

تأثیر گیرنده های آدنوزینی A₁ نورونهای قشر پیریفورم بر تشنجهای ایجاد شده به روش کیندلینگ آمیگدال در موشهای صحرایی

محمدابراهیم رضوانی [☆]M.Sc.، سیدجواد میرنجفی زاده [♣]Ph.D.، یعقوب فتح الهی [☆]Ph.D.، محمدرضا پالیزوان ^{*}Ph.D.

نرگس حسین مردی [☆]M.Sc.، پرویز شهابی [☆]M.Sc.

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

^{*} دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

✉ آدرس مکاتبه: تهران صندوق پستی: ۱۱۱-۱۱۱۵، دانشگاه تربیت مدرس، گروه فیزیولوژی

پست الکترونیک: Email:mirnajaf@modarres.ac.ir

چکیده

دریافت مقاله: ۸۳/۹/۸، پذیرش مقاله: ۸۳/۱۱/۱۹

*** هدف:** بررسی نقش گیرنده های آدنوزینی قشر پیریفورم بر تشنجهای ناشی از کیندلینگ آمیگدال

*** مواد و روشها:** حیوانات با تحریک روزانه آمیگدال کیندل شدند. N⁶-سیکلوهاگزیل آدنوزین (CHA1)؛ ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار، به عنوان آگونیست اختصاصی گیرنده آدنوزینی A₁، و ۸-سیکلوپنتیل ۳، ۴-دی متیل گزانتین (CPT)؛ ۱۰ و ۲۰ میکرومولار، به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده آدنوزینی A₁ به قشر پیریفورم تزریق شدند. حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵ یا ۹۰ دقیقه پس از تزریق دارو تحریک و پارامترهای تشنجی اندازه گیری شدند.

*** یافته ها:** تزریق CHA به قشر پیریفورم با غلظتهای ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار، باعث کاهش معنی دار مدت زمان امواج تخلیه متعاقب آمیگدال و مدت زمان مرحله ۵ تشنج شد و زمان تاخیری بین تحریک تا شروع مرحله ۴ تشنج را افزایش داد. تزریق CPT (۱۰ میکرومولار) به قشر پیریفورم ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA (۱۰۰ میکرومولار) آثار ضد تشنجی CHA را از بین برد.

*** نتیجه گیری:** نتایج حاصله نشان می دهد که فعال سازی گیرنده های آدنوزینی A₁ قشر پیریفورم، اثر کاهشی بر شدت تشنجهای ناشی از کیندلینگ آمیگدال داشته و فعالیت صرعی آمیگدال و گسترش امواج تشنجی از آمیگدال به سایر نواحی مغز را تضعیف می کند.

کل واژگان: تشنج، آدنوزین، آمیگدال، پیریفورم، کیندلینگ

نشریه پزشکی باخته، سال ششم، زمستان ۸۳، شماره ۲۴، صفحات ۱۹۳-۱۸۸

مقدمه

نوروترانسمیترها و نورومودولاتورهایی که فعالیت قشر پیریفورم را تغییر می دهند بر شدت تشنجهای ناشی از کیندلینگ آمیگدال تأثیر می گذارند. در بین عوامل مهار کننده، نقش مهار آنتاگونیستهای NMDA (۹، ۱۰) مسددهای کانال سدیمی (۱۱) و نیز آگونیستهای GABA (۹، ۱۲) در قشر پیریفورم به اثبات رسیده است، که این نشان گر نقش اساسی این ناحیه در تنظیم تحریک پذیری آمیگدال و حساسیت آن به تشنج است. از طرفی، آدنوزین و آنالوگهای آن به عنوان یک سیستم نورومودولاتوری مهار در مغز عمل می کنند که آثار ضد تشنجی آنها از طریق فعالیت گیرنده های A₁ است. در مطالعات قبلی نشان داده اند که تزریق محیطی (۱۳)، داخل قشر انتورنیال (۱۴) و داخل هسیوکمپ (۱۵) آدنوزین، آثار ضد تشنجی در کیندلینگ آمیگدال دارد. در حالی که در مورد آثار ضد تشنجی آگونیستهای اختصاصی گیرنده های A₁ قشر پیریفورم بر تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال بررسی انجام نشده است. از این رو، با توجه به وجود ارتباطات قشر پیریفورم و آمیگدال (۸)، نقش تسهیلی آن در کیندلینگ آمیگدال (۱۶) و وجود گیرنده های A₁ آدنوزینی در این ناحیه (۱۷)، در این

