

اثر تعدیل فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A₁ نورونهای قشر انتورینال بر شدت تشنجهای ناشی از کیندلینگ آمیگدال در موشهای صحرایی

محمد محمدزاده [☆]Ph.D، سید جواد میرنجفی‌زاده [☆]Ph.D

یعقوب فتح‌الهی [☆]Ph.D، سید علی روضاتی [☆]M.Sc

[☆] دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

✦ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۱۱۱-۱۴۱۱۵، دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

*** هدف:** بررسی نقش گیرنده‌های آدنوزینی A₁ نورونهای قشر انتورینال بر تشنجهای ناشی از کیندلینگ الکتریکی آمیگدال

*** مواد و روشها:** موشهای صحرایی با تحریک الکتریکی روزانه آمیگدال، کیندل شده و N⁶-سیکلو هگزیل آدنوزین (CHA: Cyclo Hexyl Adenosine)، آگونیست اختصاصی گیرنده آدنوزینی A₁، با غلظتهای ۱/۱۰، ۱ و ۱۰ میکرومولار و ۸-سیکلوپنتیل، ۱، ۳-دی متیل گزانتین (CPT: Current Procedural Terminology)، آگونیست اختصاصی گیرنده آدنوزینی A₁، با غلظتهای ۱ و ۵ میکرومولار از طریق دوکانول راهنما به قشر انتورینال تزریق گردید. سرعت تزریق هر یک از داروها ۱ μlit/۲min بود. گروههای مختلف حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق دارو تحریک شده و کمیتهای تشنجی در آنها اندازه گیری شد. همچنین برای بررسی تأثیر ضد تشنجی CHA در گروهی دیگر از حیوانات، CPT (۵ μM) ۵ دقیقه قبل از CHA (۱۰ μM) به داخل قشر انتورینال تزریق شد.

*** یافته‌ها:** داروی CHA با غلظت ۱۰ میکرومولار در زمانهای ۵، ۱۵، ۶۰، ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق، باعث کاهش معنی دار مدت زمان امواج تخلیه متعاقب آمیگدال و مدت زمان امواج تخلیه متعاقب قشر انتورینال (E-ADD) و مدت زمان مرحله ۵ تشنج گردید و زمان تاخیری بین تحریک تا شروع مرحله ۴ تشنج را افزایش داد؛ اما در مرحله حمله هیچ تغییری به وجود نیاورد. CHA با غلظت ۱/۱۰ و ۱ میکرومولار، در زمانهای ۵ و ۱۵ دقیقه پس از تزریق، تنها باعث کاهش معنی دار E-ADD: Epileptic Attentional Deficit Disorder شد. تزریق دو طرفه CPT به قشر انتورینال، هیچ تغییر معنی دار در کمیتهای تشنج ایجاد نکرد. زمانی که CPT (۵ میکرومولار)، ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA (۱۰ میکرومولار) به داخل قشر انتورینال تزریق شد، به طور معنی دار اثرات ضد تشنجی CHA را کاهش داد.

*** نتیجه‌گیری:** نتایج حاصله پیشنهاد می‌کند که قشر انتورینال مسکن است در گسترش امواج تشنجی از آمیگدال به سایر نواحی نقش داشته باشد و فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A₁ این ناحیه در بروز اثرات ضد تشنجی نقش داشته باشد.

کل واژگان: تشنج، آمیگدال، قشر انتورینال، آدنوزین

مقدمه

صرع یکی از اختلالات عصبی است که به دلیل ناشناخته بودن مکانیسمهای ایجاد آن راه درمان قطعی آن هنوز شناخته نشده است. از این رو با استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی ایجاد تشنج مطالعات فراوانی در حال انجام است. یکی از مدل‌های رایج ایجاد تشنج، کیندلینگ است که در آن با تحریک مکرر ناحیه خاصی از مغز در حیوان آزمایشگاهی تشنج ایجاد می‌شود. کیندلینگ بهترین مدل برای ایجاد شایعترین نوع تشنج در انسان یعنی تشنجهای موضعی پیچیده است (۱، ۲، ۳). در تشنجهای موضعی پیچیده، منشأ ایجاد تشنج معمولاً لوب گیجگاهی و سیستم لیمبیک است (۴، ۵). آمیگدال یکی از نواحی سیستم لیمبیک است که در ایجاد صرع لوب گیجگاهی دخالت دارد (۶). از طرفی قشر انتورینال نیز در تولید حملات گیجگاهی دخالت دارد (۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱) و به عنوان ناحیه‌ای مهم در شروع و گسترش حملات (۱۲) در نظر گرفته می‌شود. وجود ارتباط آناتومیکی و فیزیولوژیکی این قشر با آمیگدال مشخص شده است (۱۳). با توجه به ارتباط آناتومیکی بین آمیگدال و قشر انتورینال احتمال داده می‌شود که تغییر فعالیت پخته‌های قشر انتورینال بر شدت تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال مؤثر باشد. نوروترانسمیترها و نورومدولاتورها از عواملی هستند که فعالیت پخته‌ها را تغییر می‌دهند. آدنوزین به عنوان یک نورومدولاتور شناخته شده است که غلظت آن در زمان تشنج بسیار زیاد می‌شود (۱۴). مشاهده شده است که تزریق سیستمیک (۱۵، ۱۶، ۱۷) و یا تزریق داخل بطن مغزی (۱۸) آگونیستهای آن موجب مهار تشنجهای ناشی از کیندلینگ و تزریق آنتاگونیستهای آن (۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰) باعث تقویت و تسریع این تشنجهای می‌گردد. اما هنوز دقیقاً مشخص نشده است که این اثرات در کدام ناحیه مغزی اعمال می‌شود و با اینکه کدام نواحی بیشترین تأثیر را در بروز این اثرات دارند. مطالعات نشان می‌دهد که آدنوزین اثرات ضد تشنجی خود را از طریق گیرنده آدنوزینی A₁ اعمال می‌کند (۶، ۲۰، ۲۱). تاکنون نقش برخی از این نواحی از جمله آمیگدال (۲۲)، هیپوکمپ (۱۵) و قشر پری راینال (۲۳) در ایجاد اثرات ضد تشنجی آدنوزین نشان داده شده است. از طرفی، با توجه به وجود گیرنده‌های آدنوزینی این قشر بر فعالیت تشنجی ناشی از الکتریکی آمیگدال ارائه نشده است. بنابراین، هدف از این تحقیق این است که نقش قشر انتورینال و فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A₁ این ناحیه در گسترش حملات تشنجی ناشی از الکتریکی آمیگدال بررسی شود.

