Archive of SID

فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۱۰، شماره ۱، بهار ۱۳۸۵

فورسکولین تحریک‌پذیری ناشی از پاراکسان را در نورون‌های حلزون کاهش می‌دهد

جعفر وطن‌پرست[۲،۱]، مهیار جان احمدی[۱*]، حوری سپهری[۲]، علی حائری روحانی[۲] و علیرضا عسگری[۳]
۱- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی ۲- دانشگاه تهران، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی
۳- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، مرکز تحقیقات آسیبهای شیمیایی

دریافت: بهمن ۱۳۸۴ بازبینی: اسفند ۱۳۸۴ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۵

چکیده

مقدمه: ترکیبات سمی ارگانوفسفره (OP) جهت کنترل آفات بویژه حشرات تولید و مصرف می‌شوند که آلودگی‌های محیطی و مسمومیت افراد را نیز به دنبال دارند. اگرچه آنزیم استیل‌کولین استراز (AChE) مهمترین ناحیه اثر این ترکیبات است بااینحال شواهد روز افزونی حاکی از تاثیر آنها بر روندهای مختلف سلولی است. در این تحقیق اثرات غلظت‌های پایین پاراکسان (Paraoxon) و برهمکنش آن با فورسکولین (forskolin)، یک فعال‌کننده پروتیین‌کیناز A (PKA)، بر روی ویژگیهای کمی اسپایک‌های کلسیمی و فرکانس آنها در نورون‌های حلزون مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها: با استفاده از تکنیک Current clamp نورون‌های گانگلیون تحت‌مری در رینگری فاقد سدیم و حاوی مهارکننده‌های کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ (4-AP و TEA) مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: پاراکسان (۰/۶-۰/۳ μM) مدت اسپایک‌های کلسیمی را کاهش داد. این اثر با کاهش مدت AHP متعاقب اسپایک‌های واحد همراه بود که افزایش فرکانس اسپایک‌ها را به دنبال داشت. بنظر می‌رسد کاهش ورود کلسیم در طی اسپایک‌های کلسیمی، که با فعال کردن کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم تعیین کننده مدت AHP است، افزایش فعالیت نورون‌ها در حضور پاراکسان را باعث می‌شود. فورسکولین (۲۵ μM) بدون تغییر معنی‌دار در مدت اسپایک‌ها، مدت AHP را کاهش و فرکانس آنها را افزایش داد. در حضور فورسکولین، پاراکسان مدت اسپایک‌های کلسیمی و AHP متعاقب را کاهش و فرکانس اسپایک‌ها را افزایش داد ولی این اثرات بویژه بر مدت اسپایک‌ها کمتر از اثرات پاراکسان در غیاب فورسکولین بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌کند اگرچه فورسکولین، همانند پاراکسان، مدت AHP را کاهش داده و فرکانس را افزایش می‌دهد ولی مکانیسم(های) متفاوتی از اثر پاراکسان بکار می‌گیرد که تا حدودی با اثرات پاراکسان بر ویژگیهای اسپایک‌های کلسیمی و فرکانس آنها مقابله می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پاراکسان، فورسکولین، اسپایک کلسیمی، فعالیت نورونی، حلزون.

مقدمه

استفاده گسترده از ترکیبات ارگانوفسفره بعنوان حشره‌کش در کشاورزی، دامپروری وحتی مصارف خانگی، مجاورت ومسمومیت با آنها را بویژه در مناطق روستائی شایع ساخته است. پاراکسان، متابولیت فعال ارگانوفسفره پاراتیون (Parathion)، بعنوان رایج‌ترین حشره کش از این گروه از مهمترین عوامل مسمومیتهای کشنده بشمار می آید[۱۹ و۳۰]. برای سالیان متمادی عوارض ناشی از مسمومیت با ترکیبات ارگانوفسفره به تاثیر اولیه آنها در مهار AChE نسبت داده می شد. این مکانیسم بسیاری از عوارض حاد محیطی (مانند فلج عضلات ارادی بویژه دیافراگم) فعالیت شدید سیستم اتونوم (انقباض برونشها، ترشح غدد و مجاری مختلف ، اختلالات قلبی و عروقی) و نیز برخی اثرات مرکزی (مانند عدم هوشیاری، صرع، و قطع مرکزی تنفس) را تا حد زیادی توجیه می کند [۲۲ و۳۱] . بااینحال مهار AChE توجیه کننده تمام اختلالات نورولوژیک ناشی از مجاورت با ارگانوفسفره‌ها نمی باشد. ناکارائی تیمارهای رایج در حذف کامل اثرات حاد ترکیبات ارگانوفسفره موید وجود مکانیسم‌های دیگر برای عملکرد آنها در سیستم عصبی است.