قشر پیریفورم بخش وسیعی از لب بویایی در پستانداران است که در ایجاد و گسترش صرع لب گیجگاهی (شایع ترین نوع صرع در انسان) دخیل است (۱). بهترین مدل آزمایشگاهی برای این نوع صرع، کیندلینگ الکتریکی است. بررسی نقش قشر پیریفورم در کیندلینگ اهمیت کلینیکی دارد، زیرا این قشر از مهم ترین نواحی صرع زار در افراد مبتلا به صرع لب گیجگاهی است (۲). شواهد زیادی وجود دارد که در حین اولین تحریکات الکتریکی آمیگدال در سیستم لیمبیک، تخلیه های متعاقب قوی با کمترین تاخیر در قشر پیریفورم به وجود می آید (۳، ۴). همچنین تخریب دو طرفه قشر پیریفورم سرعت تعمیم تشنج در کیندلینگ آمیگدال را به تعویق می اندازد (۵). آمیگدال جایگاهی است که با تحریکات الکتریکی کم به سرعت کیندل، و موجب تشنجات موضعی پیچیده در حیوان می شود که الگوی خوبی برای مطالعه صرع لب گیجگاهی در انسان است (۶، ۷). با توجه به ارتباطات آناتومیک بین آمیگدال و قشر پیریفورم (۸) به نظر می رسد که فعالیت قشر پیریفورم می تواند بر تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال موثر باشد.

مطالعه نقش فعالیت گیرنده‌های A_1 آدنوزینی بر تشنجات ناشی از کیندلینگ آمیگدال بررسی شد.

مواد و روشها

جراحی و القای کیندلینگ در حیوانات

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley (خریداری شده از موسسه رازی کرج) در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و رامپون (به نسبت هشت به یک) بیهوش شده و بر اساس اطلس پاکسینوز (۱۸)، یک الکتروود سه قطبی در آمیگدال با مختصات ۲/۵ میلی متر به عقب و ۴/۸ میلی متر به سمت راست نسبت به برگما و ۷/۵ میلی متر پایین تر از سخت شامه و دو کانول در قشر پیریفورم با مختصات ۰/۲ میلی متر به عقب و ۴/۷ میلی متر به سمت راست و چپ نسبت به برگما و ۷/۶ میلی متر زیر سخت شامه قرار می گرفت و دو الکتروود تک قطبی نیز به سطح جمجمه وصل می شد. پس از پایان کارگذاری الکتروودها و کانولها، پینهای متصل به الکتروودها در داخل مادگی سوکت مخابراتی قرار داده شد و توسط سیمان دندانپزشکی بر روی سر حیوان محکم شد.

یک هفته پس از جراحی، حیوانات با شدت جریان آستانه روزانه یک بار تحریک شدند تا پنج بار مرحله ۵ تشنج را نشان دهند (۱۵). مراحل حمله تشنجی در مدل کیندلینگ عبارتند از: مرحله ۱: حرکات دهان و صورت، مرحله ۲: انقباض عضلات گردن، مرحله ۳: کلونوس در یکی از اندامهای جلویی، مرحله ۴: ایستادن روی دو پای عقبی همراه با کلونوس دو اندام جلویی و مرحله ۵: از دست رفتن تعادل و به زمین خوردن (۱۹). کمتهایی که در این تحقیق اندازه گیری شدند عبارتند از: مدت زمان تخلیه‌های متعاقب (ADD; afterdischarge duration) مدت زمان تاخیری بین تحریک الکتریکی و شروع مرحله ۴ تشنج (S₄L; Stage 4 latency)؛ مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S₅D; Stage 5 duration) و مرحله حمله تشنج (SS; Seizure stage). در تمام آزمایشها ضوابط مجاز اخلاقی کار با حیوانات رعایت شد.

