اثر تزریق ۲ - کلروآدنوزین به قشر پری‌رابنال بر حملات تشنجی ناشی از کیندلینگ آمیگدال در موش صحرایی

محمدرضا پالیزوان[۱]*(Ph.D)، محمدحسین پورغلامی[۲](Ph.D)، سیدجواد میرنجفی‌زاده[۱](Ph.D)، محمد رستم‌پور[۲](Ph.D)

۱ - دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی

۲ - دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی

خلاصه

سابقه و هدف: آدنوزین که یکی از تعدیل کنندگان نورونی است در مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد صرع، از جمله کیندلینگ، دارای اثرات ضد تشنجی می‌باشد، اما هنوز جایگاه و یا جایگاه‌های اثر آن در سیستم اعصاب مرکزی به درستی شناخته نشده است. براین اساس، در این تحقیق اثر تزریق ۲ - کلروآدنوزین، آگونیست پایدار گیرنده‌های آدنوزین، به داخل قشر پری‌رابنال در موش‌های صحرایی که با تحریک الکتریکی آمیگدال کیندل شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تمامی حیوانات مورد آزمایش توسط تحریک الکتریکی (یک بار در روز) کیندل شدند. به گروه‌های مختلف حیواناتی که به طور کامل کیندل شده بودند، ۲-کلروآدنوزین با غلظت‌های ۵، ۱۵، ۲۵ و ۱۰۰ نانومولار، کافئین با دزهای ۵ و ۲۰ میکرومولار و حلال دارو (مایع مغزی نخاعی مصنوعی) به میزان یک میکرولیتر در طی چهار دقیقه از طریق یک کانول راهنما به داخل قشر پری رابنال تزریق شدند و حیوانات در زمان‌های ۱۰، ۳۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق، با شدت آستانه، تحریک گردیدند.

یافته‌ها: در تمامی دزهای تزریقی، ۲-کلروآدنوزین به طور معنی‌داری مدت زمان ایجاد امواج تخلیه متعاقب و مدت زمان مرحله ۵ تشنج را کاهش داد. زمان تأخیری بین تحریک و شروع مرحله ۴ تشنج نیز فقط در در ۱۰۰ نانومولار به طور معنی‌داری افزایش یافت. این دارو در هیچ یک از دزهای به کار رفته تأثیر معنی‌داری بر مرحله حمله تشنج نداشت. حداکثر اثر دارو، ۳۰ دقیقه پس از تزریق مشاهده شد. هنگامی که قبل از تزریق ۲-کلروآدنوزین، کافئین (آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌های آدنوزین) به داخل قشر پری‌رابنال تزریق گردید (۵۰ میکرومولار به میزان یک میکرولیتر در طی چهار دقیقه)، اثرات ضد تشنجی ۲-کلروآدنوزین مهارشد.

واژه های کلیدی: تشنج، کیندلینگ، آدنوزین، آمیگدال، قشر پری‌رابنال

مقدمه

کیندلینگ، مدلی آزمایشگاهی برای ایجاد تشنج در حیوانات می‌باشد . در این مدل، تحریک مکرر ناحیه خاصی از مغز توسط محرک الکتریکی ضعیفی که در ابتدا قادر به ایجاد رفتار تشنجی در حیوان نمی باشد، به تدریج باعث ایجاد تشنج در حیوان می‌گردد. با افزایش تعداد تحریکات بر شدت تشنج و مدت زمانی که امواج تخلیه متعاقب (After Dicharge, AD) ایجاد می‌شوند، افزوده می‌گردد [۲۶]. در مدل کیندلینگ امواج AD در ابتدا محدود به جایگاه تحریک می‌باشند، اما به تدریج

* نویسنده مسئول. تلفن: ۸۰۱۱۰۰۱-۰۲۱ داخلی ۳۸۶۴ دورنما: ۸۰۰۶۵۴۴-۰۲۱ پست الکترونیک: PALIZV-M@netics.modares.ac.ir

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

با افزایش تعداد تحریکات، این امواج منتشر شده و نواحی دیگری از مغز را در برمی‌گیرند [۲۲]. شناخت مکانیسم‌های دخیل در پیشرفت و گسترش تشنج در مغز، یکی از مهم‌ترین مباحثی است که می‌تواند به شناخت پاتوفیزیولوژی صرع کمک کند.

قشر پری راینال یکی از ساختمان‌های سیستم لیمبیک است که در نزدیکی شیار راینال قرار دارد [۴]. پیشنهاد شده است در حیواناتی که با تحریک الکتریکی آمیگدال کیندل می‌شوند، قشر پری‌راینال ممکن است در مکانیسم ایجاد AD و نیز در گسترش تشنج‌های ناشی از کیندلینگ نقش داشته باشد[۱۳].

