

تأثیر تزریق آگونیسست اختصاصی گیرنده‌های آدنوزینی A₁ به قشر انتورینال بر تشنج‌های ناشی از کیندلینگ الکتریکی قشر پیریفورم در موش صحرائی

نرگس حسین مردی* M.Sc.، سید جواد میرنجفی زاده** Ph.D.،
یعقوب فتح الهی* Ph.D.، پرویز شهبابی* M.Sc.، محمد ابراهیم رضوانی* Ph.D.،
سیمین نامور* M.Sc.، محمدرضا پالیزوان** Ph.D.

چکیده

هدف: بررسی نقش گیرنده‌های آدنوزینی A₁ قشر انتورینال بر تشنج‌های ناشی از کیندلینگ قشر پیریفورم.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، حیوانات با تحریک روزانه قشر پیریفورم کیندل شدند. سپس آگونیسست اختصاصی گیرنده آدنوزینی A₁، N⁶-سیکلو هگزیل آدنوزین (CHA)، با غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار و آنتاگونیسست اختصاصی این گیرنده، ۸-سیکلو پنتیل ۱، ۳-دی‌متیل‌گزانترین (CPT)، با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار به قشر انتورینال تزریق گردید. ۵ دقیقه پس از تزریق، حیوانات تحریک شده و کمیت‌های تشنجی اندازه‌گیری گردید. در یک گروه نیز CPT (با غلظت ۵۰ میکرومولار) ۵ دقیقه قبل از CHA (با غلظت ۱۰۰ میکرومولار) به حیوانات تزریق شد.

یافته‌ها: CHA با غلظت ۱۰۰ میکرومولار باعث کاهش معنی‌دار مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S₅D) و مدت زمان حمله تشنج (SD) گردید و زمان تأخیری بین تحریک تا شروع مرحله ۴ تشنج (S₄L) را افزایش داد. این دارو با غلظت ۱۰ میکرومولار تنها سبب کاهش معنی‌دار SD و افزایش S₄L شد. از طرفی، تزریق دو طرفه CPT، به قشر انتورینال با غلظت ۱۰۰ میکرومولار سبب افزایش معنی‌دار ADD، S₅D، SD و کاهش معنی‌دار S₄L گردید. پیش‌درمانی حیوانات با CPT قبل از تزریق CHA به‌طور معنی‌داری اثرات ضد تشنجی CHA را کاهش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصله پیشنهاد می‌کند که فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A₁ قشر انتورینال باعث کاهش شدت تشنج‌های ناشی از کیندلینگ قشر پیریفورم می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تشنج، کیندلینگ الکتریکی، قشر پیریفورم، قشر انتورینال، گیرنده‌های A₁ آدنوزینی

مقدمه

درمان قطعی برای آن پیدا نشده است. (۱-۳) مانند تحقیقات

خاص در هر پدیده‌ای، در مورد صرع نیز از مدل‌های مختلفی از جمله کیندلینگ الکتریکی استفاده می‌شود. در این مدل،

صرع یکی از شایع‌ترین اختلالات سیستم اعصاب مرکزی است که به دلیل عدم شناخت دقیق مکانیسم‌های مسئول، هنوز روش

دریافت مقاله: ۸۳/۸/۲۶، پذیرش مقاله: ۸۴/۲/۷

کجه نویسنده مسئول: استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران
*گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، *گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک
*گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