مواد و روشها

در این تحقیق از داروهای N⁶-سیکلوکسازیل آدنوزین (N⁶-cyclohexyladenosine; CHA) محصول شرکت سیگما) و از ۸-سیکلوپنتیل-۱، ۳-دی متیل گرانثین (8-Cyclopentyl-1, 3-dimethylxanthine; CPT) محصول شرکت RBI) به ترتیب به عنوان آگونیست و آنتاگونیست اختصاصی گیرنده A₁ استفاده شد.

جراحی حیوانات

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر نژاد Sprague Dawely

(موسه رازی، تهران) در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. برای بیهوش کردن حیوان مخلوط کتامین و رامبون به نسبت هشت به یک با دوز ۱۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی تزریق می‌شد و حیوان بیهوش در دستگاه استریوناکسی قرار می‌گرفت. مختصات محل کارگذاری الکترود بر اساس اطلس پاکسینوز (۲۴)، در هسته‌های قاعده‌ای جانبی آمیگدال و قشر انتورینال مشخص می‌گردید. مختصات آمیگدال ۲/۵ میلی‌متر به عقب و ۴/۸ میلی‌متر به سمت راست نسبت به برگما و ۵/۸ میلی‌متر زیر سخت شامه است. دو الکترود تک قطبی نیز توسط پیچهای متصل به آنها به سطح جمجمه محکم می‌شدند. پس از پایان کارگذاری الکترودها و کانولها، پینه‌های متصل به الکترود در داخل مادگی سوکت مخابراتی قرار داده می‌شد و سوکت توسط سپان دندان پزشکی بر روی سر حیوان متصل می‌گردید.

یک هفته بعد از جراحی، حیوانات با شدت جریان آستانه تحریک می‌شدند. برای به دست آوردن شدت آستانه، ابتدا حیوان مورد نظر توسط جریانی با شدت ۱۰ میکروآمپر تحریک می‌گردید. اگر امواج تخلیه متعاقب (حداقل به مدت ۵ ثانیه) ثبت می‌گردید، این شدت جریان به عنوان شدت جریان آستانه شناخته می‌شد. در غیر این صورت، هر بار شدت جریان را ۱۰ میکروآمپر به فواصل ۵ دقیقه افزایش داده تا امواج تخلیه متعاقب ثبت گردد. پس از آن حیوانات هر ۲۴ ساعت یکبار با شدت جریان آستانه تحریک می‌شدند تا مرحله تشنج را نشان داده و کیندل شوند. مراحل حمله تشنجی در مدل کیندلینگ عبارتند از: ۱) حرکات دهان و صورت؛ ۲) انقباض عضلات گردن؛ ۳) کلونوس در یکی از اندامهای جلویی؛ ۴) ایستادن روی دو پای عقبی همراه با کلونوس دو اندام جلویی و ۵) از دست رفتن تعادل و به زمین خوردن (۲۵).

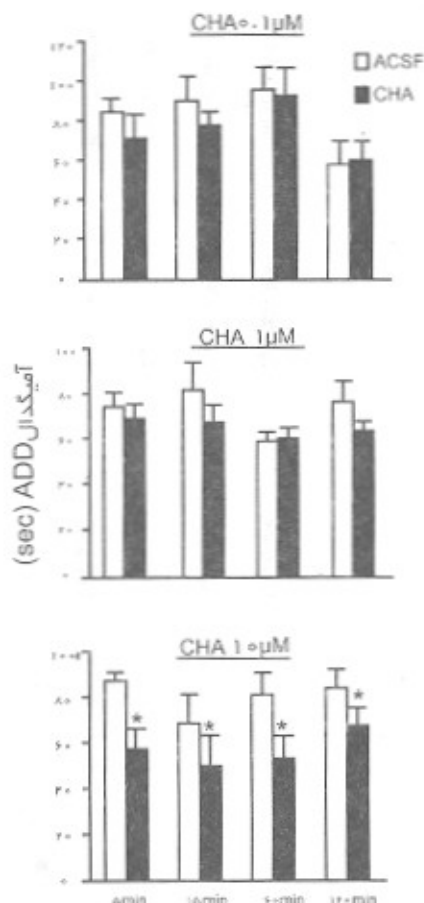
بعد از پنج بار مشاهده مرحله ۵ تشنج، آزمایشهای مربوط به تزریق دارو انجام می‌گرفت. کمیت‌هایی که در این تحقیق بعد از هر بار تحریک اندازه‌گیری می‌شدند عبارتند از: مدت زمان تخلیه‌های متعاقب از آمیگدال؛ مدت زمان تخلیه‌های متعاقب از قشر انتورینال؛ مدت زمان تاخیری بین تریک الکتریکی و شروع مرحله ۴ تشنج (Stage 4 latency; S4L)؛ طول دوره مرحله ۵ تشنج (Stage 5 duration; S5D)؛ مرحله حمله تشنج (Seizure stage; SS) و به جز کمیت‌های اول و دوم که الکتروفیزیولوژیک هستند، سایر کمیت‌های رفتاری هستند که با مشاهده حیوان و ثبت زمان به وسیله کامپیوتر اندازه‌گیری می‌شدند. در تمامی آزمایشها از گروه‌های ۶ تایی استفاده گردید و تا حد امکان ضوابط اخلاقی کار با حیوانات در نظر گرفته شد.