از طرف دیگر، شواهد زیادی وجود دارد که آدنوزین به عنوان یک ماده ضد تشنجی درون‌زاد عمل می‌کند [۷،۸،۱۰]. ۲-کلروآدنوزین یکی از آگونیست‌های پایدار آدنوزینی است [۸،۹] که پس از تزریق داخل صفاقی به موش‌های صحرایی که با تحریک الکتریکی آمیگدال کیندل شده‌اند، دارای اثرات ضد تشنجی می‌باشد [۲،۹،۴]. نواحی مختلفی از مغز، از جمله آمیگدال [۲۵،۲۷] و قشر پری‌راینال [۱۳] ممکن است در کنترل AD های ناشی از کیندلینگ آمیگدال نقش داشته باشند. تحقیقات قبلی ما نشان داد که تزریق ۲-کلروآدنوزین به داخل آمیگدال موجب مهار تشنج‌های ناشی از کیندلینگ آمیگدال می‌شود [۲۵]. بنابراین در این تحقیق هدف این بود که تأثیر تزریق ۲-کلروآدنوزین به داخل قشر پری‌راینال بر شدت تشنج ناشی از کیندلینگ آمیگدال مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

جراحی حیوانات و ایجاد کیندلینگ. در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر در محدوده وزنی ۳۶۰-۳۳۰ گرم استفاده گردید. حیوانات با تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (۵۰ mg/kg) بی‌هوش شدند و سپس توسط دستگاه استرئوتاکسی یک الکترود سه قطبی (دو قطب برای تحریک و یک قطب برای ثبت) در هسته قاعده‌ای - جانبی آمیگدال (با مختصات ۲/۵mm به عقب و ۴/۸mm به سمت راست نسبت به برگما و ۷/۵mm پایین‌تر از سخت‌شامه) کار گذاشته شد. تمام طول الکترودها، بجز نوک آنها توسط پوشش تفلونی، عایق شده بود. همچنین، یک کانول هادی که توسط سر سوزن ۲۳G ساخته شده بود در قشر پری‌راینال سمت راست و با مختصات ۲/۷mm به سمت جلو و ۴mm به سمت راست نسبت به برگما و ۴/۷mm پایین‌تر از سخت‌شامه قرار داده شد. دو الکترود تک قطبی نیز به عنوان الکترودهای زمین و دیفرنشیال، توسط پیچ به جمجمه متصل شدند. پس از کارگذاری الکترودها، پین‌های متصل به آنها در داخل سوکت قرار گرفته و سوکت توسط سیمان دندانپزشکی بر روی جمجمه ثابت گردید.

۱۰ روز پس از جراحی، ابتدا آستانه تحریک هر حیوان تعیین و سپس تحریک حیوانات با شدت آستانه شروع گردید. برای تعیین آستانه تحریک از امواج مربعی دو فازی با فرکانس ۱۰۰Hz که مدت زمان هر نیم موج ۰/۵ میلی ثانیه بود، اگر این شدت جریان منجر به ایجاد امواج تخلیه متعاقب به مدت حداقل ۵ ثانیه می‌گردید، به عنوان آستانه تحریک در نظر گرفته می‌شد و در غیر این صورت ، با فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای، هر بار شدت جریان ۱۰μA افزایش داده می‌شد تا جایی که بتواند حداقل به مدت ۵ ثانیه امواج تخلیه متعاقب را ایجاد کند. سپس حیوانات هر ۲۴ ساعت یک بار با شدت آستانه تحریک شدند تا ۵ بار مرحله ۵ تشنج را نشان دهند. تقسیم‌بندی مراحل تشنج در این مدل بر اساس پیشنهاد Racine [۲۶] بدین ترتیب است: مرحله ۱، انقباض عضلات سر و صورت؛ مرحله ۲، حرکت سر به سمت بالا و پایین؛ مرحله ۳، ایجاد کلونوس در اندام جلویی طرف مقابل ناحیه تحریک شده؛ مرحله ۴، ایستادن روی اندام‌های عقبی همراه باکلونوس در اندام جلویی طرف مقابل ناحیه تحریک شده و مرحله ۵، از دست دادن تعادل و به زمین خوردن حیوان.

کمیت‌های اندازه‌گیری شده در این تحقیق عبارت بودند از: مرحله حمله تشنجی، مدت زمان ثبت امواج

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

تخلیه متعاقب (Afterdischarge duration, ADD)، معکوس مدت زمان تأخیری بین تحریک و مرحله ۴ تشنج (1/Stage 4 Latency, 1/S4L) و مدت زمان مرحله ۵ تشنج (Stage 5 duration, S5D). در حیواناتی که پس از تزریق دارو به مراحل ۴ و ۵ تشنج نمی‌رسیدند زمان تأخیری بین تحریک و شروع مرحله 4 (S4L) بی‌نهایت در نظر گرفته شده و در نتیجه 1/S4L برابر با صفر می‌باشد.