آدرس پست الکترونیکی: mirnajaf@modares.ac.ir

روش بررسی

جراحی و کیندل کردن حیوانات: در این تحقیق از موشهای صحرایی نر از نژاد Sprague-Dawley در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۰۰ گرم که از انستیتو رازی خریداری شدند، استفاده شد. برای بیهوش کردن حیوان از کتامین (۱۰۰ mg/kg) و گزیلوزین ۲٪ (رامپون) به صورت تزریق داخلی صفاقی استفاده شد. پس از بیهوش کردن، حیوان درون دستگاه استریوتاکسی قرار گرفت. براساس اطلس Paxinos و Watson (۲۱) مختصات محل کارگذاری الکتروود سه قطبی در قشر پیریفورم (۴ میلی متر به سمت راست، ۰/۲ میلی متر به جلو نسبت به برگما و ۷/۶ میلی متر پایین تر از سخت شامه) و مختصات محل کارگذاری کانول راهنما در قشر انتورینال (۶/۷ میلی متر به عقب، ۴/۷ میلی متر به سمت راست و چپ نسبت به برگما و ۶/۸ میلی متر زیر سخت شامه) مشخص گردید. دو الکتروود تک قطبی به عنوان الکتروودهای Earth و Differential، توسط پیچهای متصل به آنها بر روی مجموعه محکم شدند. دو پیچ دیگر نیز در دو نقطه دیگر از مجموعه بسته شد تا به مقاومت سیمان دندانپزشکی روی سطح مجموعه کمک کند. پس از پایان کارگذاری الکتروودها و کانولها، پینهای متصل به الکتروودها را وارد مادگی سوکت مخابراتی کرده و سوکت بوسیله سیمان دندانپزشکی روی سطح مجموعه متصل گردید. حداقل یک هفته بعد از جراحی، حیوانات با شدت جریان آستانه تحریک شدند. برای تحریک حیوان از موج مربعی تک فازی با فرکانس ۶۰ هرتز که مدت زمان هرفاز موج ۱ میلی ثانیه است استفاده شد که این تحریک هر بار به مدت ۲ ثانیه به حیوان اعمال گردید. برای به دست آوردن شدت آستانه، ابتدا حیوان توسط جریانی به شدت ۱۰ میکروآمپر تحریک گردید. در صورتیکه امواج تخلیه متعاقب (حداقل به مدت ۵ ثانیه) ثبت شدند، این شدت جریان به عنوان شدت جریان آستانه شناخته شد. در غیر این صورت، به تدریج شدت جریان هر بار ۱۰ میکروآمپر، با فواصل ۵ دقیقه‌ای افزایش داده می‌شد تا اینکه اولین تخلیه‌های متعاقب ثبت گردد. سپس حیوانات هر ۲۴ ساعت یک بار با همین شدت جریان

تحریکات الکتریکی ضعیف با فواصل زمانی مشخص به منطقه خاصی از مغز اعمال می‌شود و این تحریکات به مرور زمان سبب رفتار تشنجی کلینیکی در حیوان می‌گردند. (۴-۹) کیندلینگ به عنوان مدل مناسبی برای صرع موضعی پیچیده که شایع‌ترین نوع صرع در انسان می‌باشد، معرفی شده است (۴،۱۰). این نوع صرع غالباً از لوب گیجگاهی و به ویژه سیستم لیمبیک منشأ می‌گیرد.

در میان اجزای سیستم لیمبیک و ساختارهای مربوطه، قشر پیریفورم با کمترین تحریکات کیندل می‌شود و مدارک زیادی در زمینه نقش آن در تولید، گسترش و تداوم حملات تشنجی وجود دارد. (۱۰) به علت وجود ارتباط بین قشر پیریفورم و قشر انتورینال، احتمال داده می‌شود که سیستم‌های تعدیلی که قادر به تغییر فعالیت یاخته‌های قشر انتورینال هستند بتوانند بر شدت تشنجهای ناشی از کیندلینگ قشر پیریفورم موثر باشند. (۱۰-۱۲) یکی از این سیستم‌ها، سیستم پورینرژیک است که روی فعالیت نورونها اثرات تعدیلی اعمال می‌کند. این سیستم نقش مهمی در تولید و یا توقف حملات تشنجی بازی می‌کند. (۱،۱۲) آدنوزین به عنوان یکی از اجزای این سیستم، یک تعدیل کننده نورونی درون زاد است که دارای اثرات مهار روی عمل مغز می‌باشد. (۱۳،۱۴) در وضعیتهای پاتولوژیک نظیر ایسکمی مغزی، ضربات وارده به سر و تشنج، غلظت آدنوزین به سرعت افزایش می‌یابد. (۱۵،۱۶) به نظر می‌رسد که این افزایش غلظت آدنوزین در خاتمه دادن به تشنج، دپرسیون پس از حمله و محافظت مغز در برابر اسیدهای آمینه تحریکی آزاد شده در جریان تشنج نقش مهمی داشته باشد. (۱۴) حضور گیرنده A_1 که اثرات ضد تشنجی آدنوزین از طریق آن صورت می‌گیرد، در قشر انتورینال به اثبات رسیده است. (۱۰، ۱۴-۲۰) بنابراین، هدف از این تحقیق تعیین نقش و فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A_1 قشر انتورینال در گسترش حملات تشنجی ایجاد شده به روش کیندلینگ در قشر پیریفورم می‌باشد.

