حذف آهستهٔ آن از مغز است.

اگر چه تحقیقات زیادی نشان دهندهٔ نقش هیپوکمپ در کیندلینگ آمیگدال می‌باشد، بعضی شواهد نشان دهندهٔ عدم نقش هیپوکمپ در کیندلینگ آمیگدال است. به عنوان مثال گزارش شده است که تخریب بخش پشتی هیپوکمپ در کیندلینگ آمیگدال نقش ندارد [۲۷]. همچنین تزریق اسیدهای آمینه تحریکی به هیپوکمپ نتایج متناقضی بر کیندلینگ آمیگدال داشته است. به عنوان مثال گزارش شده است که تزریق کاینیک اسید به هیپوکمپ موجب تسهیل کیندلینگ آمیگدال می‌گردد [۱۳]. از طرف دیگر نشان داده شده است که تزریق کوینولینیک اسید به هیپوکمپ موجب مهار کامل کیندلینگ آمیگدال می‌گردد [۲۴]. همچنین مطالعات قبلی ما نیز نشان دادند که تزریق ۲- کلروآدنوزین به ناحیه CA1 هیپوکمپ باعث بروز اثرات ضد تشنجی در کیندلینگ آمیگدال نمی‌شود [۲۶]. هر چند این موضوع با تحقیق حاضر مغایرت دارد اما بین این تحقیقات چند تفاوت اصلی وجود دارد که عبارتند از :

الف ـ در این تحقیق از آگونیست کاملا اختصاصی گیرندهٔ آدنوزینی A_1 استفاده شد. در حالی که در تحقیق قبلی از ۲- کلروآدنوزین که آگونیست غیر اختصاصی است، استفاده گردید.

ب ـ در این تحقیق CHA به صورت دو طرفه تزریق گردید. در صورتی که ۲- کلروآدنوزین به صورت یک طرفه تزریق شده بود.

ج ـ در این تحقیق آستانهٔ تحریک حیوانات قبل از تزریق دارو اندازه‌گیری شد و حیوانات با همان آستانه تحریک شدند اما در تحقیق قبلی حیوانات با شدت تحریک بالاتر از آستانه تحریک می‌شدند. بنابراین با توجه به اینکه آمیگدال و هیپوکمپ به عنوان مهم‌ترین نواحی مغز می‌باشند که در شروع فعالیت تشنجی نقش دارند [۳۸]. برای مشخص شدن نقش دقیق هیپوکمپ در کیندلینگ آمیگدال به تحقیقات گسترده‌تری نیاز می‌باشد. با این وجود، بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق و اکثر تحقیقات گذشته می‌توان این احتمال را مطرح کرد که هیپوکمپ یکی از نواحی مهم لوب گیجگاهی است که در گسترش تشنج‌های ناشی از کیندلینگ آمیگدال نقش تسهیلی ایفا می‌کند.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفت. لذا بدین وسیله از مدیریت محترم و تمامی همکاران آن گروه به ویژه آقای صفرعلی غفاری تشکر و قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

[1] Akiyama, K., Ono, M., Kohira, I., Diagen, A., Ishihara, T. et al, Long-lasting increase in protein kinase C activity in hippocampus of amygdala kindled rats, ***Brain Res.,*** 679 (1995) 212-220.

[2] Chen, Y., Graham, D.I., Stone, T.W., Release of endogenous adenosine and its metabolites by the action of NMDA receptors in the rat hippocampus in vivo, ***Br. J. Pharmacol,*** 106 (1992) 632-638.

[3] Collins, R.C. Tearse, R.E., Lothman, E.W., Functional anatomy of the limbic seizures, focal discharge from medial entorhinal cortex in rat, ***Brain Res.,*** 180 (1983) 25-40.

[4] Corradetti, R., Conte, G.L., Moroni, F., Passiani, M.B., Pepeu, G., Adenosine decreases aspartate and glutamate release from rat hippocampal slices, ***Eur. J. Pharmacol,*** 104 (1984) 19-26.

[5] Dasheiff, R.M., McNamara, J.O., Intradentate colchcine retards the development of amygdala kindling, ***Ann. Neural.,*** 11 (1982) 347-352.

[6] Deckert, J., jorjensen, M.B., Evidence for pre and post synaptic localization of adenosine A_1 receptor in the CA1 region of rat hippocampus: a quantitative outoradiographic study, ***Brain Res.,*** 449 (1998) 161-164.