تزریق دارو

در این تحقیق از N^6 -سیکلوهاگزیل آدنوزین (CHA , N^6 -cyclohexyladenosine) خریداری شده از شرکت Sigma) به عنوان آگونیست اختصاصی گیرنده A_1 و از A_1 -۸-سیکلو پنتیل ۳، ۱-دی متیل گزاننتین (CPT , 8-Cyclopentyl-1, 3-dimethylxanthine) خریداری شده از شرکت RBI) به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده A_1 استفاده شد.

برای تزریق، داروها در مایع مغزی-نخاعی مصنوعی (ACSF; Artificial cerebrospinal fluid) حل شده و سپس با سرعت ۰/۲۵ میکرولیتر در دقیقه و حجم ۰/۵ میکرولیتر تزریق گردیدند. در همه آزمایشها، ۲۴ ساعت قبل از تزریق دارو، به حیوانات ACSF تزریق و از داده‌های آن به عنوان کنترل استفاده شد.

تزریق CHA یا CPT به قشر پیریفورم

در این آزمایش، CHA با غلظتهای ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار و CPT با غلظت ۱۰ و ۲۰ میکرومولار (۱۴، ۱۵) به قشر پیریفورم حیوان کیندل تزریق شد. گروههای مختلف حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق تحریک و کمتهای تشنجی آنها اندازه گیری شدند.

تزریق CHA همراه با CPT به قشر پیریفورم

در این آزمایش، CPT با غلظت ۱۰ میکرومولار ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA با غلظت ۱۰۰ میکرومولار به داخل قشر پیریفورم حیوان کیندل تزریق شد و گروههای مختلف حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق تحریک و کمتهای تشنجی آنها اندازه گیری شدند.

تایید بافت شناسی

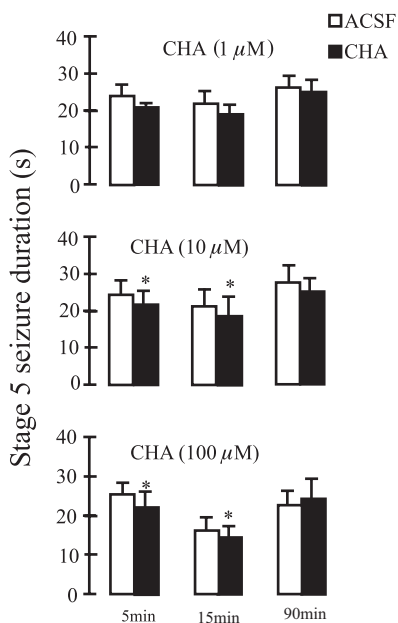
پس از پایان هر آزمایش جهت اطمینان از قرار داشتن الکتروود کانول در جایگاه صحیح، به محل کانول رنگ Blue Methylene (۰/۲۵ میکرولیتر در دقیقه، ۰/۵ میکرولیتر) تزریق و محل الکتروود نیز با جریان الکتریکی مستقیم با شدت ۱ میلی آمپر و مدت ۵ ثانیه تخریب شد. سپس مغز حیوانات خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. بعد از یک هفته از محل الکتروود و کانول برش گیری به عمل آمده تا محل الکتروود و کانول مشخص شود. در همه آزمایشها، فقط موشهایی که جایگاه الکتروود و کانول طبق مطالعه بافت شناسی درست بود، مورد ارزیابی نهایی قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل آماری

برای مقایسه تاثیر غلظتهای مختلف CHA و CPT در زمانهای پس از تزریق دارو بر کمتهای تشنج، از آزمون ANOVA دو طرفه و آزمون Tukey استفاده شد. برای مقایسه داده‌های هر گروه با کنترل، از آزمون t-test زوجها استفاده گردید. در آزمایش سوم برای مقایسه کمتهای به دست آمده از گروهی که CHA دریافت کرده بودند با گروهی که CHA همراه با CPT دریافت کرده بودند، از آزمون t-test غیر زوجها استفاده شد.