CaCl₂(1mM) · NaH₂PO₄(1.25mM) · KCl(3mM) · Glucose (10mM) · NaHCO₃(26mM) . به منظور استریل کردن، دارو از میکروفیلتر (۰/۲μM) ساخت شرکت Scheicher & Schuell و فیلتر شد. سرعت تزریق دارو با استفاده از دستگاه پمپ تزریق (ساخت شرکت Stoelting)، ۰/۵ میکرولیتر در دو دقیقه بود. در این تحقیق حیوانات ۵ دقیقه پس از تزریق تحریک شدند و کمیت‌های تشنجی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. این زمان کوتاه به منظور اطمینان از عدم انتشار دارو از قشر انتورینال به سایر نواحی مغز و ایجاد اثرات موضعی، انتخاب گردید.

تزریق CHA یا CPT به داخل قشر انتورینال . در این آزمایش CHA با غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار و CPT با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار به حیوانات کیندل شده تزریق شد و حیوانات ۵ دقیقه بعد از تزریق دارو تحریک شده و کمیت‌های تشنجی اندازه‌گیری گردید. یک روز قبل از تزریق دارو، به همان حیوانات به عنوان گروه کنترل مایع مغزی - نخاعی مصنوعی تزریق شد.

تزریق CPT به همراه CHA به داخل قشر انتورینال . در این آزمایش CPT (با غلظت ۵۰ میکرومولار) ۵ دقیقه قبل از CHA (با غلظت ۱۰۰ میکرومولار) به حیوانات تزریق شده و سپس حیوانات ۵ دقیقه بعد از تزریق CHA تحریک و کمیت‌های تشنجی اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این آزمایش با نتایج بدست آمده از تزریق CHA با غلظت ۱۰۰ میکرومولار مقایسه شدند.

تأیید بافت شناسی . پس از پایان هر آزمایش جهت اطمینان از قرار داشتن الکتروود و کانول در محل مورد نظر، مغز حیوانات خارج و در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. بعد از یک هفته از محل الکتروود و کانول برش‌گیری به عمل آمده تا محل الکتروود و کانول مشخص گردد. فقط داده‌های حاصل از حیواناتی که الکتروود و کانول آنها در موقعیت مناسب قرار داشت، مورد استفاده قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات . برای مقایسه تاثیر دوزهای مختلف CHA یا CPT بر کمیت‌های تشنجی از آزمون

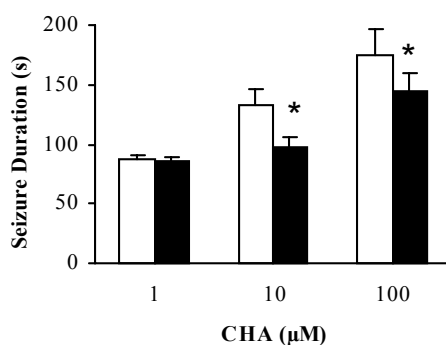
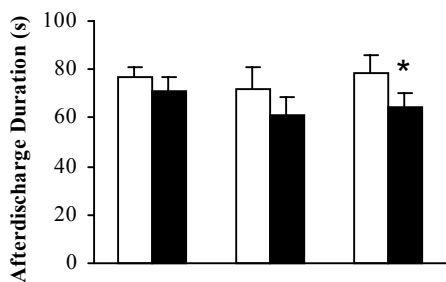
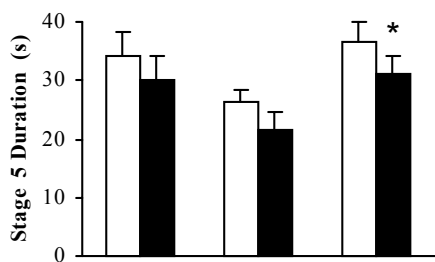
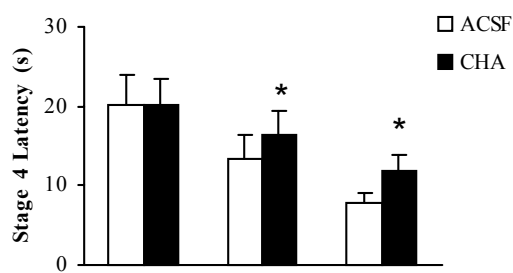
آستانه تحریک شدند تا مراحل مختلف تشنج را نشان داده و کیندل شوند و ۵ مرحله تشنج را نشان دهند. مراحل حمله تشنجی در مدل کیندلینگ عبارتند از: مرحله ۱- حرکات دهان و صورت، مرحله ۲- تکان دادن سر به طرف بالا و پایین، مرحله ۳- کلونوس یک اندام جلویی (که در سمت مخالف ناحیه تحریک شده می‌باشد)، مرحله ۴- ایستادن روی دو اندام عقبی، همراه با کلونوس دو اندام جلویی، مرحله ۵- ایستادن روی دو اندام عقبی، از دست دادن تعادل و به زمین خوردن.