تزریق دارو. برای تهیه غلظت‌های مختلف دارو از مایع مغزی-نخاعی مصنوعی (ACSF) به عنوان حلال استفاده گردید و pH محلول حاصل در محدوده ۷/۳ تا ۷/۴ تنظیم شد. ترکیبات تشکیل دهنده ACSF و مقادیر آنها بر حسب میلی‌مولار عبارت بودند از: NaCl (114)، NaH_2PO_4 (1.25)، Mg_2O_4 (2)، $NaHCO_3$ (26)، $CaCl_2$ (1) و گلوکز (10). محلول‌های حاصله قبل از تزریق با عبور دادن از میکروفیلتر (۰/۲um) استریل می‌شدند. با استفاده از یک سر سوزن ۳۰G که نوک کانول هادی قرار می‌گرفت و توسط یک لوله پلی‌اتیلنی به سرنگ هامیلتون متصل شده بود، دارو به داخل قشر پری‌رایینال تزریق می‌شد (یک میکرولیتر در ۴ دقیقه).

تزریق ۲-کلروآدنوزین به قشر پری‌رایینال. به گروه‌های مختلف حیواناتی که کیندل شده بودند ۲-کلروآدنوزین با دزهای ۵، ۱۰، ۲۵ و ۱۰۰ نانومولار تزریق شده و حیوانات در فواصل زمانی ۱۰، ۳۰ و ۱۲۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از تزریق دارو تحریک شدند. دزهای دارو بر اساس مطالعات قبلی [۱۰،۱۳] انتخاب گردید. هر بار ۲۴ ساعت قبل از تزریق ۲-کلروآدنوزین (ACSF ۱ میکرولیتر در ۴ دقیقه) به حیوانات تزریق و نتایج حاصله به عنوان مقادیر شاهد در نظر گرفته شد.

تزریق کافئین به داخل قشر پری‌رایینال. کافئین با دزهای ۲۰۰ و ۵۰ میکرومولار به گروه‌های مختلف حیوانات در فواصل زمانی ۱۰، ۳۰ و ۱۲۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از تزریق دارو تحریک شدند. همانند قبل، هر بار ۲۴ ساعت از تزریق دارو ACSF به حیوانات تزریق و نتایج به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد.

تزریق همزمان ۲-کلروآدنوزین و کافئین به قشر پری‌رایینال. ۱۵ دقیقه قبل از تزریق دزهای ۱۰ و ۱۵ نانومولار ۲-کلروآدنوزین، کافئین با دز ۵۰ میکرومولار به داخل پری رایینال تزریق گردید و ۳۰ دقیقه پس از تزریق ۲-کلروآدنوزین، حیوانات با شدت آستانه تحریک شدند.

تأیید بافت‌شناسی. همه حیوانات در پایان آزمایش کشته شده و مغز آنها در فرمالین قرار داده شد. با برش‌گیری از مغز، محل قرارگرفتن الکترود و کانول در آنها بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری. نتایج به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند. اختلاف بین مقادیر در قبل و بعد از تزریق دارو با استفاده از آزمون t زوج‌ها (paired t-test) و یا آزمون Wilcoxon انجام گرفت. برای مقایسه اثر دزها و زمان‌های مختلف از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس دو طرفه (two-way ANOVA) استفاده گردید. مقایسه بین حیواناتی که ۲-کلروآدنوزین به تنهایی دریافت کرده بودند با حیواناتی که این دارو را همراه با کافئین دریافت کردند با آزمون t غیرزوج‌ها (Unpaired t-test) انجام گرفت. در هر مورد مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

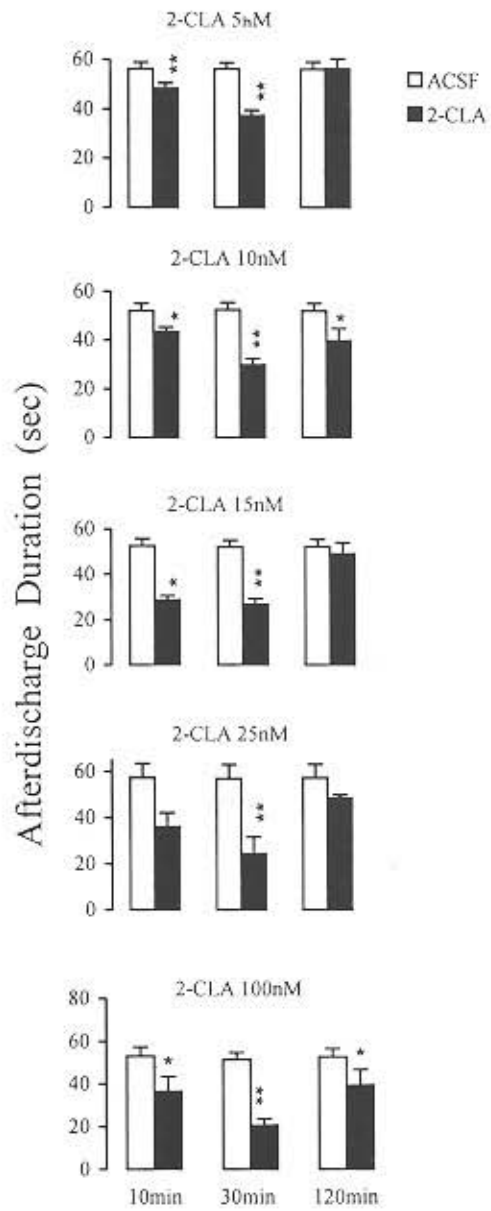
تمامی حیوانات کیندل شده از تزریق ACSF مرحله پنجم تشنج را نشان دادند و هیچ تغییری در کمیت‌های اندازه‌گیری شده ایجاد نشد. به علاوه هیچ یک از دزهای ۲-کلروآدنوزین اثر قابل توجهی در فعالیت رفتاری و حرکتی حیوان ایجاد نکرد. ارزیابی بافت‌شناسی نشان داد که الکترودهای سه قطبی و کانول‌های هادی در نواحی آمیگدال و قشر پری‌رایینال قرار داشتند.