شواهدی وجود دارد که برخی ارگانوفسفره‌ها حتی در غلظتهای بسیار پائین با اهداف مولکولی واقع در CNS برهم‌کنش دارند. کمپلکس گیرنده- کانال استیل کولین، برخی از کانال‌های یونی و نیز مسیرهای

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
mjanahmadi@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

انتقال سیگنال داخل سلولی از جمله جایگاه‌های دیگر اثر ارگانوفسفره‌ها شناخته شده اند[۳۴،۲۵،۱۴،۱۱]. بعضی ارگانوفسفره‌ها از جمله پاراتیون و پاراکسان بطور مستقیم با گیرنده‌های نیکوتینی و موسکارینی متصل می‌شوند[۱۴،۲۸،۲]. آبشارهای انتقال سیگنال داخل سلولی نقشی محوری در کنترل کوتاه مدت و دراز مدت فعالیت نورونی ایفاء می‌کنند. این کنترل عموما از طریق فسفریلاسیون ودفسفریلاسیون پروتین‌های غشاء (منجمله کانال‌های یونی) و با واسطه پروتئین کینازها و فسفاتازها انجام می‌شود[۲۶،۱۶]. گیرنده‌های متابوتروپیک، از جمله گیرنده‌های موسکارینی، ارتباط شناخته شده‌ای با مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی دارند[۱۸،۱۷]. از مهمترین نواحی اثر مسیرهای سیگنالینگ القاء شده توسط تحریک این گیرنده‌ها، کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ می باشند[۱۰،۷]. فسفریلاسیون وبویژه فسفریلاسیون وابسته به آدنیلات سیکلاز حلقوی (cAMP) نقش اساسی را در تنظیم جریان رو بداخل کلسیمی از نوع فعال شونده در ولتاژهای بالا ($HVA\text{-}I_{Ca}$) بازی می کند بطوریکه بخش عمده مثالهای شناخته شده از افزایش جریان کلسیمی القاء شده در سلول‌های تحریک پذیر بوسیله نوروترنسمیترها و پیامبرهای ثانویه با دخالت فسفریلاسیون کانال‌های کلسیمی بوسیله PKA انجام می شود[۱۳،۱]. توان تغییر عملکرد گیرنده‌ها و دیگر اهداف مولکولی نورون ها می تواند مسئول بخشی از اثرات نوروتوکسیک ارگانوفسفره ها باشد. با توجه به تاثیر ترکیبات ارگانوفسفره مختلف بر گیرنده‌های فعال کننده مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی و نیز نقش گسترده این مسیرها در کنترل عملکرد کانال‌های غشایی، در این تحقیق برهم‌کنش فورسکولین با دوزهای پائین پاراکسان در تعدیل عملکرد کانال های کلسیمی غشاء نورون‌های حلزون مورد بررسی قرار می گیرد.

مواد و روشها

آماده‌سازی گانگلیون

آزمایشها بر روی نورون‌های مجموعه عقده ای تحت مری (Subesophageal) حلزون خاکزی (*Caucasotachea atrolabiata*) انجام گرفت. با ایجاد شکافی طولی در ناحیه گردن جانور حلقه عقده‌ای دور مری به‌همراه عروق و اعصاب محیطی از بدن خارج شده و به کمک اعصاب عمده وآئورت بطور کشیده در محفظه ثبت با بستر سیلگارد و حاوی رینگر نرمال حلزون تثبیت گردید. لایه های بافت پیوندی احاطه کننده گانگلیون‌های تحت مری در بخش پشتی آن که دارای اعصاب کمتری است بطور مکانیکی و بوسیله انبرک‌های بسیار ظریف برداشته شدند. در هر آماده‌سازی جداشده از حلزون تنها یک نورون مورد مطالعه قرار می‌گرفت.

محلولها و داروها

محلول رینگر نرمال حلزون (به میلی مولار) شامل: Glucose , $MgSO_4$(5) , KCl (4) ,$CaCl_2$ (10) ,NaCl (80) HEPES (10) و pH آن در حد ۷/۶-۷/۴ تنظیم شد. قبل از شروع ثبت، رینگر نرمال با رینگر کلسیمی تعویض گردید که در آن NaCl با TEA (80mM) جایگزین شده و بعلاوه حاوی 4AP (5mM) بود. جایگزینی NaCl جریان سدیمی رو به داخل را حذف می کند و حضور TEA و 4AP در محیط خارج سلولی باعث مهار جریانات پتاسیمی رو به خارج وابسته به ولتاژ می‌گردد.