تزریق دارو

تزریق CHA یا CPT به داخل قشر انتورینال

CHA یا CPT پس از حل شدن در ACSF با دوزهای ۱، ۱۰، ۱ و ۱۰ میکرومولار و CPT با دوزهای ۱ و ۵ میکرومولار به حیوانات

1. Amygdala afterdischarge duration
2. Entorhinal cortex afterdischarge duration



شکل ۱: اثر تزریق دو طرفه (۱- و ۱۰- میکرومولار) به قشر انتورینال بر اصواج ششبه متعاقب ثبت شده از آمیگدال حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق. نتایج شدند مقایسه به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب تائیه نشان داده شده‌اند. * نشان معنای $P < 0.05$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون t زوجها است.

همچنین CHA در تمامی دوزها، ADD ثبت شده از قشر انتورینال را به طور معنی داری کاهش داد. CHA با غلظت ۱۰ میکرومولار در تمامی زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه کاهش معنی داری نشان داد، اما غلظت ۱ میکرومولار فقط در زمانهای ۵، ۱۵ و غلظت ۱/۰ میکرومولار در زمان ۱۵ دقیقه کاهش معنی داری در ADD ثبت شده از قشر انتورینال داشت (شکل ۲).

آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که این اثر وابسته به دوز بوده ($F(2, 58)=7.13, P < 0.001$) اما وابسته به زمان ($F(6, 58)=0.73, P=0.61$) نیست.

کمیت S4L تنها در دوز ۱۰ میکرومولار زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق، به طور معنی دار افزایش یافت (شکل ۳). بر اساس آزمون ANOVA دو طرفه این اثر وابسته به دوز ($P < 0.0001$) $F(2, 66)=17.42$ و دوز × زمان ($F(12, 66)=0.42, P < 0.0001$) بوده اما وابسته به زمان ($F(3, 66)=1.08, P=0.36$) نیست. کمیت S5D تنها در دوز ۱۰ میکرومولار CHA، پس از تزریق زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه به طور معنی دار کاهش یافت (شکل ۴).

کیندل شده تزریق و حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق تحریک شده و کمیتهای تشنجی آنها اندازه گیری شد. در همه آزمایشها، ۲۴ ساعت قبل از تزریق داروها، به حیوانات ACSF تزریق می شد و از داده‌های حاصل به عنوان کنترل استفاده می گردید.

تزریق CHA همراه با CPT به داخل قشر انتورینال

در این آزمایش تزریق CPT (۵ میکرومولار) ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA (۱۰ میکرومولار) صورت گرفت و حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق CHA تحریک شدند و تمامی کمیتهای تشنجی بعد از تحریک، اندازه گیری گردید.

* تأیید بافت شناسی

پس از پایان هر آزمایش جهت اطمینان از قرار داشتن الکترود و کانول در محل مورد نظر به محل کانول ۱/۱ رنگ آبی متیل تزریق شده و محل الکترود نیز توسط جریان الکتریکی مستقیم با شدت ۱mA و به مدت زمان ۸ ثانیه تخریب گردید. سپس مغز حیوانات خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. بعد از یک هفته از محل الکترود و کانول برشگیری به عمل آمده تا محل الکترود و کانول مشخص گردد. فقط داده‌های حاصل از حیواناتی که الکترود در موقعیت مناسب قرار داشت، مورد استفاده قرار گرفت.

* روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

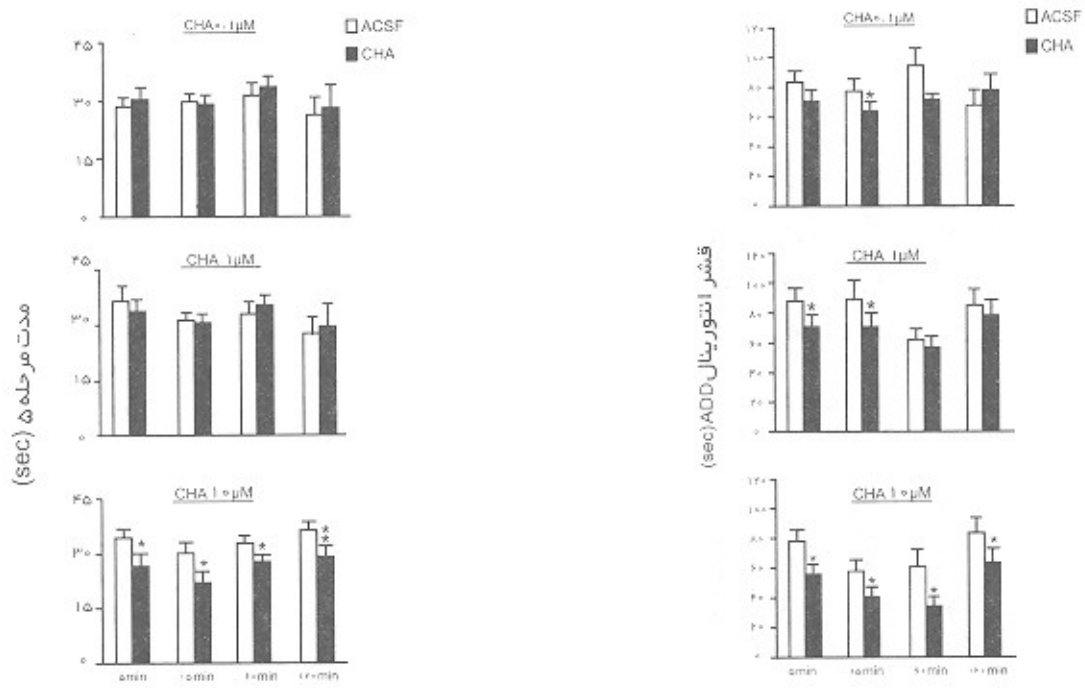
برای مقایسه تاثیر غلظتهای مختلف CHA و CPT در زمانهای پس از تزریق دارو بر کمیتهای تشنج از آزمون ANOVA دو طرفه (Completely randomized) و آزمون Tukey استفاده شد. جهت مقایسه هر یک از کمیتهای با کنترل مربوطه از آزمون t- زوجها استفاده گردید. همچنین برای مقایسه کمیتهای به دست آمده از گروهی که CHA دریافت کرده بودند با گروهی که CHA همراه با CPT دریافت کرده بودند، از آزمون t- غیر زوجها استفاده گردید.

یافته‌ها

تمامی حیواناتی که با تحریک آمیگدال کیندل شده بودند، قبل و بعد از تزریق ACSF مرحله ۵ تشنج را نشان دادند. CHA و CPT در دوزهای مورد استفاده اثر قابل توجهی بر رفتار و فعالیت حرکتی حیوان نداشتند. بررسیهای بافت شناسی نیز وجود الکترود در آمیگدال و کانول در قشر انتورینال را تأیید کرد.

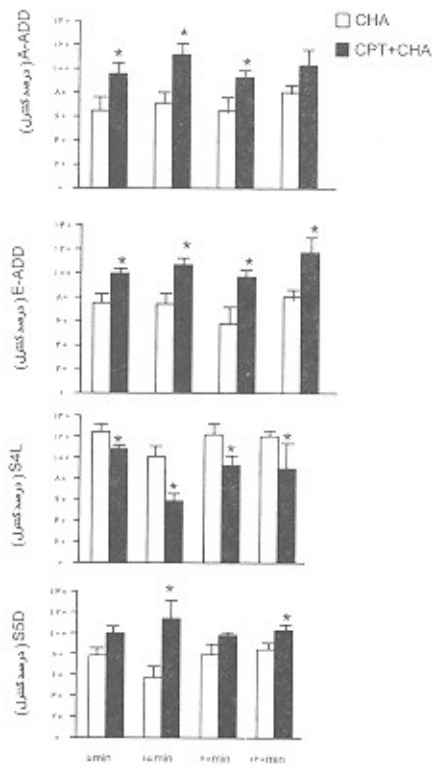
* اثر تزریق CHA یا CPT به داخل قشر انتورینال

در این آزمایش در اثر تزریق غلظت ۱۰ میکرومولار CHA، کاهش معنی داری در ADD ثبت شده از آمیگدال در زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه مشاهده شد (شکل ۱) و آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که این اثر وابسته به دوز بوده ($F(2, 66)=11.44, P=0.25$) اما وابسته به زمان ($F(3, 66)=1.27, P=0.28$) و با دوز × زمان ($F(6, 66)=1/32, P=0.25$) نیست.

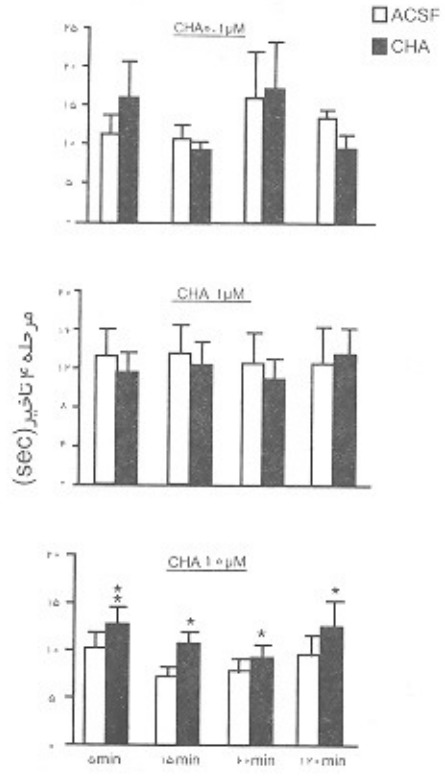


شکل ۲: اثر تزریق دو طرفه CHA (۱۰ و ۱۰۰ μM میکرومولار) به قشر انتورینال بر امواج تخلیه متعاقب ثبت شده از قشر انتورینال. حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب تائیه نشان داده شدهاند. * نشان دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) یا استفاده از آزمون t-زوجها می‌باشد.

