

نقش گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} ناحیه CA۱ هیپوکمپ بر تشنج‌های ایجاد شده به روش کیندلینگ الکتریکی در قشر پیرفورم موش صحرایی

مریم زراعتی** M.Sc.، سید جواد میرنجفی زاده* Ph.D.، یعقوب فتح الهی** Ph.D.
محمد ابراهیم رضوانی** M.Sc.، نرگس حسین مردی** M.Sc.

چکیده

هدف: بررسی تأثیر فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} نورونهای ناحیه CA۱ هیپوکمپ بر تشنج‌های ناشی از کیندلینگ قشر پیرفورم است.

روش بررسی: پس از کیندل شدن حیوانات توسط تحریکات الکتریکی، GS۲۱۶۸۰ hydrochloride، (CGS)، آگونست اختصاصی گیرنده A_{2A} با غلظت‌های ۱۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار و ZM۲۴۱۳۸۵ (ZM)، آنتاگونست گیرنده A_{2A} ، با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار به ناحیه CA۱ هیپوکمپ تزریق گردیدند. حیوانات ۱۵ دقیقه پس از تزریق تحریک شدند. به تمامی حیوانات ۲۴ ساعت قبل از تزریق دارو، مایع مغزی نخاعی مصنوعی تزریق و از داده‌های حاصل به عنوان گروه کنترل استفاده گردید. تعداد نمونه در هر گروه حداقل ۶ سر بود.

یافته‌ها: تزریق CGS با غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار به ناحیه CA۱ هیپوکمپ باعث افزایش معنی‌داری در مدت زمان امواج تخلیه متعاقب شد، اما بر مدت زمان مرحله ۵ تشنج، مدت زمان کل تشنج و مدت زمان تأخیری بین تحریک تا شروع مرحله ۴ تشنج تأثیر معنی‌داری نداشت. تزریق ZM به ناحیه CA۱ تأثیر معنی‌داری بر کمیت‌های تشنجی نداشت. تزریق ZM قبل از CGS توانست از اثر CGS بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب جلوگیری کند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصله این احتمال را مطرح می‌کند که فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در ناحیه CA۱ هیپوکمپ نقش تسهیلی در تشنج‌های ناشی از کیندلینگ قشر پیرفورم دارد.

واژه‌های کلیدی: تشنج، قشر پیرفورم، هیپوکمپ، گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} ، موش صحرایی

مقدمه

شناخت مکانیسم‌های ایجاد صرع از دیرباز یکی از موضوعات مورد تحقیق بشر بوده است و علی‌رغم تحقیقات گسترده در

صرع بعد از سکت‌های مغزی شایعترین اختلال عصبی است. (۱)

این زمینه هنوز مکانیسم اصلی ایجاد این اختلال ناشناخته است. امروزه تحقیقات با استفاده از مدل‌های مختلفی انجام می‌شود که یکی از این مدل‌ها کیندلینگ می‌باشد. کیندلینگ یکی از مهمترین مدل‌ها برای ایجاد تشنج به صورت مزمن می‌باشد. (۲) در این مدل حیوانات مورد آزمایش به صورت مکرر و با فواصل زمانی مشخص توسط محرک ضعیفی که در ابتدا قادر به تشنج نیست، تحریک می‌شوند و به مرور زمان همان تحریک ضعیف باعث بروز رفتار تشنجی شدیدتر شده و در نهایت به تشنج عمومی منجر می‌شود. تشنج‌های ایجاد شده به روش کیندلینگ مشابه رایجترین نوع تشنج یعنی تشنج‌های پیچیده موضعی است. (۳)

قشر پیریفورم به دلیل خصوصیات ذاتی نورونهای آن و نیز داشتن مدارهای نورونی ویژه، نقش مهمی در گسترش صرع دارد. (۵،۴). این قشر دارای ارتباطات زیادی با نواحی مختلف سیستم لیمبیک، نواحی حسی و حرکتی بوده و به نظر می‌رسد نقش مؤثری در تولید و گسترش حملات تشنجی داشته باشد. قشر پیریفورم به دلیل ارتباطات زیاد با سایر نواحی مغزی به عنوان یک جایگاه محوری شناخته می‌شود زیرا ورودی‌های زیادی از قشر لیمبیک و غیر لیمبیک دریافت می‌کند و خروجی‌های خود را به نواحی خارج لیمبیک می‌فرستد. (۴) از آنجا که ناحیه CA1 هیپوکمپ دارای ارتباطات آناتومیک با قشر پیریفورم می‌باشد، احتمال دارد که در گسترش امواج تشنجی از قشر پیریفورم نقش داشته باشد (۶) و انتظار می‌رود عواملی که فعالیت نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکمپ را تحت تأثیر قرار دهند، بر انتشار امواج تشنجی از قشر پیریفورم به سایر نقاط مغز تأثیر بگذارند.