پس از هر بار تحریک حیوان کمیت‌های تشنجی به شرح زیر ثبت و اندازه‌گیری شدند که این کمیت‌ها عبارتند از: مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (After discharge duration: ADD) ، مدت زمان تأخیری بین تحریک الکتریکی تا شروع مرحله ۴ تشنج (Stage 4 latency: S₄L) ، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (Stage 5 duration: S₅D) ، مدت زمان حمله تشنج (Seizure duration: SD) و مرحله حمله (Seizure stage: SS) . پس از اینکه حیوان ۵ بار مرحله ۵ تشنج را نشان داد و کمیت‌های تشنجی ثابت گردیدند، حیوان آماده تزریق دارو شد.

داروهای مورد استفاده: در این تحقیق از داروی، N⁶-سیکلو هگزایل آدنوزین (N⁶-Cyclohexyladenosin;CHA)، (خریداری شده از شرکت سیگما) به عنوان آگونیست اختصاصی گیرنده های A₁ آدنوزین و از داروی ۸-سیکلوپنتیل -۳،۱-دی متیل گوزانتین، (1,3-dimethyl-8 Cyclopentylxanthine; CPT) ، (خریداری شده از شرکت RBI) به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده های A₁ آدنوزین استفاده شد.

برای تزریق دارو به داخل قشر انتورینال، پس از توزین آن به مقدار لازم، در مایع مغزی- نخاعی مصنوعی (ACSF) حل گردید.

برای تهیه ACSF مواد تشکیل دهنده آن، برحسب غلظتشان، در حجم خاصی از آب مقطر حل شدند. این مواد عبارتند از : NaCl(114mM) · MgSO₄(2mM)



شکل ۱. اثر تزریق دو طرفه CHA (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به قشر انتورینال بر زمان تأخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S₄L)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S₅D)، زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD) و مدت زمان حمله تشنج (SD). حیوانات ۵ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و برحسب نائیه نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در تمام گروهها ۶ سر می‌باشد. * نشان دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون t -زوجها می‌باشد.

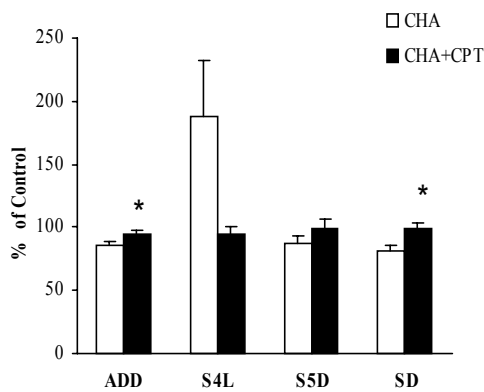
ANOVA یک طرفه و آزمون Tukey استفاده گردید. جهت نمایش اختلاف بین داده‌ها، هر یک از کمیت‌ها با کنترل مربوطه توسط آزمون t -زوجها مقایسه شدند. همچنین برای مقایسه کمیت‌های بدست آمده از گروهی که CHA دریافت کرده بودند با گروهی که CHA همراه با CPT دریافت کرده بودند، از آزمون t -غیر زوجها استفاده گردید.

نتایج

نتایج تزریق CHA به داخل قشر انتورینال. در این آزمایش تزریق ACSF هیچگونه تغییری در کمیت‌های تشنجی ایجاد نکرد. تزریق CHA با غلظت ۱ میکرومولار نیز تأثیر معنی‌داری بر کمیت‌های تشنجی نداشت (شکل ۱).

۵ دقیقه پس از تزریق CHA با غلظت های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار کمیت S₄L افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۱). کمیت ADD و S₅D پس از تزریق CHA با غلظت ۱۰ میکرومولار تغییر معنی‌داری نشان ندادند. در حالیکه این کمیت‌ها پس از تزریق غلظت ۱۰۰ میکرومولار CHA به طور معنی‌داری کاهش یافتند. کمیت SD پس از تزریق CHA با غلظت های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار CHA کاهش معنی‌داری را نشان داد. آزمون ANOVA یک طرفه نشان داد که فقط اثر CHA بر SD وابسته به دوز [$F(2,22)=7/19, P < 0/004$] می‌باشد (شکل ۱).