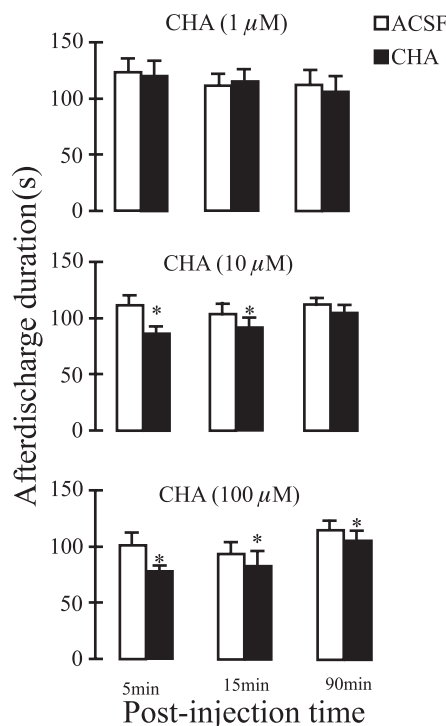
یافته‌ها

همه حیوانات پس از تزریق دارو یا ACSF مرحله ۵ تشنجی را نشان دادند و تزریق ACSF هیچ تغییری در رفتار حرکتی و فعالیت صرعی حیوان ایجاد نکرد.



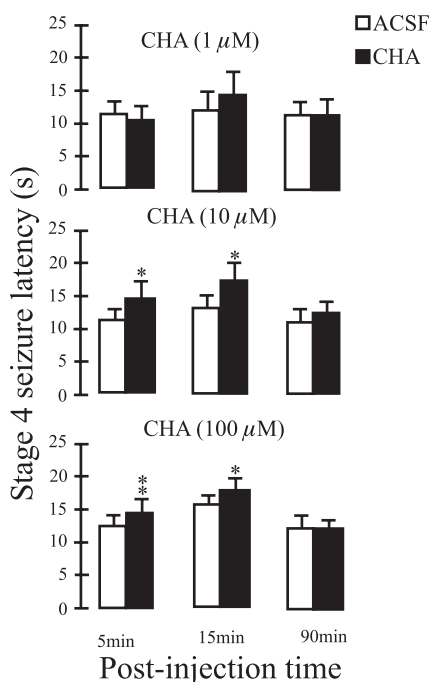
Post-injection time

شکل ۲: اثر تزریق دو طرفه CHA (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به قشر پیریفورم بر مدت زمان مرحله ۵ تشنج. حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، و ۹۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب ثانیه نشان داده شده اند. تعداد حیوانات در همه گروهها ۶ سر می باشد. * نشان دهنده $p < 0.05$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون t-test زوجها است.



Post-injection time

شکل ۳: اثر تزریق دو طرفه CHA (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به قشر پیریفورم بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب ثبت شده از آمیکدال. حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، و ۹۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب ثانیه نشان داده شده اند. تعداد حیوانات در همه گروهها ۶ سر است. * نشان دهنده $p < 0.05$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون t-test زوجها است.



Post-injection time

شکل ۴: اثر تزریق دو طرفه CHA (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به قشر پیریفورم بر مرحله تاخیری بین تحریک تا مرحله ۴ تشنج. حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵، و ۹۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب ثانیه نشان داده شده اند. تعداد حیوانات در همه گروهها ۶ سر می باشد. * نشان دهنده $p < 0.05$ و ** نشان دهنده $p < 0.01$ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون t-test زوجها است.

CHA با غلظت ۱۰۰ میکرومولار کمیت ADD را در زمان ۹۰ دقیقه پس از تزریق نیز به طور معنی دار کاهش داد (شکل ۱). آزمون ANOVA دو طرفه نشان داد که اثر CHA بر ADD وابسته به دوز ($F_{(2,54)} = 5.02$ و $p < 0.01$) و وابسته به زمان ($F_{(2,54)} = 1.47$ و $p < 0.05$) و اثر افزایش آن بر S₄L فقط وابسته به دوز ($F_{(2,54)} = 4.52$ و $p < 0.05$) است. در هیچ کدام از گروهها اثر دارو وابسته به غلظت × زمان نبود.