از جمله این عوامل آدنوزین می‌باشد، هرچند تأثیر اصلی آدنوزین در هیپوکمپ از طریق گیرنده‌های A₁ و به صورت کاهش فعالیت نورونهای هیپوکمپ اعمال می‌شود (۷)، اما با توجه به وجود گیرنده‌های A_{2A} در این ناحیه، احتمال می‌رود که فعالیت این گیرنده‌ها نیز در تعیین فعالیت آدنوزین در ناحیه CA1 هیپوکمپ مهم باشد. گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} با فعال

کردن آدنیلات سیکلاز منجر به افزایش غلظت cAMP در درون سلول می‌شوند. (۷) گزارشهای ضد و نقیضی در رابطه با تأثیر فعالیت گیرنده‌های A_{2A} بر تشنج وجود دارد. برخی گزارشها حاکی از اثرات ضد تشنجی و برخی دیگر بیانگر عدم وجود اثرات تشنج‌زایی این گیرنده می‌باشند. مثلا مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که تزریق داخل صفاقی CGS باعث مهار صرع در برخی مدل‌های صرعی می‌شود ولی در برخی موارد صرع‌هایی که توسط بیکوکولین (آنتاگونیست گیرنده‌های GABA_A) و پتیلین ترازول القاء شده اند را مهار نمی‌کند. (۷) همچنین نشان داده شده است که تزریق CGS به بطنهای جانبی در موشهایی که آمیگدال آنها کیندل شده بود به شکل وابسته به دوز، امواج نیزه ای بین حمله ای را کاهش می‌دهد ولی برمدت زمان امواج تخلیه متعاقب تأثیر ندارد. (۸) اما در موش‌هایی که ژن گیرنده‌های A_{2A} در آنها حذف شده، کاهش صرع القاء شده توسط قطع مصرف اتانول دیده شده است و پیشنهاد شده که احتمالاً گیرنده‌های A_{2A} موجب افزایش اثرات گلوتامات و استیل کولین می‌شود. (۹،۸) هرچند هر دو نوع گیرنده آدنوزینی در فعالیتهای تشنجی اهمیت دارند اما کارهای تحقیقی انجام شده در مورد گیرنده‌های A_{2A} بسیار اندک است. با توجه به وجود گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در ناحیه CA1 هیپوکمپ (۱۰) و وجود ارتباطات بین پیریفورم و هیپوکمپ هدف از این تحقیق مشخص نمودن نقش فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در نورونهای CA1 هیپوکمپ بر تشنج‌های ایجاد شده به روش کیندلینگ در قشر پیریفورم است.

روش بررسی

جراحی حیوانات. در این تحقیق از موشهای صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley، در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۱۰۰ mg/kg) و رامپون (به نسبت ۸ به یک) بیهوش شده و در استریوتاکس قرار می‌گرفتند. پس از باز کردن سطح جمجمه دو الکتروود تک قطبی، به عنوان Differential و Earth، توسط

ثبت امواج تخلیه متعاقب از قشر پیریفورم (Afterdischarge) مدت زمان تأخیری بین تحریک الکتریکی و شروع مرحله ۴ (Stage ۴ latency; S₄L)، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (Stage ۵ duration; S₅D) که فاصله زمانی بین شروع مشاهده علائم مرحله ۵ تشنج تا خاتمه علائم این مرحله تشنج است، مدت زمان تشنج (Seizure duration; SD) یعنی فاصله زمانی بین تحریک اعمال شده به حیوان تا خاتمه علائم تشنجی و مرحله حمله (Seizure stage; SS). فواصل زمانی به وسیله کامپیوتر اندازه‌گیری می‌شد آزمایش‌ها در ۶ گروه و در هر گروه حداقل ۶ حیوان استفاده گردید.