اثرات مهاری ۲-کلروآدنوزین بر کمیت‌های تشنجی ۱۰ دقیقه پس از تزریق دارو مشاهده شد و ۳۰ دقیقه پس از تزریق به حداکثر خود رسید و پس از آن هر چند کاهش یافت اما تا ۱۲۰ دقیقه بعد نیز قابل ارزیابی بود. تمامی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

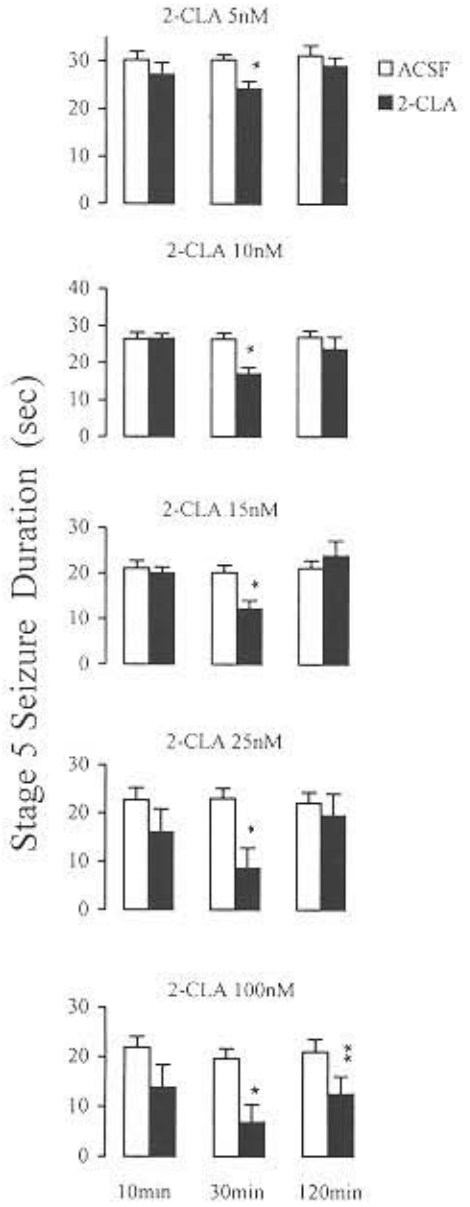
کمیت‌های اندازه گیری شده، ۲۴ ساعت پس از تزریق دارو به حد پایه خود برگشت.

دزهای مختلف ۲-کلروآدنوزین (۵ تا ۱۰۰ نانومول) هیچ اثر معنی‌داری بر مرحله حمله تشنجی در زمان‌های مختلف پس از تزریق نداشت. از طرفی، تزریق کلروآدنوزین به قشر پری‌راینال منجر به کاهش ADD گردید (شکل ۱).



شکل ۱. اثر تزریق دزهای مختلف ۲-کلروآدنوزین (۵-۱۰۰nM) به قشر پری‌راینال حیوانات کیندل شده بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (۴min/۱/۷۱) (n=۶). مقادیر به صورت میانگین ±انحراف معیار می‌باشند. * نشان دهنده $p<0/05$ و ** نشان دهنده $p<0/01$ در مقایسه با کنترل مربوطه با استفاده از آزمون t زوج‌ها می‌باشد.

آزمون تجزیه و تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد این کاهش وابسته به زمان [$F_{(2,75)} = 27/15$; $P<0/001$] و دز [$F_{(4,75)} = 4/08$; $P<0/05$] می‌باشد اما وابسته به دز × زمان نیست [$F_{(8,75)} = 0/7$; $P=0/64$]. تزریق ۲-کلروآدنوزین به قشر پری‌راینال منجر به طولانی شدن S4L نیز گردید (که به صورت کاهش کمیت 1/S4L در جدول ۱ نشان داده شده است).