اثر تزریق CPT به داخل قشر پیریفورم

تزریق CPT با دوز ۲۰ میکرومولار در زمانهای ۵ و ۱۵ دقیقه پس از تزریق کمیتهای ADD و S₅D را به طور معنی دار افزایش داد و بر کمیت S₄L اثر معنی دار نداشت (جدول ۱). دوز ۱۰ میکرومولار CPT در زمانهای مختلف پس از تزریق، اثر معنی داری بر کمیتهای تشنجی نداشت.

اثر تزریق CHA همراه با CPT به داخل قشر پیریفورم

تزریق CPT با دوز ۱۰ میکرومولار ۵ دقیقه قبل از CHA با دوز ۱۰۰ میکرومولار، اثر کاهشی CHA بر کمیتهای تشنجی ADD و S₅D، و اثر افزایشی آن بر S₄L در زمانهای مختلف از بین برد (شکل ۴).

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد تزریق دو طرفه آگونست گیرنده‌های آدنوزینی A₁ در قشر پیریفورم باعث کاهش شدت تشنجهای ناشی از کیندلینگ آمیگدال می‌شود.

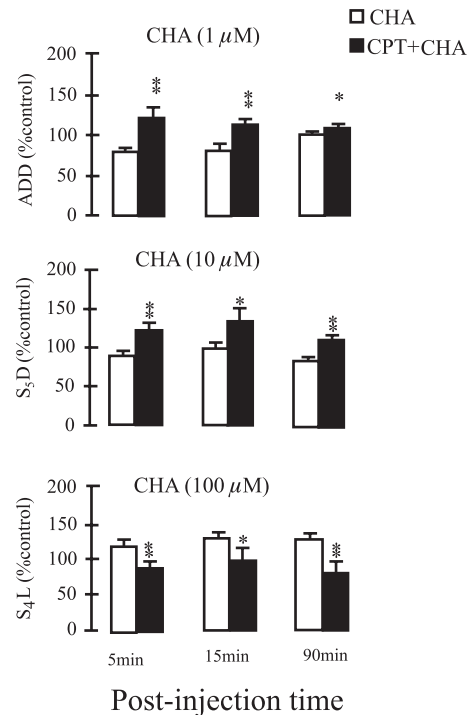
قشر پیریفورم تحریک پذیری فیزیولوژیک آمیگدال را تشدید می‌کند (۱۶) و نیز به واسطه ارتباطات آناتومیک گسترده‌ای که با دیگر نواحی مغز دارد (۸)، فعالیت صرعی را تشدید و سرعت انتشار اسپیکهای صرعی را به نیمکره مخالف مغز بیشتر و سرعت عمومی شدن صرع را تند می‌کند (۱، ۲۰).

مهم‌ترین نورومودولاتور قشر پیریفورم آدنوزین است. مطالعات متعددی نقش ضد تشنجی آدنوزین را گزارش کرده‌اند (۲۱، ۲۲). همچنین ۲-کلروآدنوزین که آنالوگ پایدار آدنوزین است در بعضی مدل‌های آزمایشگاهی صرع از جمله کیندلینگ، آثار ضد تشنجی داشته است (۲۳، ۲۴). تزریق ۲-کلروآدنوزین به شکل سیستمیک (۲۲)، داخل آمیگدالی (۲۵) و داخل قشر پری راینال (۲۶) آثار ضد صرعی دارد. همچنین تزریق آنتاگونیستهای A₁ آدنوزین باعث تقویت و تسریع حملات صرعی می‌شود (۲۷). در شرایط *in vitro* آنتاگونیستهای آدنوزین رهایش میانجی تحریکی (۲۸)، تعداد اسپیکهای صرعی شکل (۲۹) و انتقال سیناپسی برانگیخته شده در برشهای زنده هیپوکمپ (۳۰) را تضعیف می‌کند.