فورسکولین در حلال آلیِ DMSO تهیه شده و در زمان آزمایش تا حد مورد نظر در رینگر کلسیمی رقیق گردید. محلول یک مولار پاراکسان در الکل مطلق تهیه شده و غلظتهای ۳/ ۰، بعنوان کمینه غلظت موثر و ۰/۶ میکرو مولار در رینگر کلسیمی بر گانگلیون‌های مورد آزمایش اعمال گردید. پاراکسان، فورسکولین، TEA، 4AP، ، از سیگما (آمریکا) و سایر مواد شیمیائی از شرکت مرک (آلمان) خریداری شدند

ثبت الکتروفیزیولوژی

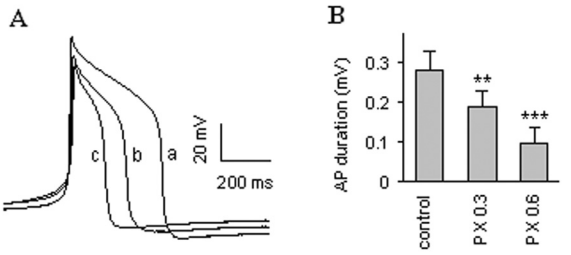
جهت ثبت از الکترودهای بروسیلیکات که با محلول KCl ۳ مولار پر شده و مقاومت MΩ ۵-۲ داشتند استفاده می شد. با استفاده از یک آمپلی فایر Axoclamp 2B (آمریکا، Axon Instruments) پتانسیل عمل‌های خودبخودی و برانگیخته، پس از ۵ دقیقه ثبت پایه، در شرایط کنترل و متعاقب تیمارهای مختلف با روش current clamp ثبت گردید. داده‌های ثبت شده، توسط مبدل آنالوگ-دیجیتال رقمی شده و جهت آنالیز ذخیره گردید. پارامترهای کمی پتاسیل عمل‌های ثبت شده شامل فرکانس، مدت اسپایک و مدت AHP با کمک نرم افزار chart اندازه گیری شد. دامنه پتانسیل عمل کلسیمی از پتانسیل استراحت تا قله اسپایک و مدت آن در میانه دامنه، بین بخشهای بالا رو و پائین رو اسپایک محاسبه گردید. مقادیر کمی بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و آزمون مقایسه میانگین ها با روش ANOVA یک‌طرفه انجام گردید. اختلاف‌های با $P<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شدند.

نتایج

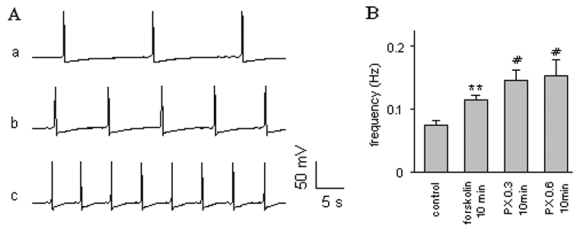
در رینگر کلسیمی حاوی مهار کننده‌های کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ (4-AP و TEA به ترتیب با غلظت‌های ۵ و ۸۰ میلی مولار) نورون‌ها دارای پتانسیل استراحت ۰/۹۵ ± ۴۱/۱۸- mV بوده و فعالیت خودبخودی نشان دادند. پتانسیل عمل‌های ثبت شده دارای میانگین مدتی برابر ۰/۰۸ ± ۰/۲۸ s، مدت AHP برابر ۰/۱۹ ± ۵/۶۸ s و فرکانس ۰/۰۱۵ ± ۰/۰۳۷ Hz بودند (n= ۲۴). پاراکسان مدت پتانسل عمل‌های کلسیمی را کاهش داد بطوریکه ۱۰ دقیقه پس از پرفیوژن نورون‌ها با محلول کلسیمی حاوی پاراکسان ۰/۳ و ۰/۶ میکرومولاراین مدت به ترتیب ٪ ۷/۲ ± ۳۴/۷ و ٪ ۶/۷۱ ± ۶۵/۷۲ از شرایط کنترل کمتر بود (شکل ۱). کاهش در مدت پتانسیل عمل با کاهش مدت AHP وافزایش فرکانس پتانسیل عمل‌ها همراه بود. پاراکسان ۰/۳ و ۰/۶ میکرومولار در مدت ۱۰ دقیقه به ترتیب زمان AHP را ٪ ۶/۱ ± ۲۸/۰۵

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱– تاثیر پاراکسان بر مدت اسپایک‌های کلسیمی. A: اسپایک‌های کلسیمی ثبت شده از یک نورون در شرایط کنترل (a)، ۱۰ د قیقه پس از مجاورت با پاراکسان ۰/۳ میکرومولار (b) و ۰/۶ میکرومولار (c). B: نمودار تاثیر پاراکسان بر میانگین دوره اسپایک‌های کلسیمی (n=۱۳). ۰/۰۱ >P ** و ۰/۰۰۱ >P *** در مقایسه با کنترل.