شکل ۲: اثر تزریق دو طرفه CHA (۱۰ و ۱۰۰ μM میکرومولار) به قشر انتورینال بر امواج تخلیه متعاقب ثبت شده از قشر انتورینال. حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه پس از تزریق، تحریک و مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب تائیه نشان داده شدهاند. * نشان دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) یا آزمون t-زوجها است.



شکل ۵: کاهش اثرات CHA بر مدت زمان تخلیه متعاقب آمیکدال (A-ADD)، مدت زمان تخلیه متعاقب قشر انتورینال (E-ADD)، مدت زمان تاخیری بین شروع تحریک تا شروع مرحله ۳ تشنج (S4L) و مدت زمان مرحله ۵ تشنج (SSD) به دنبال تزریق CPT. ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA با غلظت ۱۰ میکرومولار، CPT با غلظت ۵ μm تزریق شد. حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب تائیه نشان داده شدهاند. * نشان دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با گروه CHA با آزمون t-زوجها می‌باشد.



شکل ۳: اثر تزریق دو طرفه CHA (۱۰ و ۱۰۰ μM میکرومولار) به قشر انتورینال بر S4L حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب تائیه نشان داده شدهاند. * نشان دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) یا استفاده از آزمون t-زوجها است.

۷۴

قشر انتورینال است. در این تحقیق با تزریق CHA به صورت دو طرفه قشر انتورینال، کاهش معنی داری در S5D، ADD و افزایش معنی داری در S4L مشاهده گردید. تغییرات متکثر همگی دلالت بر اثرات ضد تشنجی این دارو دارند و لذا به نظر می‌رسد که احتمالاً فعال شدن گیرنده‌های آدنوزینی A_1 در نورونهای این ناحیه از گسترش بیشتر امواج تشنجی جلوگیری می‌کند. بروز اثرات ضد تشنجی به هنگام تزریق CHA به قشر انتورینال در واقع به علت اثرات مهاري متعاقب و فعالیتهای گیرنده‌های آدنوزینی A_1 در نورونهای این ناحیه و وجود ارتباط آناتومیکی بین قشر انتورینال و آمیگدال است. این احتمال را می‌توان مطرح کرد که کاهش فعالیت نورونهای قشر انتورینال نیز باعث کاهش فعالیت نورونهای آمیگدال می‌گردد. کاهش مدت زمان امواج تخلیه متعاقب آمیگدال نشان می‌دهد که در شرایط معمول هنگام کیندلینگ آمیگدال نورونهای قشر انتورینال موجب تقویت فعالیت نورونهای آمیگدال می‌گردند و با مهار نورونهای قشر انتورینال به وسیله CHA، این اثر تقویتی از بین می‌رود. از طرف دیگر به دنبال تزریق CHA مدت زمان امواج تخلیه متعاقب قشر انتورینال نیز کم می‌شود. کاهش مدت میزان امواج تخلیه‌های متعاقب قشر انتورینال مهم‌ترین نشانه کاهش نورونهای قشر انتورینال فعالیت قشر انتورینال در این تحقیق است.

برای تبیین این موضوع که اثرات ضد تشنجی آدنوزین از طریق گیرنده‌های آدنوزینی A_1 انجام می‌شود، CPT، ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA در قشر انتورینال تزریق گردید، نتایج این آزمایش نشان داد که در این حالت اثرات ضد تشنجی CHA بروز نمی‌کند. حذف اثرات ضد تشنجی در این حالت نشان دهنده اشغال گیرنده‌های A_1 نورونهای این ناحیه توسط CPT است که قبل از CHA تزریق شده است. بنابراین نتیجه این مرحله از آزمایشها مؤید این موضوع است که CHA از طریق گیرنده‌های آدنوزینی A_1 اثرات خود را اعمال کرده است.

در رابطه با مکانیسم فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی روشن شده است که آدنوزین از طریق تاثیر بر این گیرنده، از آزاد شدن میانجی‌های عصبی تحریکی مانند گلوتامات، آسپاراتات (۲۹، ۳۶، ۳۷)، استیل کولین و نورآدرنالین (۳۷، ۳۸) جلوگیری می‌کند. این عمل از طریق کانالهای کلسیمی انجام می‌شود (۳۹). گیرنده A_1 عمدتاً از طریق مهار آدنیلات سیکلاز عمل می‌کند. مکانیسم دیگری که گیرنده A_1 از طریق آن عمل می‌کند، فعال کردن فسفولیپاز C است؛ این آنزیم، کلسیم درون سلولی را افزایش می‌دهد. یکی از نتایج افزایش کلسیم دورن سلولی، فعال شدن کانال پتاسیمی است. فعال شدن انواع مختلفی از کانالهای پتاسیمی توسط گیرنده A_1 در نورونها گزارش شده است. به عنوان مثال فعال شدن کانال پتاسیمی ATP منجر به کاهش دوره پتانسیل عمل می‌شود. گیرنده A_1 همچنین جریان کلسیمی را نیز کاهش می‌دهد که این یکی از دلایل مهار رهایش نوروترانسمیترها به دنبال فعال شدن این گیرنده‌ها است (۳۹). از آنجا که اسید اسپارتیک و نورآدرنالین از میانجی‌های عصبی تحریکی موجود در قشر انتورینال هستند، احتمال داده می‌شود که بخشی از اثرات ضد تشنجی که به دنبال تزریق CHA به قشر انتورینال مشاهده می‌شود ناشی از مهار رهایش نوروترانسمیترها باشد.