در تحقیقات قبلی این آزمایشگاه نیز به دنبال تزریق CHA به هیپوکمپ (۱۵) و قشر انتورینال (۱۴) آثار ضد تشنجی دیده شده است. همچنین در مطالعات دیگری نیز آثار ضد تشنجی آدنوزین و آنالوگهای آن (۱۳) و اثر مهار CHA بر حملات صرعی (۱۴، ۱۵) گزارش شده است. بنابراین، با توجه به اینکه قشر پیریفورم در تنظیم فیزیولوژیک تحریک‌پذیری آمیگدال نقش دارد (۱۶) به نظر می‌رسد افزایش فعالیت این ناحیه می‌تواند کیندلینگ آمیگدال را تسهیل و مهار فعالیت این ناحیه می‌تواند کیندلینگ آمیگدال را تضعیف کند.

در این مطالعه برای تایید اثر گیرنده‌های A₁ آدنوزین، نشان داده شده که تزریق CPT به داخل قشر پیریفورم، ADD آمیگدال را طولانی می‌کند و هر گاه CPT قبل از CHA تزریق شود آثار ضد صرعی CHA از بین می‌رود. این شواهد اختصاصی بودن اثر CHA را نشان می‌دهد که به واسطه گیرنده A₁ است.

اثر تزریق CHA به قشر پیریفورم بر ADD آمیگدال وابسته به دوز و زمان است. آثار الکتروفیزیولوژیک CHA با غلظتهای ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار به شکل کاهش در ADD آمیگدال دیده می‌شود. ADD



شکل ۴: حذف اثرات CHA بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب آمیگدال، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S₅D) و مدت زمان تاخیری بین شروع تحریک تا شروع مرحله ۴ تشنج (S₄L) به دنبال تزریق CPT. ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA (۱۰۰ میکرومولار)، CPT با غلظت ۱۰ میکرومولار تزریق شد. حیوانات در زمانهای ۵، ۱۵ و ۹۰ دقیقه بعد از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین و بر حسب ثانیه نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در همه گروهها ۶ سر می‌باشد. *نشان دهنده $P < 0.05$ و ** نشان دهنده $P < 0.01$ در مقایسه با گروه CHA با استفاده از آزمون t-test غیر زوجهاست.

جدول ۱: اثر تزریق CPT به قشر پیریفورم بر کمیتهای تشنجی ناشی از کیندلینگ آمیگدال

داروی تزریق شده		زمان تحریک پس از تزریق (دقیقه)	کمیت اندازه‌گیری شده
CPT (20 μM)	ACSF		
133 ± 10/9*	119/37 ± 14/12	5	ADD
126/3 ± 10/29*	115/3 ± 11/14	15	
111/7 ± 11/15	118/3 ± 12/1	90	
11/38 ± 1/8	11/8 ± 2/0.8	5	S ₄ L
12/3 ± 2/2	15/9 ± 1/66	15	
12/23 ± 2/16	11/69 ± 2/2	90	
31/2 ± 2/9*	23 ± 3/4	5	S ₅ D
28/5 ± 3/8*	22 ± 2/2	15	
24/5 ± 2/8	23/2 ± 3/2	90	

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شده‌اند. در هر گروه تعداد حیوانات ۶ سر می‌باشد. * نشان دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با ACSF (گروه کنترل) با استفاده از آزمون t- زوجهاست.

مربوط به درگیر شدن مدارهای ساقه مغز است که منجر به عمومی شدن تشنج می شود (۱، ۳۱). از طرفی تزریق CHA به داخل قشر پیریفورم S₅D را نیز کوتاه کرده است و این نشان می دهد که طول مدت حملات تونیک - کلونیک با فعال شدن گیرنده های A₁ آدنوزین در این قشر کاهش می یابد (۱، ۳۱).

به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که قشر پیریفورم، به عنوان یکی از ساختارهای مهم در گسترش امواج تشنجی از آمیگدال به سایر نقاط مغزی نقش داشته و فعال سازی گیرنده های A₁ آدنوزینی این ناحیه به وسیله CHA باعث کاهش شدت تشنج در موشهای کیندل می شود.