داروها. در این تحقیق از داروی CGS۲۱۶۸۰ hydrochloride (CGS) به عنوان آگونیست اختصاصی گیرنده A_{2A} و داروی ZM۲۴۱۳۸۵ (ZM) به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده A_{2A} استفاده شد. داروها برای تزریق در مایع مغزی نخاعی (ACSF) حل شده و pH آنها در محدوده ۷/۲ تا ۷/۴ تنظیم شد. ترکیبات لازم برای ساخت ACSF عبارتند از:

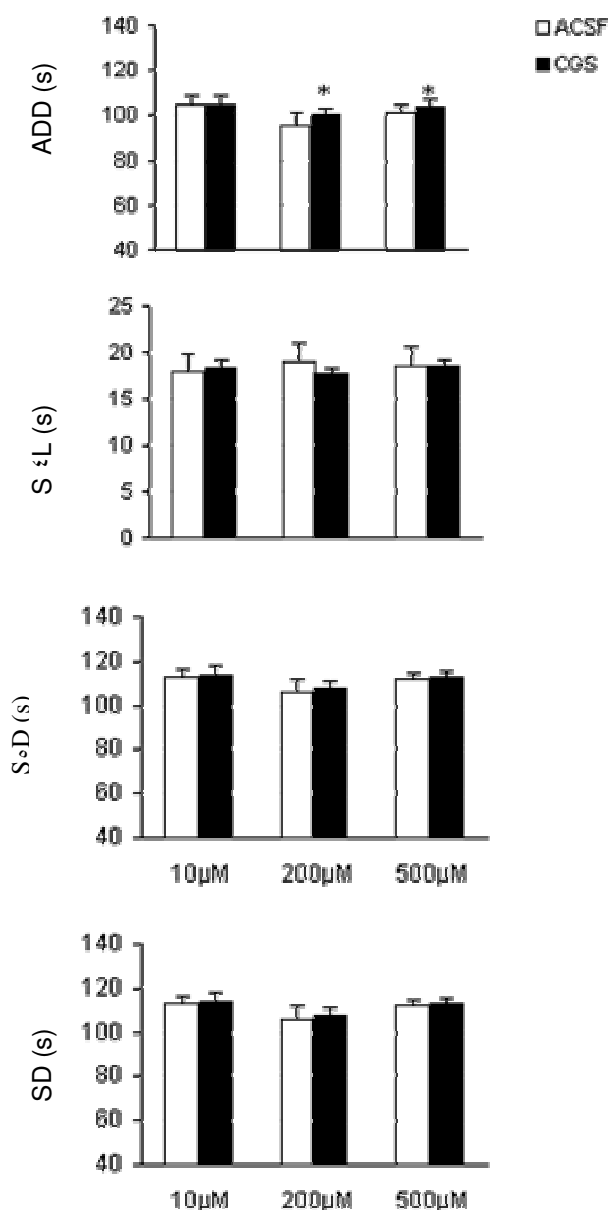
NaH₂PO₄(۱,۲۵mM), Glucose(۱۰mM), CaCl₂(۱mM), NaHCO₃(۲۶mM), MgSO₄(۲mM), KCl(۳mM), NaCl (۱۱۴mM)

تزریق CGS یا ZM به ناحیه CA۱ هیپوکمپ. CGS با دوزهای ۵۰، ۲۰۰ و ۱۰ میکرومولار و ZM با دوزهای ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار به حیوانات کیندل شده تزریق شد (۱ μl/۲min) و حیوانات در زمان ۱۵ دقیقه پس از تزریق تحریک شده و کمیت‌های تشنجی آنها اندازه‌گیری شد. در همه آزمایش‌ها، ۲۴ ساعت قبل از تزریق داروها، به حیوانات ACSF تزریق شده و از داده‌های بدست آمده به عنوان گروه کنترل استفاده می‌گردید.

تزریق CGS همراه با ZM به ناحیه CA۱ هیپوکمپ. در این آزمایش تزریق ZM (۵۰ میکرومولار) ۵ دقیقه قبل از تزریق (CGS) ۲۰۰ میکرومولار صورت گرفت، و حیوانات در زمان ۱۵ دقیقه پس از تزریق CGS تحریک شدند و تمامی کمیت‌های تشنجی بعد از تحریک، اندازه‌گیری گردید.