شکل ۲. اثر تزریق دزهای مختلف ۲-کلروآدنوزین (۵-۱۰۰nM) به قشر پری‌راینال حیوانات کیندل شده بر مدت زمان مرحله ۵ تشنج (۴min/۱/۷۱) (n=۶). مقادیر به صورت میانگین ±انحراف معیار می‌باشند. * نشان دهنده $p<0/05$ و ** نشان دهنده $p<0/01$ در مقایسه با کنترل مربوطه با استفاده از آزمون t زوج‌ها می‌باشد.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

جدول ۱. اثر ۲-کلروآدنوزین بر معکوس فاصله زمانی بین تحریک و شروع مرحله ۴ تشنج (1/S4L)

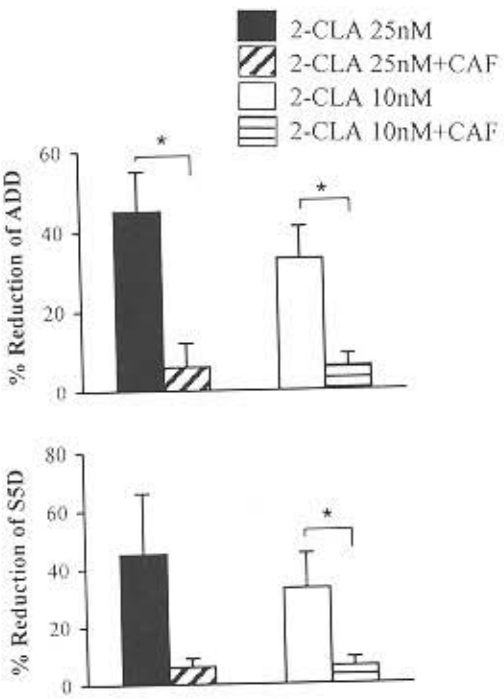
فاصله زمانی بین تزریق دارو و تحریک حیوان / ماده تزریق شده	۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۱۲۰ دقیقه
ACSF	۰/۲۰±۰/۱۳	۰/۲۰±۰/۲۶	۰/۲۲±۰/۳۵
2-CLA (۵ نانومولار)	۰/۲۰±۰/۱۳	۰/۱۹±۰/۲۲	۰/۲۰±۰/۱۶
ACSF	۰/۳۵±۰/۱۴	۰/۳۵±۰/۲۲	۰/۳۵±۰/۱۶
2-CLA (۱۰نانومولار)	۰/۳۸±۰/۱۳	۰/۳۶±۰/۱۳	۰/۳۵±۰/۱۴
ACSF	۰/۸۱±۰/۰۳	۰/۷۷±۰/۱۸	۰/۱۸±۰/۰۸
2-CLA (۱۵نانومولار)	۰/۸۴±۰/۶۳	۰/۸۰±۰/۲۴	۰/۱۹±۰/۰۶
ACSF	۰/۲۴±۰/۰۴	۰/۲۵±۰/۰۸	۰/۲۴±۰/۱۹
2-CLA (۲۵نانومولار)	۰/۲۷±۰/۰۶	۰/۲۳±۰/۰۷	۰/۲۰±۰/۰۴
ACSF	۰/۲۲±۰/۰۳	۰/۲۳±۰/۰۵	۰/۲۵±۰/۰۳
2-CLA(۱۰۰نانومولار)	۰/۲۲±۰/۰۸	۰/۲۰±۰/۰۸	۰/۱۸±۰/۰۴*

حیوانات (n=۶) در زمان‌های ۱۰و۳۰و۱۲۰ دقیقه پس از تزریق مایع مغزی نخاعی مصنوعی (ACSF) یا ۲-کلروآدنوزین (2-CLA) به قشر پری‌رایینال تحریک شدند. اعداد نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار میانگین می‌باشند * نشان دهنده P<۰/۰۵ در مقایسه با کنترل مربوطه با استفاده از آزمون t زوج‌ها می‌باشند.

آزمون تجزیه و تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد که این اثر وابسته به دز می‌باشد [$F_{(۴,۷۵)}$=۳/۲۳P<;۰/۰۵] اما وابسته به زمان نیست [$F_{(۲,۷۵)}$ = ۰/۰۴; P=۰/۰۹]. به علاوه هیچ گونه برهم‌کنشی بین دز و زمان دیده نشد [$F_{(۸,۷۵)}$ = ۰/۰۷; P=۰/۹۹] همچنین، دزهای مختلف ۲-کلروآدنوزین S5D را نیز کاهش دادند (شکل ۲) که این کاهش وابسته به زمان [$F_{(۲,۷۵)}$ = ۷/۵۴; P<۰/۰۵] و دز [$F_{(۴,۷۵)}$ = ۴/۹۵; P<۰/۰۵] بود.

در مورد این کمیت نیز وابستگی به دز × زمان دیده نشد [$F_{(۸,۷۵)}$ = ./۶; P=۰/۷۷]. کافئین در هیچ یک از دزهای تزریق شده در کمیت‌های اندازه گیری شده ایجاد نکرد.

همانگونه که در شکل ۳ نشان داده شده است، اگر ۱۵ دقیقه قبل از تزریق ۲-کلروآدنوزین (۱۰ و ۲۵ نانومولار)، کافئین (۵۰ میکرومولار) به قشر پری‌رایینال تزریق گردد، اثرات مهاری ۲-کلروآدنوزین بر ADD و S5D به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.