بر اساس آزمون ANOVA دو طرفه این اثر وابسته به دوز ($F(2, 66)=8.63, P<0.001$)، می‌باشد اما بسته به زمان ($F(3, 66)=0.81, P=0.49$) با وابسته به دوز \times زمان ($P=0.95$)، آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که CPT در هیچ یک از دوزهای در کمیتهای تشنجی تغییری ایجاد نکرد.

* اثر تزریق CHA همراه با CPT به قشر انتورینال

آزمون ۴- غیر زوجها نشان داد هنگامی که CPT ($5\mu M$) ۵ دقیقه قبل از CHA ($10\mu M$) به حیوانات تزریق شود، می‌تواند اثر کاهش CHA بر ADD و S5D و اثر افزایشی آن بر S4L را حذف نماید (شکل ۵).

بحث

نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که تزریق آگونیست اختصاصی گیرنده‌های آدنوزینی A_1 به قشر انتورینال دارای اثرات مهاري بر تشنجهای ناشی از کیندلینگ آمیگدال است.

آدنوزین یک تعدیل کننده عصبی است و به عنوان یک ماده ضد تشنجی درون زا شناخته شده است (۱۴، ۲۳، ۲۶، ۲۷، ۲۸). این ماده در مدل‌های آزمایشگاهی صرع، اثرات ضد تشنجی نشان داده است (۱۴). مشاهده شده است که تزریق آگونیستهای آدنوزین به صورت سیستمیک (۱۵، ۱۶، ۱۷) و یا به داخل بطن مغز (۱۸) موجب مهار تشنجهای ناشی از کیندلینگ و تزریق آنتاگونیستهای آن (۸، ۱۸، ۱۹، ۲۰) باعث تقویت و تسریع این تشنجهای می‌گردد. همچنین در شرایط *in vitro* نیز گزارش شده است که آنتاگونیستهای آدنوزین باعث مهار رهایش میانجی‌های تحریکی در نورونهای هیپوکامپ می‌شوند (۲۱، ۲۹، ۳۰، ۳۱). تمامی این شواهد حاکی از اثرات ضد تشنجی آدنوزین بوده اما هنوز دقیقاً مشخص نشده است که این اثرات در کدام ناحیه مغزی اعمال می‌شود و یا کدام نواحی بیشترین تاثیر را در بروز این اثرات دارند. مطالعاتی که در گذشته انجام شده است نشان می‌دهد که آدنوزین اثرات ضد تشنجی خود را از طریق گیرنده آدنوزینی A_1 اعمال می‌کند (۶، ۲۰، ۲۱). تاکنون نقش برخی از نواحی مغزی که دارای این گیرنده هستند بررسی شده است. در همین راستا، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تزریق آگونیست اختصاصی گیرنده A_1 (CHA) به قشر انتورینال که یکی از نواحی مهم در رابطه با گسترش امواج تشنجی (۳۲) از آمیگدال بوده و دارای گیرنده‌های آدنوزینی A_1 است (۱۲) و موجب بروز اثرات ضد تشنجی می‌گردد.

شواهد فراوانی وجود دارد که قشر انتورینال در صرع لوب گیجگاهی، دخالت دارد (۳۳، ۳۴، ۳۵). همچنین گزارش شده است که در برخی موارد جهت کنترل صرع لوب گیجگاهی بخش قدامی لوب گیجگاهی که شامل ساختمانهای مختلفی از جمله تشکیلات هیپوکامپ می‌باشد، برداشته می‌شود. با اینکه علت کنترل صرع را در این موارد به هیپوکامپ نسبت می‌دهند اما چون قشر انتورینال نیز در این جراحی برداشته می‌شود (۳۲) احتمال می‌رود که کنترل صرع تا حدی نیز به حذف قشر انتورینال مربوط شود (۳۲).

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان دهنده نقش تحریکی نورونهای

صورت که مهار نورونهای این ناحیه پس از تزریق CHA، از گسترش بیش از حد امواج تشنجی از آمیگدال جلوگیری کرده است. مرحله حمله (SS) در هیچ یک از غلظتهای به کار رفته CHA تغییری ایجاد نشد. از این رو می توان دو احتمال داد؛ اولاً در مرحله ای که تشنج عمومی شده است قسمتهای دیگری از مغز نقش دارند؛ یعنی قشر انتورینال به تنهایی در حفظ امواج تشنجی در نواحی حرکتی مغز موثر نمی باشد و علاوه بر قشر انتورینال قسمتهای دیگری از سیستم عصبی باید مهار شوند. ثانیاً، در مهار تشنج علاوه بر سیستم پورینرژیک، سیستمهای دیگر نیز نقش دارند.