تأیید بافت شناسی. پس از پایان هر آزمایش جهت اطمینان از

پیچ‌های متصل به آنها، بر روی مجموعه محکم می‌شدند. در این تحقیق برای ایجاد کیندلینگ در قشر پیریفورم بر اساس اطلس پاکسینوز و واتسون (۱۱)، یک الکتروود سه قطبی در قشر پیریفورم با مختصات ۰/۲ میلی‌متر به سمت جلو نسبت به برگما، ۴ میلی‌متر به سمت راست و ۷/۶ میلی‌متر پایین‌تر از سخت شامه قرار می‌گرفت. دو قطب از این الکتروود برای تحریک قشر پیریفورم و یک قطب آن برای ثبت به کار می‌رفت. کانولهای راهنما نیز به صورت دو طرفه در ناحیه CA۱ هیپوکمپ پشتی با مختصات ۳/۶ میلی‌متر به سمت عقب نسبت به برگما، ۲/۳ میلی‌متر به سمت راست و چپ و ۲/۲ میلی‌متر پایین‌تر از سخت شامه کار گذاشته می‌شدند. (۱۱) سپس پین‌های متصل به الکتروودها را وارد سوکت مخابراتی کرده و سوکت به وسیله سیمان دندانپزشکی روی سطح مجموعه محکم می‌گردد. یک هفته پس از جراحی، شدت آستانه تحریک تعیین می‌شد. بدین ترتیب که ابتدا قشر پیریفورم حیوان توسط جریانی با شدت ۱۰ μA تحریک می‌شد. اگر این شدت جریان برای ایجاد امواج تخلیه متعاقب حداقل به مدت ۵ ثانیه کافی بود به عنوان جریان آستانه در نظر گرفته می‌شد. در غیر این صورت، با فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای، شدت جریان هر بار ۱۰ میکرو آمپر افزایش می‌یافت تا اینکه تخلیه‌های متعاقب ثبت گردد. سپس حیوانات هر ۲۴ ساعت یکبار با شدت جریان آستانه تحریک می‌شدند تا اینکه کیندل شده و مرحله ۵ تشنج را نشان دهند. مراحل حمله تشنجی در مدل کیندلینگ عبارتند از: مرحله اول، حرکات دهان و صورت؛ مرحله دوم، انقباض عضلات گردن و حرکات سر به بالا و پائین؛ مرحله سوم کلونوس در یکی از اندامهای جلویی؛ مرحله چهارم، ایستادن حیوان روی اندامهای عقبی همراه با کلونوس دو اندام جلویی و مرحله پنجم، اختلال در تعادل و زمین خوردن (۱۲)، آزمایش‌ها بر روی حیواناتی صورت می‌گرفت که پنج بار مرحله ۵ تشنج را نشان می‌دادند. کمیت‌های ذیل بعد از هر بار تحریک اندازه‌گیری می‌شدند: مدت زمان تخلیه‌های متعاقب قشر پیریفورم، که عبارت است از فاصله زمانی بین شروع تحریک اعمال شده به حیوان تا خاتمه



شکل ۱. اثر تزریق دو طرفه CGS (۱۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار) به ناحیه CA₁ هیپوکمپ بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD)، زمان تاخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج (S_{±L})، مدت زمان مرحله ۵ تشنج (S_{•D}) و مدت زمان حمله تشنج (SD). حیوانات ۱۵ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و بر حسب ثانیه نشان داده شده اند. تعداد حیوانات در تمام گروهها ۶ سر می باشد. * نشان دهنده P < ۰/۰۵ در مقایسه با حالت کنترل (تزریق ACSF) با استفاده از آزمون t-زوجها می باشد.

قرار داشتن الکترودها و کانولها در محل مورد نظر به محل کانول ۱µl رنگ آبی متیلن تزریق شده و محل الکتروود نیز توسط جریان الکتریکی مستقیم با شدت ۱µA و به مدت ۸ ثانیه تخریب گردید. پس از پرفیوژن مغز حیوانات خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. بعد از یک هفته محل الکتروود و کانول برشگیری شد تا محل الکتروود و کانول مشخص گردد. فقط از داده‌های حاصل از حیواناتی که الکتروود و کانول آنها در موقعیت مناسب قرار داشت، استفاده گردید.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات. تمامی داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شده اند. برای مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف CGS و ZM بر کمیت‌های تشنج از آزمون ANOVA یکطرفه (از نوع Completely randomized) و آزمون Tukey استفاده شد. در هر مورد برای مقایسه هر یک از کمیت‌ها با گروه کنترل مربوطه از آزمون t-زوجها استفاده گردید. برای مقایسه تزریق توأم CGS و ZM با تزریق CGS یا ZM به تنهایی، داده‌ها به صورت درصد کنترل نشان داده شده و با استفاده از آزمون ANOVA یکطرفه (از نوع Completely randomized) و آزمون Tukey مقایسه شدند.