شکل ۳. جلوگیری از اثر مهاری ۲-کلروآدنوزین (۲۵nM و ۱۰) بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD) و مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S5D) به دنبال تزریق کافئین (CAF،۵۰mM)به قشر پری‌رایینال. کافئین ۱۵ دقیقه قبل از ۲-کلروآدنوزین تزریق گردید و حیوانات ۳۰ دقیقه پس از تزریق ۲-کلروآدنوزین تحریک شدند (n=۶)مقادیر به صورت میانگین ±انحراف معیار میانگین می‌باشند.* نشان دهنده p<۰/۰۵ با استفاده از آزمون t غیرزوج‌ها می‌باشد.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

بحث

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که تزریق ۲-کلروآدنوزین به قشر پری‌رایینال موش‌های صحرایی که با تحریک الکتریکی آمیگدال کیندل شده‌اند، باعث ایجاد اثرات ضدتشنجی می‌شود و پیش درمانی با کافئین موجب کاهش این اثرات می‌گردد ۲-کلروآدنوزین کمیت‌های ADD و S5D را به طور وابسته به دز کاهش داد. در دزهای بالا (۱۰۰μM) این دارو زمان تأخیری بین تحریک و شروع مرحله ۴ تشنج را نیز افزایش داد. اما علیرغم اینکه بعضی از حیوانات به مرحله تشنج عمومی (مراحل ۴ و ۵) نرسیدند، تغییر معنی‌داری در مرحله حمله تشنجی دیده نشد.

مطالعات زیادی در رابطه با اثرات ضدتشنجی آنالوگ‌های آدنوزین انجام شده است [۱،۱۰،۱۱،۲۳]. ۲-کلروآدنوزین یکی از آنالوگ‌های پایدار آدنوزینی است [۳۱،۴] که اثرات ضدتشنجی آن در بسیاری از مدل‌های آزمایشگاهی صرع، از جمله کیندلینگ، نشان داده شده است [۱۲،۶]. گزارش شده است که تزریق داخل صفاقی [۱،۲،۹،۱۰،۲۴] و داخل آمیگدالی [۲۵] این ماده باعث کاهش شدت تشنج ناشی از کیندلینگ آمیگدال می‌شود، در حالی‌که تزریق آن به داخل هیپوکمپ تأثیر معنی‌داری بر تشنج ندارد [۲۴].

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد قشر پری‌رایینال ممکن است در ایجاد امواج تخلیه متعاقب نقش داشته باشد. آزمایش‌هایی که توسط Mcintyre و Plant [۲۰، ۲۱] در شرایط خارج از بدن موجود زنده (in vitro) انجام گرفته نشان داده است که مدارهای نورونی قشر پری‌رایینال این توانایی را دارند تا فعالیت صرعی شکل (Epileptiform) را ایجاد و حفظ کنند. این موضوع توسط Matsomoto و همکارانش [۱۸] نیز تایید گردید. آنان گزارش کردند که چون مدارهای نورونی موضعی داخل قشر پری‌رایینال می‌توانند پتانسیل‌های میدانی تحریک موضعی ایجاد کنند، لذا این قشر یکی از نواحی تقویت کننده مهم در ایجاد تشنج ناشی از کیندلینگ است. به علاوه پیشنهاد شده است که فعالیت قشر پری‌رایینال برای ایجاد تشنج‌های عمومی ضروری است [۱۹] و تحریک پذیری ذاتی و ارتباطات نورونی قشر پری‌رایینال به گونه‌ای است که در تکامل و حفظ فعالیت تشنجی لوب گیجگاهی موثر می‌باشد [۱۶].

مطالعات تشریحی نیز نشان داده است که بین قشر پری‌رایینال و هسته‌های جتنبی آمیگدال ارتباط دو طرفه وجود دارد [۱۷،۴] و پیشنهاد شده است که قشر پری‌رایینال به علت ویژگی‌های تشریحی خود می‌تواند به عنوان یک مرکز تقویت کننده مهم برای ایجاد تشنج‌های عمومی در مدل کیندلینگ عمل کند [۲۹]. علاوه براین گزارش شده است که تزریق آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA به قشر پری‌رایینال شدت تشنج‌های ناشی از کیندلینگ آمیگدال را کاهش می‌دهد [۱۳]. ثبت پتانسیل‌های میدانی در قشر پری‌رایینال حیواناتی که با تحریک آمیگدال کیندل شده‌اند نشان داده است که به دنبال کیندلینگ، آستانه ایجاد تخلیه‌های خود بخودی کاهش می‌یابد و این بیانگر افزایش تحریک پذیری قشر پری‌رایینال به دنبال کیندلینگ آمیگدال است. ضمناً به دنبال کیندلینگ آمیگدال، شدت آستانه ایجاد فعالیت هم زمان در این قشر کاهش می‌یابد [۱۳]. بنابراین، می‌توان پیشنهاد کرد که قشر پری‌رایینال ممکن است در مکانیسم‌های تحریکی که در گسترش تشنج‌های کیندلینگ موثر هستند نقش داشته باشد [۱۸،۱۶].