[7] Dragunow, M., Purinergic mechanisms in epilepsy, ***Prog. Neurobiol,*** 31 (1988) 85-108.

[8] Dragunow, M., Adenosine: the brain's natural anticonvulsant, ***Trends Pharmacol. Sci.,*** 7 (1986) 128-130.

[9] Dragunow, M., Goddard, G.V., Adenosine modulation of amygdala kindling, ***Exp. Neurol.,*** 84 (1984) 654-665.

[10] Dragunow, M., Goddard, G.V., Laverty, R., Is adenosine an endogenos anticonvulsant? ***Epilepsia,*** 26 (1985) 480-487.

[11] Dunwiddie, T.V., Adenosine and suppression of seizures, In: Delgado-Escureta A.V., Wilson, w.A., Olsen, R.W., Porter, R.J. (eds). ***Jasper's basic mechanisms of the epilepsies,*** third edition: Advances in neurology, 79, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (1999) 1001-1010.

[12] Dunwiddie, T.V., Endogenously released adenosine regulated excitability in the in vitro hippocampus, ***Epilepsia,*** 21 (1980) 541-548.

[13] Feldblum, S., Ackermann, R.F., Increased susceptibility to hippocampal and amygdala kindling following intrahippocampal kainic acid, ***Exp. Neurol.,*** 97 (1987) 255-269.

[14] Grover, L.M., Chen, Y., The modulation of excitatory synaptic transmisson by adenosine in area CA1 of the rat hippocampus is temperature dependent, ***Neurosci. Lett.,*** 263 (1999) 77-80.

[15] Herberg, L.J., Rose, I.C., Mintz, M., Effect of an adenosine A_1 agonist injected into substantia nigra on kindling of epileptic seizures and convulsion duration, ***Pharmacol. Biochem.,*** 44 (1993) 113-117.

[16] Janusz, C.A., Berman, R.F., The A_2 selective adenosine analog CGS21680 depresses locomotor activity but dose not block amygdala kindled seizures in rats, ***Neurosci. Lett,*** 14 (1992) 247-250.

[17] Krettec, J.E., Price, J.L., Projections from the anygdala to the perirhinal and entorhinal cortices and subiculum, ***Brain Res.,*** 71 (1974) 150-154.

[18] Mello, L. E., Tan, A.M., Finch, D.M., Convergence of projections from the rat hippocampal formation, medial geniculate and basal forebrain onto single amygdaloid neurons: an in vivo extra and intracellular electrophysiological study, ***Brain Res.,*** 587 (1992) 24-40.

[19] Mirnajafi-Zadeh, J., Fathollahi, Y., Pourgholami, M.H.,Interaperitoneal and intraamygdala N^6-cyclohexyladenosine suppresses hippocampal kindled seizures in rats, ***Brain Res.,*** 858 (2000) 48-54.

[20] Mirnajafi-Zadeh, J., Pourgholami, M.H., Palizvan, M.R., Rostampour, M., Fallahi, M., Anticonvulsant action of 2-chloroadenosine

www.SID.ir

Archive of SID

injected focally into the perirhinal cortex in amygdalaoid kindled rats, ***Epilepsy Res.,*** 37 (1999) 37-43.

[21] Morimoto, K., Sato, K., Kashihara, K., Hayabara, T., Increased level of mRNA for β but not α-subunit of calmodulin kinase II following kindled seizures, ***Brain Res. Bulletin,*** 43 (1997) 375-380.

[22] Namba, H., Iwasa, H., Kubota, M., Hagihara, Y., Yamaura, A., Changes in hippocampal glucose utilization subsequent to amygdaloid-kindled generalized seizures, ***Epilepsia,*** 32 (1991) 27-32.

[23] Paxinos, G., Watson, C., ***The rat brain in stereotaxic coordinates,*** Academic Press, New York, (1986).

[24] Ping, H.X., Lio, G.Q., Xie, L., Wu, H.Q., Effect of intrahippocampal quinolinic acid infusion on the amygdala kindling in rat, ***Chung Kuo Yao Li Heseuh Pao,*** 12 (1991) 304-307.

[25] Pourgholami, M.H., Mirnajafi-Zadeh, J., Behzadi. J., Effect of intrapritoneal and intrahippocampal (CA1) 2-chloroadenosine in amygdaloid kindled rats, ***Brain Res.,*** 751 (1997) 259-264.