اگرچه در این مطالعه، نقش ضد صرعی گیرنده های A₁ آدنوزینی قشر پیریفورم در حملات صرعی ناشی از کیندلینگ آمیگدال در حین حمله صرعی و در موشهای کیندل نشان داده شده است، ولی در مورد نقش گیرنده های آدنوزین A₁ این ناحیه بر اسپایکهای پس از حمله صرعی و مدت زمان مرحله خاموشی پس از حمله صرعی در موشهای کیندل و نیز اثر CHA بر روند کیندلینگ آمیگدال نیاز به مطالعات بیشتری است.

نشان گر فعالیت مدارهای موضعی در ناحیه ثبت است که به خاصیت ذاتی نورونها و مدارهای آن ناحیه بستگی دارد (۱، ۳۱). از لحاظ زمانی اثر CHA از ۵ دقیقه پس از تزریق، یعنی زمانی کافی برای اعمال اثر، شروع و تا ۹۰ دقیقه ادامه می یابد. هنگامی که اثر CHA در ۵ دقیقه ارزیابی می شود آثار کاملاً موضعی آن دیده می شود، در حالی که غلظت آن در موضع بالاست و هنگامی که اثر CHA در ۹۰ دقیقه ارزیابی می شود، آثار موضعی و نیز انتشار آن به نواحی مجاور با هم مشاهده می شود در حالی که غلظت دارو به دلیل انتشار و تجزیه کاهش پیدا کرده است و در زمان ۱۵ دقیقه حالت بینابینی وجود دارد. اثر وابسته به زمان CHA نشان می دهد که این اثر کاملاً موضعی است و اثر آن پس از ۹۰ دقیقه در قشر پیریفورم از بین می رود. همه پارامترهای اندازه گیری شده ۲۴ ساعت پس از تزریق دارو به مقادیر کنترل بر می گردد.

در مطالعه حاضر، همچنین نشان دادیم که فعال شدن گیرنده های A₁ آدنوزین مرحله تاخیر در فاز ۴ را طولانی می کند. به عبارت دیگر CHA مرحله عمومی شدن تشنج را در کیندلینگ آمیگدال طولانی کرده است زیرا که S₄L شاخص سرعت تعمیم حملات تشنجی است و



References

1. Löscher W, Ebert U: The role of the piriform cortex in kindling. *Prog Neurobiol*, 1996; 50: 427-481
2. Kelly ME, Staines WA, McIntyre DC: Secondary generalization of hippocampal kindled seizures in rats: examining the role of the piriform cortex. *Brain Res*, 2002; 957: 152-161
3. Timofeeva OA, Peterson GM: Delayed development of spontaneous seizures and prolonged convulsive state in rats after massed stimulation of the anterior piriform cortex. *Brain Res*, 1997; 754: 227-238
4. Ebert U, Rundfeldt C, Loscher W: Development and pharmacological suppression of secondary afterdischarges in the hippocampus of amygdala-kindled rats. *Eur J Neurosci*, 1995; 7: 732-741
5. Schwabe K, Ebert U, Loscher W: Bilateral lesions of the central but not anterior or posterior parts of the piriform cortex retard amygdala kindling in rats. *Neuroscience*, 2000; 101: 513-521
6. Morys J, Berdel B, Jagalska-Majewska H, Luczynska A: The basolateral amygdaloid complex--its development, morphology and functions. *Folia Morphol*, 1999; 58: 29-46
7. Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK: A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol*, 1969; 25: 295-330
8. Schwabe K, Ebert U, Loscher W: The central piriform cortex: anatomical connections and anticonvulsant effect of GABA elevation in the kindling model, *Neuroscience*, 2004; 126: 727-741
9. Morimoto K, Dragunow M: Goddard GV: Deep prepiriform cortex kindling and its relation to amygdala kindling in the rats. *Expl Neurol*, 1986; 94: 637-648
10. Steven JR, Philips I, De Beaurepair R: Venyl GABA in endopiriform area suppresses kindled amygdala seizures. *Epilepsia*, 1988; 29: 404-411
11. McCown TJ, Breese GR: Seizure interactions between the inferior collicular cortex and the the deep prepiriform cortex. *Epilepsy Res*, 1991; 8: 21-28
12. Schwabe K, Ebert U, Loscher W: Bilateral microinjections of vigabatrin in the central piriform cortex retard amygdala kindling in rats. *Neuroscience*, 2004; 129: 425-429
13. Ansel DJ, Ortega EL, Kraus AC, Fisher RS: Focally injected adenosine prevents seizures in the rat.