یافته‌ها

تمامی حیواناتی که با تحریک قشر پیریفورم کیندل شده بودند، قبل و بعد از تزریق ACSF مرحله ۵ را نشان دادند. CGS و ZM در دوزهای مورد استفاده اثر قابل توجهی بر رفتار و فعالیت حرکتی حیوان نداشتند. بررسی‌های بافت‌شناسی نیز وجود الکتروود قشر پیریفورم و کانول در ناحیه CA₁ هیپوکمپ را تأیید کرد.

اثر تزریق CGS یا ZM به ناحیه CA₁ هیپوکمپ. به دنبال تزریق غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار CGS، افزایش معنی‌داری در ADD ثبت شده از قشر پیریفورم مشاهده شد (شکل ۱). آزمون ANOVA یک طرفه نشان داد که این

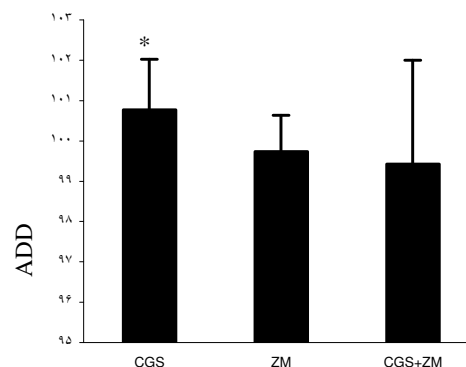
اثر وابسته به دوز نمی‌باشد ($F_{(1,13)}=3,32, P=0,06$). تغییر معنی‌داری در کمیت‌های S₄L، SD و S₅D مشاهده نشد. از طرفی، ZM با غلظت ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار، باعث تغییر معنی‌داری در کمیت‌های تشنجی نگردید (جدول ۱).

اثر تزریق ZM همراه با CGS به ناحیه CA₁ هیپوکمپ. تزریق ZM (۱۰۰ میکرومولار) ۵ دقیقه قبل از CGS (۵۰۰ میکرومولار) به حیوانات، اثر CGS بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب را از بین می‌برد. همانگونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، تزریق CGS به تنهایی کمیت ADD را بطور معنی‌دار افزایش می‌دهد، در حالیکه تزریق توأم CGS و ZM یا ZM به تنهایی اثر معنی‌داری بر این کمیت ندارد.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تزریق CGS موجب افزایش شدت تشنجهای ناشی از کیندلینگ قشر پیرفورم می‌شود. این تحقیق اولین گزارش در زمینه اثر تحریکی فعالیت A_{2A} در مدل صرعی کیندلینگ می‌باشد. مطالعات انجام شده قبلی نشان داد که تزریق آگونیست‌های A₁ آدنوزین به برشهای زنده ناحیه هیپوکمپ موجب مهار LTP می‌شود و برعکس تزریق آگونیستهای A₂ آدنوزین منجر به تقویت آن می‌شود. (۱۳) بنابراین نقش تعدیل‌کننده عصبی آدنوزین می‌تواند به تعادل فعالیت گیرنده‌های A₁ و A_{2A} بستگی داشته باشد (۱۴) و از این رو شناسایی نقش A_{2A} در نقاط مختلف مغز و همچنین اثر آن بر تشنجهای ایجاد شده می‌تواند در شناسایی تأثیر آدنوزین بر فعالیت‌های عصبی مؤثر باشد.

در این تحقیق با تزریق CGS به صورت دو طرفه به ناحیه CA₁ هیپوکمپ پستی افزایش معنی‌داری در مدت زمان تخلیه‌های متعاقب مشاهده گردید اما در کمیت‌های دیگر تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین تغییر در فعالیت نورونهای هیپوکمپ به دنبال فعال شدن گیرنده‌های A_{2A} باعث افزایش تشنج ناشی از کیندلینگ پیرفورم شده است. با توجه به اینکه فعالیت مدارهای



شکل ۲. اثر تزریق CGS، ZM و CGS+ZM بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب (ADD). حیوانات ۱۵ دقیقه پس از تزریق، تحریک شدند. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و بر حسب درصد کنترل نشان داده شده‌اند. تعداد حیوانات در گروه CGS ۱۲ و در گروه ZM و CGS+ZM برابر با ۶ سر می‌باشد. * نشان دهنده $P < 0,05$ در مقایسه با دو گروه دیگر با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون Tukey می‌باشد.