در این تحقیق برای پی بردن به نقش آدنورین درون زا در قشر انتورینال، GPT به تنهایی و به صورت دو طرفه این ناحیه تزریق گردید، که در هیچ یک از غلظتهای به کار رفته (۱ و ۵ میکرومولار) تغییر معنی داری در کمیتهای تشنج مشاهده نشد. بسیاری از تحقیقات گذشته نیز نشان دهنده عدم تأثیر آنتاگونیستهای آدنوزین بر تشنج بوده اند (۱۵). بنابراین، نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می کند که نورونهای قشر انتورینال در گسترش امواج تشنجی ناشی از کیندلینگ آمیگدال نقش مهمی دارد و گیرنده های آدنوزینی A_1 تا حدی در این امر دخیل هستند. با توجه به اینکه شدت اثرات ضد تشنجی مشاهده شده در این تحقیق از شدت اثرات ضد تشنجی ناشی از تزریق داخل صفاتی آن (۱۵) کمتر است، لذا برای تشخیص بهتر نقش نواحی مختلف در ایجاد اثرات ضد تشنجی آدنوزینی به تحقیقات و بررسیهای بیشتری نیاز است.

در این مطالعه حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، ۶۰، ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق، حیوانات تحریک شدند و کمیتهای تشنجی اندازه گیری شدند. در تحقیقات گذشته نشان داده شده است حداکثر اثر تشنجی این دارو که ۱۵ دقیقه پس از تزریق داخل آمیگدالی CHA به وجود می آید (۴۰). بنابراین در این تحقیق زمان ۱۵ دقیقه انتخاب شد. به علاوه برای اینکه نشان داده شود که کاهش فعالیت عصبی در آمیگدال در نتیجه گسترش CHA از قشر انتورینال به آمیگدال نبوده است و اثرات ضد تشنجی دارو به علت فعالیت گیرنده های آدنوزینی A_1 نورونهای قشر انتورینال ایجاد شده است، حیوانات ۵ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. چون این مدت زمان برای انتشار دارو از یک ناحیه مغز مثل قشر انتورینال به ناحیه دیگر مغز (آمیگدال) کافی نیست (۳۱) و CHA ماده ای قطبی است (۴۱) و از سد خونی - مغزی به راحتی عبور نمی کند بنابراین اثرات ضد تشنجی آن طولانی مدت خواهد بود. همانطور که در این تحقیق مشخص شد، اثرات دارو حتی تا ۱۲۰ دقیقه باقی مانده است. کمیته S4L نشان دهنده زمان لازم برای عمومی شدن تشنج است، طولانی شدن این مرحله بعد از تزریق دارو نشان دهنده تأخیر در ایجاد تشنج عمومی است و این موضوع بر نقش احتمالی انتورینال در عمومی شدن تشنج ناشی از کیندلینگ آمیگدال دلالت دارد. اما جهت روشن شدن کامل این موضوع تحقیقات بیشتری باید انجام گیرد. کاهش مدت زمان مرحله ۵ حمله نیز نشان دهنده نقش نورونهای قشر انتورینال در گسترش امواج تشنجی از آمیگدال به نواحی حرکتی مغز می باشد. بدین

References

1. Sato M, Racine RJ, McIntyre DC: Kindling: basic mechanisms and clinical validity. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990; 76: 459-472
2. Chen S-J, Desai MA, Klann E, Winder DG, Sweatt JD, and Conn PJ: Amygdala kindling affects protein kinase C activity in dentate gyrus. *J Neurochem* 1992; 59: 1761-1769
3. Edwards HE, McIntyre DC, Mark M, Asa S, MacLusky NJ: Epilepsy limbic seizures alter reproductive function in the female rat. *Epilepsia* 1999; 40: 1370-1377
4. Gloor P: Role of the amygdala in temporal lobe epilepsy. In *The Amygdala: Neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction*, JP Aggleton (ed) New York, Willey Liss, 1992, pp 505- 538
5. Fisher RS: Animal models of epilepsies. *Brain Res Rev* 1989; 14: 245-278
6. Morys J, Berdel B, Jagalska MaJewska H, Luczynska A: The basolateral amygdaloid complex its development, morphology and functions. *Folia Morphol* 2000; 3: 29-46
7. Witter MP, Wouterlood FG, Naber PA, Haeflén TV: Anatomical organization of the parahippocampal-hippocampal network. *Ann. N Y Acad Sci* 2000; 11: 1-24
8. Du F, Schwarcz R, Tamminga CA: Entorhinal cortex in temporal lobe epilepsy. *Am J Psychiat* 1995; 152: 826-840
9. Du F, Whetsell WO Jr, Abou Khalil B, Blumenkopf B, Lothman EW, Schwarcz R: Preferential neuronal loss in layer III of the entorhinal cortex in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1993; 16: 223-233
10. Kälviäinen R, Salmenperä T, Partanen K, Vainio P, Riekkinen P, Pitkänen A: MRI volumetry and T2 relaxometry of the amygdala in newly diagnosed and chronic temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*, 1997; 28: 39-50
11. Pitkänen A, Tuunanen J, Kalviainen R, Partanen K, Salmenperä T: Amygdala damage in experimental and human epilepsy. *Epilepsy Res*, 1998; 328: 233-253
12. Ochiishi T, Takita M, Ikemoto M, Nakata H, Suzuki SS: Immunohistochemical analysis on the role of adenosine A_1 receptors in epilepsy. *Neuroreport* 1999; 10: 3535-3541
13. Insausti R, Amaral DG, Cowan WM: The entorhinal cortex of the monkey: III. Subcortical afferents. *J Comp*