نتایج تزریق CPT به داخل قشر انتورینال. تزریق CPT با غلظت ۵۰ میکرومولار تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از کمیت‌ها نداشت. در حالی که تزریق CPT با غلظت ۱۰۰ میکرومولار سبب کاهش معنی‌داری در S₄L و افزایش معنی‌داری در ADD، S₅D و SD شد (شکل ۲). نتایج تزریق CPT به همراه CHA به داخل قشر انتورینال. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که CPT می‌تواند اثرات کاهشی CHA بر SD و ADD در زمان ۵ دقیقه پس از تحریک را حذف نماید. اگر چه پیش‌درمانی حیوانات با CPT قبل از CHA در مورد کمیت S₄L و S₅D اختلاف معنی‌داری با نتایج تزریق



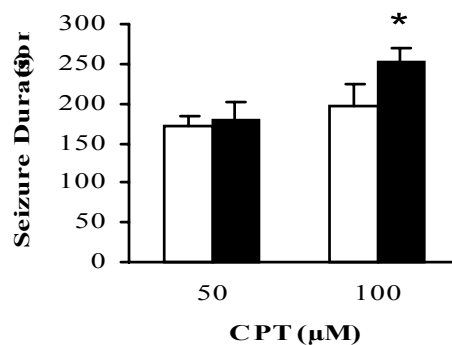
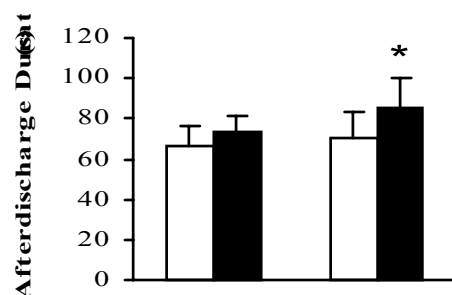
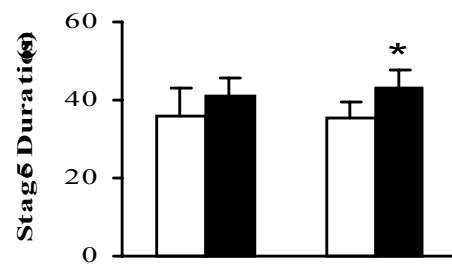
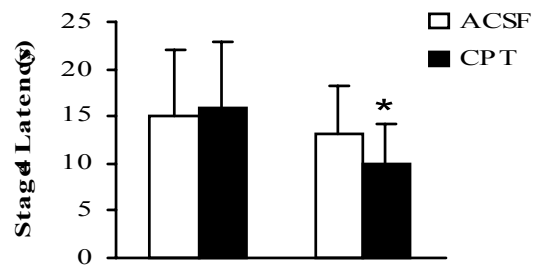
شکل ۳. اثر تزریق دو طرفه CPT (۵۰ میکرومولار)، ۵ دقیقه قبل از CHA (۱۰۰ میکرومولار) به قشر انتورینال بر زمان تاخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S₄L)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S₅D)، زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD) و مدت زمان حمله تشنج (SD). حیوانات ۵ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار و بر حسب درصد کنترل نشان داده شده اند. تعداد حیوانات در تمام گروهها ۶ سر می باشد. * نشان دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با گروه CHA با استفاده از آزمون t -غیر زوجها می باشد.

CHA به تنهایی نداشت اما آزمون t -زوجها نشان داد که تزریق CPT به همراه CHA توانست همه کمیت ها را در حد کنترل ۱۰۰٪ نگه دارد و بین داده‌های حاصل از تزریق CPT به همراه CHA با کنترل مربوطه تفاوت معنی داری وجود ندارد (شکل ۳).

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که قشر انتورینال در گسترش امواج تشنجی ناشی از کیندلینگ قشر پیرفورم نقش دارد و گیرنده‌های A₁ آدنوزین می‌توانند تا حدودی بر این نقش مؤثر باشند. تزریق CHA، آگونیست اختصاصی گیرنده A₁ آدنوزین، به قشر انتورینال سبب بروز اثرات ضد تشنجی گردید؛ در حالی که تزریق CPT، آنتاگونیست اختصاصی این گیرنده، از بروز اثرات ضد تشنجی CHA جلوگیری کرد.