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق ۲-کلروآدنوزین به قشر پری‌رایینال نیز اثرات ضدتشنجی به دنبال دارد. گزارش شده است که اثرات ضدتشنجی آنالوگ‌های آدنوزین از طریق گیرنده‌های A1 ایجاد می‌شود [۱۵،۳۲]. بنابراین، فعال شدن این گیرنده‌ها می‌توانند علت اثرات ضدتشنجی ۲-کلروآدنوزین در قشر پری‌رایینال نیز باشد. فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A1 منجر به اثرات مختلفی، از جمله مهار رهایش میانجی‌های نورونی تحریکی می‌شود [۲۸،۵،۳]. از آنجا که تحریک حیوانات در طی فرآیند کیندلینگ، تحریک پذیری موضعی را در قشر پری‌رایینال افزایش می‌دهد [۱۸،۱۶] و از آنجا که فعالیت گیرنده‌های

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

NMDA در قشر پری‌رایینال برای تشنج‌های ناشی از کیندلینگ آمیگدال ضروری است [۱۳]، می‌توان نتیجه گرفت که مهار رهایش نوروترانسمیترهای تحریکی توسط ۲-کلروآدنوزین به قشر پری‌رایینال یکی از مکانیسم‌های مهم در ایجاد اثرات ضدتشنجی این ماده در قشر پری‌رایینال باشد.

حذف اثرات ضدتشنجی ۲-کلروآدنوزین توسط کافئین که آنتاگونیست غیراختصاصی گیرنده‌های آدنوزینی است [۳۰]، موید این است که اثرات ۲-کلروآدنوزین در قشر پری‌رایینال از طریق گیرنده‌های آدنوزینی اعمال شده است. از آنجا که کافئین فقط در روزهای بسیار بالا دارای اثراتی به جز مهار گیرنده‌های آدنوزینی است، لذا اثرات مشاهده شده در این مطالعه را می‌توان به برهم‌کنش این دارو با گیرنده‌های آدنوزینی نسبت داد. بنابراین، براساس نتایج حاصله، این احتمال را می‌توان مطرح نمود که فعالیت گیرنده های آدنوزینی A1 در قشر پری‌رایینال ممکن است نقش مهمی در مهار تشنج‌های ناشی از کیندلینگ آمیگدال داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی انجام شد و بدین وسیله از تمامی اعضای محترم آن گروه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

[1] Albertson T.E., Joy, R.M., and Stark, L.G ., Caffeine modification of kindled amygdaloid seizures, Pharmacol. Biochem. Behv.,19 (1983) 339-343.

[2] Bortolotto, Z.A., Mello, L.E, Tuski, L. and Cavalhiero, E.A ., Effect of 2-chloroadenosine on amygdaloid and hippocampal kindled seizures, Arch. Int. Pharmacodyn. ther., 277 (1985) 313-320.

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

[4] Decon, T.W., Eichenbaum, H., Rosenberg, P. and Eckmann, K.W., Afferent connections of perirhinal cortex in the rat, J. Com . Neurol., 220 (1983)807-824.

[5] De Mondoca, A. and Riebeiro, J.A., Adenosine inhibits the NMDA receptor mediated excitatory post-synaptic potentials in the hippocampus, Brain Res., 606 (1993) 351-356.

[6] De Sarro, G., DeSarro, A. and Meldrum, B.S., Anticonvulsant action of 2-chloroadenosine injected focally into the inferior colliculus and substantia nigra, Eur. J. Pharmacol., 194 (1991) 145-152.

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

[8] Dragunow, M. Adenosine: the brains natural anticonvulsant, Trend Pharmacol. Sci., 7 (1986)128-130.

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

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

[11] Dunwiddie, T.V., Endogenously released adenosine regulated excitability in vitro hippocampus, Epilepsia, 21 (1985) 5411-548.

[12] Franklin, P.H., Tripp, E.D., Zhang, G., Gale., K. and Murray, J.F., Adenosine

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

receptor activation blocks seizure induced by bicuculline methionide in the rat piriform cortex, Eur. J. Pharmacol., 150 (1988) 207-209.

[13] Holmes, K.H., Bilkey, D.K. and Laverty, R., The infusion of an NMDA antagonist into perirhinal cortex suppresses amygdaloid seizures, Brain Res., 587 (1992) 285-290 .

[14] Jacobson, K.A., Van Golen, P.J.M. and William,M., Adenosine receptors: pharmacology, structure activity relationships and therapeutic potential, J. Med. Chem., 35 (1992) 407-422.

[15] Janusz, C.A. and Berman, R.F., The A2-selective adenosine analogue CGS2 1680 depresses locomotor activity but does not block amygdala kindled seizures in the rats, Neurosci. Lett., 141 (1992) 247-250.

[16] Kelly, M.E. and Mcintyre , D.C., Perirhinal cortex involvement in limbic kindled seizures, Epilepsy Res., 26 (1996) 233-243.