شکل ۳– فورسکولین و پاراکسان بطور افزایشی فرکانس اسپایک‌های کلسیمی را افزایش می دهند. A: اسپایک‌های کلسیمی خودبخودی ثبت شده از یک نورون در شرایط کنترل (a)، ۱۵ دقیقه پس از مجاورت با فورسکولین (۵۲ میکرو مولار) و ۱۰ دقیقه پس از افزودن پاراکسان (۰/۳ میکرومولار) به محفظه ثبت. B: نمایش تاثیر فورسکولین و پاراکسان در غلظت های ۰/۳ و ۰/۶ میکرو مولار بر میانگین فرکانس اسپایک‌های کلسیمی (n=۱۰). ۰/۰۱ >P ** در مقایسه با کنترل و ۰/۰۵ >P # در مقایسه با شرایط مجاورت با فورسکولین

بحث

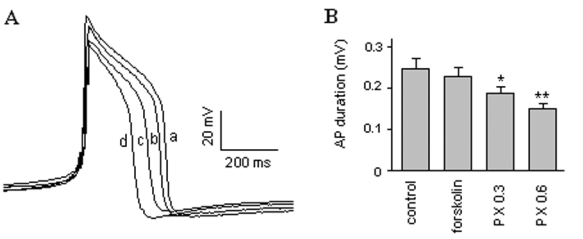
نتایج این تحقیق نشان داد پاراکسان مدت اسپایک‌های کلسیمی را در نورون‌های حلزون کاهش داده و فرکانس آنها را افزایش می‌دهد. همچنین فورسکولین که پروتئین کیناز نوع A را فعال می‌کند، بدون تغییر قابل توجه در مدت اسپایک‌های کلسیمی، فرکانس اسپایک‌های کلسیمی را افزایش داده و اثر متعاقب پاراکسان بر اسپایک‌های کلسیمی را تعدیل می‌کند. مدت اسپایک کلسیمی نه تنها بوسیله جریان کلسیمی رو به داخل بلکه بوسیله جریانات پتاسیمی رو به خارج تعیین می شود. علاوه بر جریانات پتاسیمی وابسته به ولتاژ ، جریانات پتاسیمی وابسته به کلسیم نیز در تعیین مدت اسپایک کلسیمی وAHP نقش دارند. این جریانات برای نخستین بار در نورون‌های حلزون شناسایی شده [۲۱] و بوسیله دو گروه کانال‌های پتاسیمی فعال شونده با کلسیم با کنداکتانس بالا (BK channels) و با کنداکتانس پائین (SK channels) هدایت می شوند[۱۲،۹،۶]. جریانات پتاسیمی وابسته به ولتاژ در نورون‌های حلزونی دو گروه سریع و جبران کننده تاخیری را شامل می‌شوند که به ترتیب بوسیله 4AP و TEA مهار می‌شوند[۳۳،۳،۲۷]. TEA

و ٪۸/۷۱ ± ۴۹/۶۷ نسبت به شرایط کنترل کاهش دادند که با افزایشی به میزان ٪۶/۲ ± ۲۳/۴۵ و ٪۵/۸ ± ۵۶/۹ در فرکانس اسپایک‌ها همراه بود.

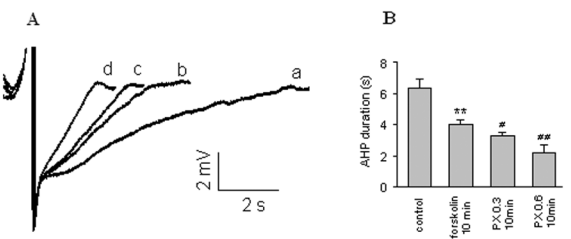
فورسکولین در غلظت ۲۵ میکرومولار در مدت ۱۵ دقیقه باعث کاهش جزئی در دوره اسپایک‌های کلسیمی گردید. پاراکسان با غلظت های ۰/۳ و ۰/۶ متعاقب تیمار فورسکولین به ترتیب ٪۶/۳ ± ۲۱/۴۸ و ٪۵/۸ ± ۳۸/۸۹ مدت اسپایک‌های کلسیمی را کاهش داد (شکل ۲).