مطالعات *in vivo* و *in vitro* نشان داده است که آدنوزین دارای اثر ضد تشنجی بارزی در مغز بوده و به صورت اندوژن نیز اثر ضد تشنجی تونیک اعمال می‌کند. (۱۴) تزریق سیستمیک



شکل ۲. اثر تزریق دو طرفه CPT (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به قشر انتورینال بر زمان تاخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S₄L)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S₅D)، زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD)، مدت زمان حمله تشنج (SD). حیوانات ۵ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار و بر حسب ثانیه نشان داده شده اند. تعداد حیوانات در تمام گروهها ۶ سر می باشد. * نشان دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون t -زوجها می باشد.

و یا داخل مغزی آگونیستهای آدنوزین در مدل‌های آزمایشگاهی صرع از جمله کیندلینگ، اثر ضد تشنجی آن را تأیید کرده است، اما به درستی معلوم نشده که این اثر ناشی از دپرسیون عمومی تحریک‌پذیری مغز است و یا از طریق عمل روی محل‌های ویژه‌ای که جهت تولید تخلیه‌های متعاقب و یا گسترش تشنج مهم هستند ایجاد می‌شود. بنابراین با به‌کاربردن آدنوزین به صورت *in situ* می‌توان نقش قسمت‌های مختلف مغز در اعمال ضد تشنجی آنالوگهای آدنوزین را تعیین کرد. (۱۳، ۱۴، ۱۶، ۲۲-۲۵)

مطالعات نشان داده است که آدنوزین اثرات ضد تشنجی خود را از طریق گیرنده‌های آدنوزینی A_1 اعمال می‌کند. با توجه به اینکه نقش تزریق آگونیستهای اختصاصی این گیرنده به داخل پریتوئن و همچنین به نواحی از مغز که دارای این گیرنده می‌باشند نظیر هیپوکمپ، قشر پری راینال و آمیگدال در مهار تشنج به اثبات رسیده است. (۲۳-۲۵) اما نقش آگونیست گیرنده‌های آدنوزینی A_1 به طور موضعی در قشر انتورینال بررسی نشده، در این تحقیق به بررسی نقش این گیرنده‌ها در این قسمت از مغز پرداخته شده است.

مدارک زیادی دال بر نقش قشر پیریفورم در تولید و تقویت و گسترش امواج تشنجی در مغز وجود دارد و از آنجایی که ارتباطات مستقیم آناتومیکی بین قشر پیریفورم و قشر انتورینال به اثبات رسیده است یکی از مسیرهایی که فعالیت تشنجی لیمبیک می‌تواند از طریق آن گسترش یابد مسیر قشر پیریفورم- قشر انتورینال است. بنابراین، با تغییر فعالیت نورونهای قشر انتورینال می‌توان بر فعالیت تشنجی ناشی از تحریک قشر پیریفورم تأثیر گذاشت. (۱۰، ۲۶-۲۸) شواهد فراوانی وجود دارد که قشر انتورینال در صرع لوب گیجگاهی دخالت دارد. (۲۹، ۳۰، ۳۱) نتایج حاصل از این تحقیق نیز تأیید کننده نقش قشر انتورینال در گسترش امواج تشنجی ناشی از کیندلینگ قشر پیریفورم بود. چرا که تزریق دو طرفه CHA به قشر انتورینال باعث ایجاد اثرات ضد تشنجی گردید. بنابراین می‌توان پیشنهاد کرد که احتمالاً فعال شدن گیرنده‌های آدنوزینی A_1 در این ناحیه، که باعث کاهش فعالیت نورونها

می‌گردد، از گسترش بیشتر امواج تشنجی جلوگیری می‌کند. کاهش ADD ثبت شده از قشر پیریفورم حاکی از کاهش فعالیت نورونها در قشر پیریفورم می‌باشد. این نتیجه نشان می‌دهد که هنگام کیندل کردن در قشر پیریفورم، قشر انتورینال به عنوان جایگاهی جهت تقویت امواج تشنجی برانگیخته شده در قشر پیریفورم و گسترش این امواج به سایر مناطق عمل می‌کند و با مهار نورونهای قشر انتورینال توسط CHA این نقش از بین می‌رود. همچنین تزریق CHA سبب طولانی شدن S_4L گردید و از آنجاییکه این کمیت نشان دهنده زمان لازم برای عمومی شدن تشنج است و طولانی شدن آن حاکی از تأخیر در ایجاد تشنج عمومی است این موضوع دلیلی بر نقش قشر انتورینال در عمومی شدن تشنج ناشی از کیندلینگ قشر پیریفورم ارائه می‌دهد.