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

[18] Matsumoto, Y., Yamada, N., Morimoto, K., Bilkey, D.K. and Kuroda, S., Characterization of epileptiform field potentials recorded in the in vitro perirhinal cortex of amygdala kindled epileptogenesis, Brain Res., 741 (1996)44-51.

[19] Mcintyre, D.C ., Kelly, M.E. and Armstrong, J.N., Kindling in the perirhinal cortex, Brain Res., 615(1993) 1-6.

[20] Mcintyre, D.C. and Plant, J.R., Pirifrom cortex involvement in kindling, Neurosci. Behav. Res., 13 (1989)77-80.

[21] Mcintyre, D.C. and Plant, J.R., long-lasting changes in the origin of spontaneous discharges from amygdala kindled rats; piriform versus perirhinal cortex in vitro, Brain Res., 64 (1993) 68-76.

[22] Mcintyre, D.C. and Racine, R.J., kindling mechanisms: current progress on an experimental epilepsy model, Prog. Neurobiol., 27 (1986) 1-12.

[23] Mirnajafizadeh, J., Fathollahi, Y. and Pourgholami, M.H., Intraperitoneal and intraamygdala N6 - cyclohexyladenosine suppress hippoccampal kindled seizures in rats, Brain Res., 858 (2000)48-54.

[24] Pourgholami, M.H., Mirnajafizadeh, J. and Behzadi, J., Effect of intraperitoneal and intrahippocampal 2- chloroadenosine in amygdaloid kindled rats, Brain Res., 751 (1997) 259-264.

[25] Pourgholami, M.H., Rostampour, M., Mirnajafizadeh, J. and Palizvan, M.R., Intraamygdala infusion of 2-chloroadenosine suppresses amygdala kindled seizures, Brain Res., 775 (1997)37-42.

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

[27] Rosen, L.B. and Berman, R.F., Different effects of adenosine analogs on amygdala, hippocampal and caudate nucleus kindled seizures, Epilepsia, 28 (1987) 658-666.

[28] Scholz, K.P. and Miller, R.J., Analysis of

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

adenosine actions on Ca currents and synaptic transmission in cultured rat hippocampal pyramydal neurons, J. Physiol (LOND)., 432 (1991) 373-393.

[29] Squire, L.R. and Zola-Mogan, S., The medial lobe system, Science, 253 (1991) 1380-1386.

[30] Synder, S. and Sklar, P., Behavioral and molecular actions of caffeine:focus on adenosine, J. Psychiatr. Res., 18 (1984) 61-106.

[31] Thompson, R.D. Secunda, S., Daly, J.W. and Oisso, R.A., Activity on N-substituted 2-chloroadenosine at A1 and A2 adenosine receptors, J. Med. Chem., 34 (1991) 3388 - 3390.

[32] Young, D. and Dragunow, M., Status epilepticus may be caused by loss of adenosine anticonvulsant mechanisms, Neuroscience, 58 (1994)254-261.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

Effect of intra-perirhinal injection of 2-chloroadenosine on amygdaloid kindled seizures in rats

M.R. Palizvan*[1] (Ph.D), M.H.Pourgholami[2] (Ph.D), J.Mirnajafi-Zadeh[1] (Ph.D), M.Rostampour[2](Ph.D)

1- Dept. of Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

2- Dept. of Pharmacology, School of Medicine, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Introduction. Adenosine is a neuromodulator which has anticonvulsant effects in different laboratory models of epilepsy including kindling, but the precise site (S) of its action in the brain has not been recognized. In this study, possible anticonvulsant effects of 2-chloroadenosine injected Locally into the perirhinal cortex of amygdala kindled rats was investigated.

Materials and Methods. Animals were kindled by daily electrical stimulation. Full amygdala rast were microinfused (1μl/ 4min) with 2-chloroadenosine (2-CLA; 5, 10, 15, 25 and 100nM), caffeine (50 and 100 μm) or artificial cerebrospinal fluid applied through a guide cannula located in the perirhinal cortex and were stimulated at 10, 30 and 120 min post drug injection.

Results. At the doses employed, 2-CLA significantly reduced after discharge duration and stage 5 seizure duration. The latency to stage 4 seizure was increased only at the highest dose of 2-CLA (100 nM), while even at this dose no significant change in seizure stage could be seen. The maximum effect of 2-CLA was obtained 30 min after microinjection of the drug. Pretreatment (intraperirhinal) of animals with the nonselective adenosine antagonist, caffeine (50 μm; 1 μl), blocked the anticonvulsant activity of 2-CLA.

Conclusion. These results suggest that adenosine receptors located in the perirhinal cortex may play an important role in the suppression of seizure activity elicited from the amygdala.

Key words: Seizure; 2-chloroadenosine; Caffeinee; Amygdala; Perirhinal cortex

* Corresponding author. Fax: 021-8006544; Tel: 021-8011001, E. Mail:PALIZV-M@netlcs.modares.ac.ir

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]