Experimental Neurol, 2004; 190: 544-547

۱۴. محمدزاده محمد، میرنجفی زاده سید جواد، فتح الهی یعقوب، روضاتی سیدعلی: اثر تعدیل فعالیت گیرنده های آدنوزینی A1 نورونهای قشر اتورینال بر شدت تشنجهای ناشی از کیندلینگ آمیگدال در موشهای صحرایی. نشریه پزشکی یاخته، سال چهارم، تابستان ۸۱، شماره ۱۴، صفحات ۷۸-۷۱

15. Alasvand Zarasvand M, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Palizvan MR: Anticonvulsant effect of bilateral injection of N6-cyclohexyladenosine into the CA1 region of the hippocampus in amygdala-kindled rats. *Epilepsy Res.* 2001; 47: 141-149

16. Wahnschaffe U, Ebert U, Loscher W: The effects of lesions of the posterior piriform cortex on amygdala kindling in the rat. *Brain Res.* 1993; 615: 295-303

17. Daval JL, Werck MC: Autoradiographic changes in brain adenosine A1 receptors and their coupling to G protein following seizures in the developing rat. *Develop Brain Res.* 1991; 59: 237-247

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

19. Racine RJ: Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972; 32: 281-294

20. Loscher W, Ebert U: Basic mechanisms of seizure propagation: targets for rational drug design and rational polypharmacy. *Epilepsy Res Suppl.* 1996; 11: 17-43

21. De Sarro G, De Sarro A, Meldrum BS: Anticonvulsant action of 2-chloroadenosine injected focally into the inferior colliculus and substantia nigra. *Eur J Pharmacol.* 1991; 194: 145-152

22. Albertson TE, Joy RM, Stark LG: Caffeine modification of kindled amygdaloid seizures. *Pharmacol Biochem Behav.* 1983; 19: 339-343

23. Dragunow M, Goddard GV, Laverty R: Is adenosine

an endogenous anticonvulsant? *Epilepsia.* 1985; 26: 480-487

24. Franklin PH, Tripp ED, Zhang G, Gale K, Murray TF: Adenosine receptor activation blocks seizures induced by bicuculline methiodide in the rat prepiriform cortex. *Eur J Pharmacol.* 1988; 150: 207-209

25. Pourgholami MH, Rostampour M, Mirnajafi-Zadeh J, Palizvan MR: Intra-amygdala infusion of 2-chloroadenosine suppresses amygdala-kindled seizures. *Brain Res.* 1997; 775: 37-42

26. 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

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

28. Corradetti R, Lo Conte G, Moroni F, Passani MB, Pepeu G: Adenosine decreases aspartate and glutamate release from rat hippocampal slices. *Eur J Pharmacol.* 1984; 104: 19-26

29. Sagratella S, Frank C, Benedetti M, Scotti de Carolis A: Modulatory action of purinergic drugs on high potassium-induced epileptiform bursting in rat hippocampal slices. *Pharmacol Res Commun.* 1987; 19: 819-26

30. Wu LG, Saggau P: Adenosine inhibits evoked synaptic transmission primarily by reducing presynaptic calcium influx in area CA1 of hippocampus. *Neuron.* 1994; 12: 1139-1148

31. Burchfiel JL, Applegate CD: Stepwise progression of kindling: perspectives from the kindling antagonism model. *Neurosci Biobehav Rev.* 1989; 13: 289-299