کاهش مدت زمان مرحله ۵ حمله و مدت زمان حمله تشنجی به دنبال تزریق دارو نشان دهنده نقش احتمالی قشر انتورینال در گسترش امواج تشنجی به نواحی حرکتی مغز می‌باشد. به طوری که با مهار نورونهای قشر انتورینال از گسترش بیش از حد امواج تشنجی از قشر پیریفورم جلوگیری شده است. با این حال با توجه به اینکه هیچ یک از غلظت‌های CHA سبب تغییر در مرحله حمله (SS) نشد، می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه قشر انتورینال در گسترش امواج تشنجی نقش دارد اما نقش سایر مناطق در گسترش و تداوم امواج تشنجی را نباید فراموش کرد. همچنین علاوه بر آدنوزین سایر سیستم‌های تعدیل کننده عصبی در مهار تشنج‌های ناشی از کیندلینگ قشر پیریفورم نقش دارد.

به منظور تأیید نقش آدنوزین درون‌زا در قشر انتورینال، CPT به تنهایی و به صورت دوطرفه در این ناحیه تزریق شد. تزریق این دارو با غلظت ۱۰۰ میکرومولار، سبب تقویت کمیت‌های تشنجی گردید. از آنجایی که غلظت آدنوزین در نواحی مغزی در هنگام تشنج افزایش می‌یابد، می‌توان از آن به عنوان یک ماده ضد تشنج درون‌زا یاد کرد و تقویت کمیت‌های تشنجی به دنبال تزریق CPT دال بر این مدعی است (۱۳، ۱۴). چرا که نشان می‌دهد CPT از تأثیر آدنوزین

- seizures in rats. *Brain Res* 2000; 858: 48-54.
6. McNamara JO, Byrne MC, Dasheiff RM, and Fitz JG. The kindling model of epilepsy. *Prog Neurobiol* 1980; 15: 139-159.
 7. Pinel JPJ, Van Oot PH. Generality of kindling phenomenon: some clinical implications. *J Neurol Sci* 1975; 2: 467-475.
 8. Racine RJ. Modification of Seizure activity of electrical stimulation. *Electroen Clin Neuro* 1972; 32: 281-294.
 9. McNamara JO. Analyses of the molecular basis of kindling development. *Psychiat Clin Neuros* 1995; 49: 175-178.
 10. Loscher W, Ebert U. The role of the piriform cortex in kindling. *Prog Neurobiol* 1996; 50: 247-281.
 11. Homam BN, Kennedy TE, Alonso A, Amaral DG. Morphological and electrophysiological characteristics of layer V neurons of the rat medial entorhinal cortex. *J Comp Neurol* 2000 ; 418: 457-472.
 12. Tancredi V, Dantuono M, Nehlig A, Avoli M. Modulation of epileptiform activity by adenosine A₁ receptor mediated mechanisms in the juvenile rat hippocampus. *Pharmacol Exp Ther* 1998; 286: 1412-19.
 13. Dragunow M. Purinergic mechanisms in epilepsy. *Prog Neurobiol* 1988 ; 31: 85-108.
 14. Dunwiddie TV. Adenosine and suppression seizures. *Adv Neurol* 1999; 79: 1001-10.
 15. Von Lubitz DKJE. Adenosine and cerebral ischemia: therapeutic future or death of a brave concept? *Eur J pharmacol* 1999; 371: 85-102.
 16. Simonato M, Varani K, Muzzolini A, Bianchi C, Beani L, Borea AP. Adenosine A₁ receptors in the rat brain in the kindling model of epilepsy. *Eur J pharmacol*

اندوژن برگیرنده‌های A₁ جلوگیری کرده است، در نتیجه سبب حذف اثر مهاری آدنوزین اندوژن و گسترش امواج تشنجی شده است.