فرکانس اسپایک‌ها در حضور فورسکولین بطور معنی دار و به میزان ٪۹/۳± ۴۸/۷۵ افزایش یافت. پاراکسان ۰/۳ میکرو مولار متعاقب فورسکولین فرکانس اسپایک‌ها را به میزان ٪۷/۴ ± ۲۵/۷ نسبت به شرایط تیمار با فورسکولین افزایش داد. غلظت بالاتر پاراکسان (۰/۶ میکرو مولار) افزایش فرکانس را به ٪۸/۱ ± ۳۳/۸ رساند. (شکل ۳).

تغییر در فرکانس اسپایک‌ها با تغییر در ویژگیهای پتانسیل هیپرپلاریزان متعاقب (AHP) بویژه طول مدت آن همراه بود. فورسکولین و پاراکسان هردو دوره AHP را بطور معنی داری کاهش دادند (شکل۴). فورسکولین مدت AHP را ٪۳۲/۸ کاهش داد ومجاورت با پاراکسان در حضور فورسکولین ۰/۳ و ۰/۶ میکرو مولار به ترتیب این زمان را به میزان ٪ ۵/۴ ± ۱۹/۵ و ٪ ۱۴/۷ ± ۴۱/۹ کاهش داد.



شکل ۲– تاثیر فورسکولین و پاراکسان (PX) بر دوره اسپایک‌های کلسیمی خودبخودی. A: اسپایک‌های کلسیمی ثبت شده از یک نورون در شرایط کنترل ۱۵(a) دقیقه پس از تیمار فورسکولین (b)، ۱۰ دقیقه پس از مجاورت با پاراکسان ۰/۳ میکرومولار (c) و ۰/۶ میکرومولار (d). B: مقایسه کمی تاثیر فورسکولین و پاراکسان بر میانگین دوره اسپایک‌های کلسیمی (n=۱۴). ۰/۰۱ >P ** و ۰/۰۰۱ >P *** در مقایسه با شرایط تیمار با فورسکولین.



شکل ۴– مقایسه دوره AHP پتانسیل عمل‌های ثبت شده در رینگر کلسیمی و در شرایط حضور فورسکولین و پاراکسان در محیط خارج سلولی نورون‌های حلزون. A : پتانسیل های متعاقب ثبت شده در شرایط کنترل (a)، در حضور فورسکولین (b) ودر حضور غلظتهای ۰/۳ میکرومولار (c) و ۰/۶ میکرومولار پاراکسان (d). B : تاثیر فعال کننده PKA و تاثیر متعاقب پاراکسان بر میانگین دوره AHP اسپایک‌های کلسیمی (n=۸). ۰/۰۱** >P در مقایسه با کنترل و ۰/۰۵ >P# و ۰/۰۱ >P## در مقایسه با شرایط مجاورت با

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین کانال های پتاسیمی فعال شونده با کلسیم نوع BK را نیز مهار می کند[۳۲]. بنابراین در رینگر کلسیمی حاوی 4AP و TEA رپولاریزاسیون اسپایک و AHP آهسته متعاقب آن عمدتا بوسیله کانال های پتاسیمی وابسته به کلسیم نوع SK وساطت می‌شوند.