Neurol 1987; 264: 396-408

14. Dunwiddie TV: Adenosine and suppression of seizures. In Jaspers basic mechanisms of the epilepsies, Delgado-Escueta AV, Wilson WA, Olsen RW, Porter RJ (eds). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1999, pp 1001-1010

15. Pourgholami MH, Mirnajafi-Zadeh J, Behzadi J: Effect of intraperitoneal and intrahippocampal (CA1) 2-chloroadenosine in amygdaloid kindled rats. Brain Res 1997; 751: 259-264

16. Ault B, Wang CM: Adenosine inhibits epileptiform activity arising in hippocampal area CA3. Br J Pharmacol 1986; 87: 695-793

17. Tanaka T, Kondon S, Hori T, Tanaka S, Yukichi Y: Various hippocampal lesions induced by multi-functional ibotonic acid injections and amygdala kindling in rats. Brain Res, 1991; 559: 154-158

18. Dunwiddie TV, Endogenously released adenosine regulates excitability in the in vitro hippocampus. Epilepsia 1980; 21: 541-548

19. Scharfman HE, Hyperexcitability of entorhinal cortex after application of aminooxyacetic acid (AOAA) to layer III of the rat medial entorhinal cortex invitro. J Neurophysiol 1996; 76: 2986-3001

VV

20. Holmes KH, Bilkey DK, Laverty R: The infusion of an NMDA antagonist into perirhinal cortex suppresses amygdala kindled seizures. Brain Res 1992; 587: 285-290

21. Mena A, Alonso A: Entorhinal cortex layer III neurons: Characterization and cholinergic excitation. Soc Neurosci Abstr 1994; 20: 1527-1540

22. Pourgholami MH, Rostampour M, Mirnajafi-Zadeh J, Palizvan MR: Intra-amygdala infusion of 2-chloroadenosine suppresses amygdala-kindled seizures. Brain Res 1997; 751: 259-264

23. Mirnajafi-Zadeh J, Pourgholami MH, Palizvan MR, Rostampour M, Fallahi M: Anticonvulsant action of 2-chloroadenosine injected focally into the perirhinal cortex in amygdaloid kindled rats. Epilepsy Res 1999; 37: 37-43

24. Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates. California, Academic Press, 1986

25. Racine RJ: Modification of seizure activity by electrical stimulation: 2. Motor seizure, Electroencephalogr clin Neurophysiol 1972; 32: 281-294

26. Albertson TE, Toy RM, Stark LG: Caffein modification of kindled amygdaloid seizures.

Pharmacol. Biochem Behav 1983; 19: 339-343

27. Albertson TE, Stark LG, Toy RM, Bowyer JF: Aminophylline and kindled seizures. Exp Neurol 1983; 81: 703-713

28. Bortolotto ZA, Mello LE, Turski L, Cavalheiro EA: Effect of 2- chloroadenosine on amygdaloid and hippocampal kindled seizures. Arch Int Pharmacodyn Ther 1985; 277: 313-320

29. Dragunow M, Goddard GV, Laverty R: Is adenosine an endogenous anticonvulsant? Epilepsia 1985; 26: 480-487

30. Traynelis SF, Dingledine R, McNamara JO, Butler L, Rigsbee L: Effect of kindling on potassium induced electrographic seizures in vitro. Neurosci lett 1989; 105: 326-332

31. Holmes KH, Bilkey DK, Laverty R: The infusion of an NMDA antagonist into perirhinal cortex suppresses amygdala-kindled seizures. Brain Res 1992; 587: 285-290

32. Fountain NB, Jonathan B, Edward HB, Lothman EW: Responses of deep entorhinal cortex are epileptiform in an electrogenic rat model of chronic temporal lobe epilepsy. J Neurophysiol 1998; 80: 230-240

33. Dickson CT, Mena AR, Alonso A: Electroresponsivness of medial entorhinal cortex layer III neurons in vitro. Neuroscience 1997; 81: 937-950

34. Deutch C, Spencer S, Robbins R, Cicchetti D, Spencer D: Interictal spikes and hippocampal somatostatine levels in temporal lobe epilepsy. Epilepsia 1991; 32: 174-178

35. Jones RSG, Heinemann UFH, Lambert JDC: The entorhinal cortex and generation of seizure activity: studies of normal synaptic transmission and epileptogenesis. In: Neurotransmitters in eplepsy, G Avanzini, Engel JJ, Fariello R, Heinemann U (eds). Amsterdam, Elsevier, 1992, pp 173-180

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

37. Deckert J, Jorjensen MB: Evidence for pre and postsynaptic localization of adenosine A₁ receptors in the CA1 region of rat hippocampus: a quantitative autoradiographic study. Brain Res 1988; 449: 161-164

38. Bengzon J, Kalen P, Lindvall O: Evidence for long term reduction of noradrenaline release after kindling in the rat hippocampus. Brain Res 1990; 535: 353-357

39. Noguchi J, Yamashita H: Adenosine inhibits voltage-dependent Ca²⁺ currents in rat dissociated



supraoptic neurones via A₁ receptors. J Physiol 2000; 526 Pt 2:313-26

40. Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Pourgholami MH: Interaperitoneal and intraamygdala N⁶-cyclohexyladenosine suppress hippocampal kindled seizures in

rats. Brain Res 2000; 858: 48-54

41. Klotz K-N: Adenosine receptors and their ligands. Naunyn Schmiedeberg ArchPharmacol 2000; 362: 382-391