برای تأیید این موضوع که اثرات ضد تشنجی CHA از طریق فعال کردن گیرنده‌های A₁ آدنوزین به وقوع می‌پیوندد CPT به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های A₁، ۵ دقیقه قبل از تزریق CHA در قشر انتورینال تزریق گردید و نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان داد که با تزریق CPT قبل از اثرات ضد تشنجی CHA بروز نمی‌کند. این مسأله حاکی از اشغال گیرنده‌های A₁ توسط CPT است که مانع بروز اثرات ضد تشنجی CHA می‌گردد و نشان می‌دهد که CHA از طریق گیرنده‌های آدنوزینی A₁ عمل می‌کند.

نتیجه‌گیری: بنابراین نتایج حاصل از این تحقیق مؤید اثرات ضد تشنجی فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A₁ قشر انتورینال بر تشنج‌های برانگیخته شده به روش کیندلینگ در قشر پیریفورم موش صحرایی می‌باشد.

References

1. Ure JA, Perassolo M. Update on the pathophysiology of the epilepsies. *J Neurol Sci* 2000; 177: 1-17.
2. Gary L. Seizures and epilepsy. In: *Principles of Neurosciences*, edited by ER Kandel, JH Schwartz, TM Jessel. New York, McGraw-Hill 2000, PP. 910-35.
3. Bate L, and Gardiner M. Molecular genetics of human epilepsies. *Expert Rev Mol Med* 2000; 20: 1-22.
4. Kelly ME. The kindling model of temporal lobe epilepsy. In: *Neuropharmacology Methods in epilepsy research*, edited by SL Peterson, TE Albertson. Florida, CRC Press 1998, PP. 41-74.
5. Abel MS, Mc Candless DW. The kindling model of epilepsy. In: *Neuromethods: Animal models of*

- 1997; 265: 121-4.
17. Ochiishi T, Takita M, Ikernoto M, Nakata H, Suzuki SS. Immunohistochemical analysis on the role of adenosine A₁ receptors in epilepsy. *Neuroreport* 1999; 10: 3535-41.
18. Ribeiro JA, Sebastiao AM, Mendonca A. Adenosine receptors in the nervous system: Pathophysiological implicatoin. *Prog Neurobiol* 2003; 63 : 377-92.
19. Poulsen SA, Quinn RJ. Adenosine receptors: New opportunities for future drugs. *Bioorgan Med Chem* 1998; 6: 619-641.
20. Plamer TM, Stiles GL. Neurotransmitter receptors VII. Adenosine receptors. *Neuropharmacol* 1995; 34: 683-94.
21. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxis coordinates. California, Academic Press 1986.
22. Alasvand Zarasvand M, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Palizvan MR. Anticonvulsant effect of bilateral injection of N⁶-cyclohexyladenosine into CA₁ region of the hippocampus in amygdala-kindled rats. *Epilepsy Res* 2001; 47: 141-49.
23. 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.
24. Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Pourgholami MH. Intraperitoneal and intraamygdala N⁶-cyclohexyladenosine suppress hippocampal kindled seizures in rats. *Brain Res* 2000; 858: 48-54.
25. Mirnajafi-Zadeh J, Pourgholami MH, Palizvan MR, Rostampour, Fallahi M. Anticonvulsant action of 2-chloroadenosine injected focally into the perirhinal cortex in amygdaloid kindled rats. *Epilepsy Res* 2000; 37: 37-43.
26. Krettek JE, Price JL. Projections from the amygdaloid complex and adjacent olfactory structures to the entorhinal cortex and to the subiculum in the rat and cat. *J Comp Neurol* 1977; 172: 687-722.
27. Lothman EW, Bertram EH, Stringer JL. Functional anatomy of hippocampal seizures. *Prog Neurobiol* 1991; 37: 1-82.
28. Haberly LB, Price JL. Association and commissural fiber systems of the olfactory cortex of the rat, systems originating in the piriform cortex and adjacent areas *J Comp Neurol* 1978; 178: 711-40.
29. Spencer SS, Spencer DD. Entorhinal-hippocampal interactions in medial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 1994; 35: 721-7.
30. Dickson CT, Mena AR, Alonso A. Electroresponsivness of medial entorhinal cortex layer III neurons in vitro. *Neuroscience* 1997; 81: 937-50.
31. Jones RSG, Heinemann UFH, Lambert JDC. The entorhinal cortex and generation of seizure activity: studies of normal synaptic transmission and epileptogenesis. In: *Neurotransmitters in epilepsy*. Edited by G Avanzini, JJ Engel, R Fariello, UFH Heinemann. Amsterdam: Elsevier 1992, PP. 173-80.