طول مدت AHP یک تعیین کننده اساسی فرکانس اسپایک‌ها در نورون‌هاست [۸،۲۶] و کاهش آن با افزایش firing نورون‌ها همراه است[۱۵،۲۰]. با توجه به مهار کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ در رینگر کلسیمی، کاهش مدت اسپایک کلسیمی و AHP متعاقب در حضور پاراکسان پیشنهاد می‌کند مهار کانال‌های کلسیمی بوسیله پاراکسان و در نتیجه کاهش ورود کلسیم به نورون می‌تواند عاملی برای کاهش مدت AHP و افزایش فرکانس اسپایک‌ها باشد. مکانیسم مشابهی برای کاهش AHP و افزایش تحریک پذیری نورون‌های سمپاتیک وزغ آمریکایی در حضور سومان و VX (دو ارگانوفسفره با سمیت بسیار بالا) پیشنهاد شده است [۱۱]. کاهش مدتAHP و افزایش فرکانس نورون‌ها در رینگر کلسیمی متعاقب افزودن فورسکولین بدون تغییر معنی دار در مدت اسپایک‌ها رخ داد که نشان می‌دهد این تغییرات احتمالا از تاثیر بر ساختارهایی غیر از کانال‌های کلسیمی ناشی شده و مکانیسمهای متفاوتی را بکار می‌گیرد. افزایش فرکانس نورون‌های حلزون در حضور فورسکولین قبلا گزارش شده است[۵]. تاثیر فورسکولین بر فرکانس اسپایک‌ها می‌تواند از تاثیر شناخته شده آن در مهار کانال‌های پتاسیمی ناشی شود. نشان داده شده فورسکولین بطور وابسته به دوز باعث غیر فعال سازی کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ در نورون‌های حلزون می‌گردد. این اثر ظاهرا از برهمکنش مستقیم فورسکولین با کانال‌های پتاسیمی نتیجه می‌شود[۳۶]. اما در رینگر کلسیمی کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ تاحد زیادی مهار شده‌اند. افزایش فرکانس مشاهده شده در این تحقیق می‌تواند تا حدودی از بر همکنش فورسکولین با بخشی از کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ که علیرغم حضور 4-AP و TEA مهار نشده‌اند، ناشی شود. AHP آهسته که بوسیله جریانات پتاسیمی وابسته به کلسیم ایجاد می‌شود بوسیله نوروترنسمیترهای مختلفی که از طریق گیرنده‌های متابوتروپیک عمل می‌کنند تعدیل می‌شود[۲۳]. Pedarzani و Storm نشان دادند پروتین کیناز نوع A اثر مهاری مونوآمین‌ها بر AHP آهسته را در نورون‌های هیپوکامپ وساطت می‌کند[۲۴]. فعال سازی PKA توسط فورسکولین ممکن است بطور مشابهی سبب مهار جریانات پتاسیمی وابسته به کلسیم، کوتاه شدن مدت AHP و افزایش فرکانس در نورون‌های حلزون باشد.

پیش تیمار فورسکولین تاثیر پارکسان بر کاهش مدت اسپایک های کلسیمی و AHP متعاقب را به ترتیب به میزان ٪ ۲۷/۵ و ٪۱۶ کاهش داد. همچنین افزایش فرکانس اسپایک‌ها توسط پاراکسان در حضور فورسکولین ۱۵٪ کمتر از شرایط تاثیر آن به تنهایی بود. تعدیل اثرات پارکسان توسط فورسکولین میتواند نتیجه تغییر عملکرد کانال های کلسیمی در حضور فورسکولین باشد. فسفریلاسیون کانال‌های کلسیمی بویژه توسط PKA باعث افزایش جریان کلسیمی رو به داخل می گردد. در نورون F_1 حلزون باغی، کارباميل‌کولین و دیگر آگونیست های موسکارینیک جریان ورودی Ba^{2+} از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ را افزایش می دهند [۱۰،۷] با توجه به شواهد موجود مبنی بر تاثیر پارکسان بر رسپتورهای متابو تروپیک بویژه رسپتورهای موسکارینی [۱۴،۳۴،۲] ممکن است پارکسان بر مسیرهای سیگنالینگ پایین دست این رسپتورها موثر بوده و با مسیرهای داخل سلولی فعال شده با فورسکولین تداخل نماید. از پنج نوع شناخته شده رسپتورهای موسکارینی (M_1-M_5)، انواع M_2 و M_4 از طریق یک G پروتئین مهاری(G_i) تولید cAMP را مهار می کنند[۱۸]. Ward و همکاران در ۱۹۹۶ نشان دادند Paraoxon می‌توانند به رسپتورهای موسکارینی نوع M_2 و M_4 متصل شده و بطور وابسته به دوز تولید cAMP را در نورون‌های قشر فرونتال Rat مهار کند[۳۴].

این شواهد پیشنهاد میکند مهار تولید cAMP توسط پارکسان (احتمالا از طریق رسپتورهای موسکارینی M_2 و M_4) ممکن است بطور غیر مستقیم در مهار کانال‌های کلسیمی و در نتیجه کاهش مدت اسپایک کلسیمی و دیگر اثرات مشاهده شده در حضور پاراکسان نقش داشته باشد، درحالیکه تولید cAMP و فعال سازی PKA توسط فورسکولین می‌تواند با اثر مهاری پارکسان در تولید cAMP مقابله کرده و باعث تعدیل اثرات آن گردد. مجموع نتایج بدست آمده در این تحقیق پیشنهاد می‌کند فعال‌سازی پروتین‌کیناز A با فورسکولین می‌تواند تاثیر پاراکسان در القاء تحریک‌پذیری نورون‌های حلزون را کاهش دهد. این آنتاگونیسم فیزیولوژیک ممکن است از تداخل اثرات پارکسان با مسیر سیگنالینگ پروتیین کیناز A ناشی شده و یا مکانیسم‌های دیگری را بکار گیرد. مقابله فورسکولین با عوارض ترکیبات ارگانو فسفره در پیوندگاه عصب عضله نیز گزارش شده است[۴]. تعیین اهمیت کلینیکی برهم کنش ترکیبات ارگانو فسفره با سیستم‌های سیگنالینگ داخل سلولی مستلزم تحقیقات بیشتر بوده و روشن شدن این امر می تواند زمینه ای جهت توسعه روشهای درمانی فراهم کند