جدول ۱. اثر تزریق ZM به تنهایی یا ZM همراه CGS به ناحیه CA₁ هیپوکمپ بر کمیت‌های تشنجی در کیندلینگ قشر پیرفورم

ماده تزریقی	کمیت تشنجی (ثانیه)			
	SD	S ₅ D	S ₄ L	ADD
ACSF	۱۰۸/۷۶±۳/۸	۳۰/۵۵±۰/۴	۲۰/۰۶±۰/۶۳	۹۴/۸۸±۵/۲۳
ZM (۵۰μM)	۱۰۹/۳۲±۲/۷	۳۰/۰۶±۰/۷	۲۰/۶۰±۰/۴۵	۹۵/۲۱±۵/۱۹
ACSF	۱۰۶/۸۰±۵/۲۴	۲۵/۰۵±۲۷/۸۲	۱۹/۷۶±۱/۲۴	۹۲/۷۶±۵/۷۶
ZM (۱۰۰μM)	۱۰۷/۱۰±۵/۱۲	۲۹/۲۷±۳/۳۶	۲۰/۴۲±۰/۹۹	۹۲/۳۶±۵/۲۴

در هر مورد داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین نشان داده شده است. تعداد حیوانات در تمامی گروهها ۶ سر می‌باشد. همانگونه که مشاهده می‌شود تزریق ZM اثر معنی‌داری بر کمیت‌های تشنجی نداشت.

ای اثر ندارد. (۱۵) تحقیق فوق نشان دهنده عدم نقش آدنوزین درون زاد از طریق گیرنده های A_{2A} در هنگام تشنج است. مطالعات نشان داده است که در هنگام تشنج غلظت آدنوزین افزایش می‌یابد (۱۶-۱۸) و پیشنهاد شده است که یکی از دلایل احتمالی خاتمه یافتن تشنج مربوط به تأثیر آدنوزین درون زاد است. اما با توجه به اثرات متناقض مشاهده شده از گیرنده‌های A₁ و A_{2A} آدنوزینی باید برهم کنش بین این دو گیرنده را در بروز اثرات ضد تشنجی در نظر داشت. (۱۴) احتمال می‌رود که در غلظت‌های کم آدنوزین خارج سلولی، فعالیت گیرنده‌های A₁ موجب کاهش رهایش نوروترانسمیتر شده و وقتی غلظت آدنوزین افزایش می‌یابد عملکرد گیرنده‌های A_{2A} غلبه می‌یابد. (۱۹) از طرف دیگر، نشان داده شده که ZM، آنتاگونیست اختصاصی گیرنده A_{2A}، پاسخ گیرنده A₁ را در هیپوکمپ کاهش می‌دهد. (۲۰، ۱۴) بنابراین، فعالیت گیرنده‌های A_{2A} بطور مستقیم یا غیر مستقیم باعث تسهیل رهایش نوروترانسمیتر می‌شود.

نتیجه گیری: نتایج حاصله این احتمال را مطرح می‌کند که به دنبال فعالیت گیرنده‌های A_{2A} رهایش نوروترانسمیتر در ناحیه CA1 هیپوکمپ افزایش یافته و این افزایش به تشدید حملات تشنجی در کیندلینگ آمیگدال می‌انجامد. البته با توجه به وجود برهم کنش‌های زیاد بین گیرنده‌های آدنوزینی، مطالعات و تحقیقات گسترده‌ای در این زمینه برای شناسایی اثرات واقعی این گیرنده‌ها مورد نیاز است.

References

- Holmes GL, Ben-Ari Y. The neurobiology and consequences of epilepsy in the developing brain. *Pediatr Res* ۲۰۰۱; ۴۹: ۳۲۰-۳۲۵.
- of the rat. *Neuroscience* ۲۰۰۵; ۱۳۲: ۸۹۳-۹۰۳.
- Krous TK. Sensitization phenomena in psychiatric illness: lessons from the kindling model. *J Neuropsychiat*