[26] Pourgholami, M.H., Rostampour, M., Mirnajafi-Zadeh, J., Palizvan, M.R., Intra-amygdala infusion of 2-chloroadenosine suppresses amygdala-kindled seizures, ***Brain Res.,*** 775 (1997) 37-42.

[27] Racine, R.J., Paxinos, G., Mosher, J.M., Kairiss, E.W., The effect of various knife-cuts on septal and amygdala kindling in the rat, ***Brain Res.,*** 454 (1988) 264-274.

[28] Racine, R.J., Modulation of seizure activity by electrical stimulation 2. Motor seizure, ***Electroencephalogr, Clin, Neurophysiol,*** 32 (1972) 281-294.

[29] Rosen, L.B., Berman, R.F., Differential effects of adenosine analogs on amygdala, hippocampus and caudate nucleus kindled siezures, ***Epilepsia,*** 28 (1987) 658-666.

[30] Sagratella, S., Frank, C., Benedetti, L., Scotti De Corolis, A., Modulatory action of purinergic drugs on high potassium induced epileptiform bursting in rat hippocampal slices, ***Pharmacol. Res. Com.,*** 19 (1987) 819-826.

[31] Sato, K., Kashihara, K., Mormoto, K., Hayabara, T., Regional increase in brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor mRNAs during amygdala kindling but not in acidic and basic fibroblast growth factor mRNAs. ***Epilepsia,*** 37 (1996) 6-14.

[32] Tanaka, T., Kondom, S., Hori, T., Tanaka, S., Yokichi, Y., Various hippocampal lesions induced by multi-fractional ibotenic acid injection and amygdala kindling in rats, ***Brain Res.,*** 559 (1991) 154-158.

[33] Thompson, S.M., Hass, H.L., Gahvailer, B.H., Comparision of the action of adenosine at pre and post synaptic receptors in the rat hippocampus in vitro, ***J. Physiol Lond,*** 451 (1992) 347-363.

[34] Ueda, Y., Nariko, T., Simultaneous monitoring of the seizure related changes in extracellular glutamate and aminobutiric acid concentration in bilateral hippocampus following development of amygdaloid kindling, ***Epilepsy Res.,*** 20 (1995) 213-219.

[35] Ueda, Y., Tsuru, N., Bilateral seizure related changes of extracellular glutamate concentration in hippocampus during development of amygdaloid kindling, ***Epilepsy Res.,*** 18 (1994) 85-88.

[36] Uno, M., Ozawa, N., Augmentation of synaptic responses in the dentate gyrus by daily electriacal stimulation of the amygdala in cats, ***Brain Res.,*** 8 (1986) 451-453.

[37] Van, R-Q., Nogurea, E.C., Weiss, S.R.B., Anticonvulsant effects of intra-hippocampal injection of TRH in amygdala kindled rats, ***Neuroreport,*** 9 (1998) 677-682.

[38] Weiser, H.G., Epilepsy surgery, ***Bailliere's Clinical Neurology,*** 5 (1996) 849-875.

[39] Wu, L.G., Saggau, P., IAdenosine inhibits evoked synaptic transmission primarily by reducing pre synaptic calcium influx in area CA1 of the hippocampus, ***Neuron,*** 12 (1994) 1139-1148.

[40] Wyss, J.M., Swanson, L.W., Cowan, W.M., A study of subcortical afferent to the hippocampal formation in the rat, ***Neuroscience,*** 4 (1979) 463-474.

www.SID.ir

Archive of SID

[41] Xiao, M.Y., Karpefos, M., Gustafssom, B., Wigstrom, H., On the linkage between AMPA and NMDA receptor-mediated EPSPs in homosynaptic long term depression in the hippocampal CA1 region of young rats, ***J. Neurosci,*** 15 (1995) 4496-4506.

[42] Yamada, N., Bilkey, D.K., Kindling induced persistent alteration in the membrane and synaptic properties of CA1 pyramidal neurons, ***Brain Res.,*** 561 (1991) 324-331.

[43] Yoshida, H., Influences of bilateral hippocampal lesion upon kindled amygdaloid convulsive seizures in rats, ***Physiol Behav,*** 32 (1984) 123-126.

[44] Yoon, K.W., Rothman, S.M., Adenosine inhibits excitatory but not inhibitory synaptic transmission in the hippocampus, ***J. Neurosci,*** 11 (1991) 1375-1380.

[45] Young, D., Dragunow, M., Status epilepticus may be caused by loss of adenosine anticonvulsant mechanism, ***Neurosci.,*** 58 (1994) 245-261.

www.SID.ir