تقدیر و تشکر

بررسی حاضر حاصل طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله می‌باشد. نویسندگان مقاله بدینوسیله مراتب قدردانی و سپاسگزاری خود را از ریاست محترم مرکز اعلام می‌دارند .

منابع

[1] Anwyl R, Modulation of vertebrate neuronal calcium channels by transmitters. ***Brain Res; Brain Res Rev***, 16 (1991) 265-281.

[2] Bakry NM, el-Rashidy AH, Eldefrawi AT,

www.SID.ir

Archive of SID

Eldefrawi ME, Direct actions of organophosphate anticholinesterases on nicotinic and muscarinic acetylcholine receptors. ***J Biochem Toxicol***, 3 (1988) 235-259.

[3] Bal R, Janahmadi M, Green GG, Sanders DJ, Two kinds of transient outward currents, I_A and I_{Adepol}, in F76 and D1 soma membranes of the subesophageal ganglia of *Helix aspersa*. ***J Membr Biol***, 179 (2001) 71-78.

[4] Bradley R, Edge M, Forskoline contracts the effects of the organophosphate soman at the neuromuscular junction. ***Brain Res***, 425 (1987) 401-406.

[5] Conn PJ, Strong JA, Azhderian EM, Nairn AC, Greengard P, Kaczmarek LK, Protein kinase inhibitors selectively block phorbol ester- or forskolin-induced changes in excitability of Aplysia neurons. ***J Neurosci***, 9 (1989) 473-479.

[6] Crest M, Gola M, Large conductance Ca^{2+}-activated K^+ channels are involved in both spike shaping and firing regulation in Helix neurones. ***J Physiol***, 465 (1993) 265-287.

[7] Gerschenfeld HM, Paupardin-Tritsch D, Yakel JL, Muscarinic enhancement of the voltage dependent calcium current in an identified snail neuron. ***J Physiol***, 434 (1991) 85-105.

[8] Goh JW, Pennefather PS, Pharmacological and physiological properties of the after-hyperpolarization current of bullfrog ganglion neurones. ***J Physiol***, 394 (1987) 315-330.

[9] Gola M, Ducreux C, Chagneux H, Ca^{2+}-activated K^+ current involvement in neuronal function revealed by in situ single-channel analysis in Helix neurones. ***J Physiol,*** 420 (1990) 73-109.

[10] Golowasch J, Paupardin-Tritsch D, Gerschenfeld HM, Enhancement by muscarinic agonists of a high voltage-activated Ca^{2+} current via phosphorylation in a snail neuron. ***J Physiol***, 485 (1995) 21-28.

[11] Heppner TJ, Fiekers JF, Soman reversibly decreases the duration of Ca^{2+} and Ba^{2+} action potentials in bullfrog sympathetic neurons. ***Brain Res,*** 563 (1991) 303-305

[12] Hermann A, Erxleben C, Charybdotoxin selectively blocks Small Ca-activated K channels in *Aplysia* neurons. ***J Gen Physiol***, 90 (1987) 27-47.

[13] Hescheler J, Schultz G, G-proteins involved in the calcium channel signalling system. ***Curr Opin Neurobiol***, 3 (1993) 360-367.

[14] Katz LC, Marquis JK, Modulation of central muscarinic receptor binding in vitro by ultra low levels of the organophosphate paraoxon. ***Toxicol Appl Pharmacol***, 101 (1989) 114-123.

[15] Kawai T, Watanabe M, Blockade of Ca-activated K conductance by apamin in rat sympathetic neurons. ***Br J Pharmacol***, 87 (1986) 225-232.

[16] Kerschbaum HH, Hermann A, Ethanol suppresses neuronal Ca^{2+} currents by effects on intracellular signal transduction. ***Brain Res***, 765 (1997) 30-36.

[17] Krause M, Pedarzani P, A protein phosphatase is involved in the cholinergic suppression of the Ca2+-activated K+ current sI_{AHP} in hippocampal pyramidal neurons. ***Neuropharmacology,*** 39 (2000) 1274-1283.

[18] Lambert DG, Burford NT, Nahorski SR, Muscarinic receptor subtypes: inositol phosphates and intracellular calcium. ***Biochem Soc Trans***, 20 (1992) 130-135.

[19] Lee BW, London L, Paulauskis J, Myers J, Christiani DC, Association between human paraoxonase gene polymorphism and chronic symptoms in pesticide-exposed workers. ***J Occup Environ Med***, 45 (2003) 118-22.

[20] Madison DV, Nicoll RA, Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate mediates beta-receptor actions of noradrenaline in rat hippocampal pyramidal cells. ***J Physiol***, 372 (1986) 245-259.

[21] Meech RW, Standen NB, Intracellular calcium injection activates potassium conductance in Aplysia nerve cells. ***Fed Proc***, 29 (1970) 834.

[22] Mileson BE, Chambers JE, Chen WL, Dettbarn W, Ehrich M, Eldefrawi AT, Gaylor DW, Hamernik K, Hodgson E, Karczmar AG, Padilla S, Pope CN, Richardson RJ, Saunders DR, Sheets LP, Sultatos LG, Wallace KB, Common mechanism of toxicity: a case study of organophosphorus pesticides. ***Toxicol Sci***, 41 (1998) 8-20.

[23] Nicoll RA, The coupling of neurotransmitter receptors

www.SID.ir

Archive of SID

to ion channels in the brain. ***Science,*** 241 (1988) 545–551.

[24] Pedarzani P, Storm JF, PKA mediates the effects of monoamine transmitters on the K+ current underlying the slow spike frequency adaptation in hippocampal neurons. ***Neuron,*** 11 (1993) 1023–1035.

[25] Rocha ES, Swanson KL, Aracava Y, Goolsby JE, Maelicke A, Albbuuquerque EX, Paraoxon: cholinesterase-independent stimulation of transmitter release and selective block of ligand-gated ion channels in cultured hippocampal neurons. ***J Pharmacol Exp Therap***, 278 (1996) 1175-1187.

[26] Sah P, Ca^{2+}-activated K^+ currents in neurones: types, physiological roles and modulation. ***Trends Neurosci***, 19 (1996) 150-154.

[27] Sakakibara M, Okuda F, Nomura K, Watanabe K, Meng H, Horikoshi T, Lukowiak K, Potassium currents in isolated statocyst neurons and RPeD1 in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*. ***J Neurophysiol***, 94 (2005) 3884-3892.

[28] Silveira CL, Eldefrawi AT, Eldefrawi ME, Putative M2 muscarinic receptors of rat heart have high affinity for organophosphorus anticholinesterases. ***Toxicol Appl Pharmacol***, 103 (1990) 474-481.

[29] Schrofner S, Zsombok A, Hermann A, Kerschbaum HH, Nitric oxide decreases a calcium-activated potassium current via activation of phosphodiesterase 2 in *Helix* U-cells. ***Brain Res***, 999 (2004) 98-106.

[30] Stallones L, Beseler C, Pesticide illness, farm practices, and neurological symptoms among farm residents in Colorado. ***Environ Res***, 90 (2002) 89-97.

[31] Sungur M, Güven M, Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. ***Critical Care,*** 5 (2001) 211–215.

[32] Thompson SH, Three pharmacologically distinct potassium channels in molluscan neurones. ***J Physiol***, 265 (1977) 465-488.

[33] Thompson S, Aminopyridine block of transient potassium current. ***J Gen Physiol***, 80 (1982) 1-18.

[34] Vatanparast J, Janahmadi, M., Asgari AR, Sepehri H, Haeri-Rohani A. Paraoxon suppresses Ca^{2+} spike and afterhyperpolarization in snail neurons: relevance to hyperexcitability induction. ***Brain Res***, (2006) In press.

[35] Ward TR, Mundy WR, Organophosphorus compounds preferentially affect second messenger systems coupled to M2/M4 receptors in rat frontal cortex. ***Brain Res***, 39 (1996) 49-55.

[36] Watanabe K, Gola M, Forskolin interaction with voltage dependent K^+ channels in *Helix* is not mediated by cyclic nucleotides. ***Neurosci Lett***, 78 (1987) 211-216.

متن کامل این مقاله از طریق وب سایت مجله قابل دسترسی است www.phypha.ir/ppj

www.SID.ir