نورونی ویژه ای منجر به بروز رفتارهای تشنجی می‌شود، تزریق CGS به هیپوکمپ توانسته است عملاً این مدارهای نورونی را تسهیل نماید و این اثرات تسهیلی موجب تغییرات معنی‌دار در مدت زمان تخلیه‌های متعاقب شود. افزایش زمان امواج تخلیه‌های متعاقب نشانگر افزایش میزان فعالیت نورونها در پیرفورم است و تزریق CGS به هیپوکمپ این مدت را افزایش داده است. کمیت (S_zL) نشان دهنده زمان لازم برای عمومی شدن تشنج است. با توجه به اینکه تزریق CGS به هیپوکمپ تأثیر معنی‌داری بر S_zL نداشت می‌توان این احتمال را مطرح کرد که فعالیت گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} هیپوکمپ نقشی در عمومی شدن تشنج ناشی از کیندلینگ پیرفورم ندارد. تأثیر غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولاری بر ADD تقریباً یکسان بود. عدم تغییر در پاسخ غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولاری نشان دهنده این است که گیرنده‌های A_{2A} حداکثر اثر خود را در غلظت ۲۰۰ میکرومولار اعمال کرده‌اند و احتمالاً در غلظت‌های بالاتر تغییری در اثرات تسهیل کنندگی آن بوجود نمی‌آید.

برای تأیید این موضوع که اثرات تشنج‌زایی از طریق گیرنده‌های A_{2A} انجام می‌شود، ZM، آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های A_{2A}، ۵ دقیقه قبل از تزریق CGS در ناحیه CA1 هیپوکمپ تزریق گردید و نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان داد که در این حالت اثرات تحریکی ناشی از تزریق آگونیست A_{2A} به تنهایی مشاهده می‌شد، بروز نمی‌کند حذف این اثرات نشانگر این مطلب می‌تواند باشد که CGS از طریق این گیرنده‌ها اثر خود را اعمال می‌کند.

در این تحقیق برای پی بردن به نقش گیرنده‌های A_{2A} در اعمال اثرات آدنوزین درون‌زاد در ناحیه CA1 هیپوکمپ، ZM به تنهایی و به صورت دو طرفه در این ناحیه تزریق گردید، اما در هیچ یک از دوزها ۵۰ و ۱۰۰ تغییر معنی‌داری در کمیت‌های تشنجی ایجاد نشد. بسیاری از تحقیقات گذشته نیز نشان دهنده عدم تأثیر آنتاگونیست‌های آدنوزین بر تشنج بوده‌اند، به عنوان مثال Albertson و همکارانش گزارش کردند که تزریق آمینوفیلین، به صورت داخل صفاقی بر پتانسیل‌های شکج دندان

- Clin Neurosci ۲۰۰۰; ۲: ۳۲۸-۳۵۵.
۳. Simonato M, Varani K, Muzzollini A, Bianchi C, Beani L, Borea PA. Adenosine A₁ receptors in the rat brain in the kindling model of epilepsy. Eur J Pharmacol ۱۹۹۴; ۲۶۲: ۱۲۱-۱۲۴.
۴. Loscher W, Ebert U. The role of the piriform cortex in kindling. Prog Neurobiol ۱۹۹۶; ۵۰: ۴۲۷-۴۸۱.
۵. Suchomelova L, Haugvicova R. Lithium pilocarpine status epilepticus-induced neuropathology of piriform cortex and adjoining structures in rats is age-dependent. Physiol Res ۲۰۰۳; ۵۲: ۲۵۱-۲۶۴.
۶. Fix JD. Neuroanatomy, ۳rded, Lippincott Williams and Wilkins ۲۰۰۲; ۳۲۵-۳۳۵.
۷. Huber H, Guttinger M, Moher H, Bioson D. Seizure suppression by adenosine A_{2A} receptor activation in rat model of audiogenic brain stem epilepsy. Neurosci Lett ۲۰۰۲; ۳۳۹: ۲۸۹-۲۹۲.
۸. Cynthia A, Robert F. The A₁-selective adenosine analog, CGS ۲۱۶۸۰, depresses locomotor activity but does not block amygdala kindled seizures in rats. Neurosci Lett ۱۹۹۲; ۱۴۱: ۲۴۷-۲۵۰.
۹. Alberston TE, Joy RM. Modification of excitation and inhibition evoked in dentate gyrus by perforant path stimulation: effects of aminophylline and kindling. Pharmacol Biochem Behav ۱۹۸۶; ۲۴: ۸۵-۹۱.
۱۰. Rebola N, Canas PM, Oliveira CR, Cunha RA. Different synaptic and subsynaptic localization of adenosine A_{2A} receptors in the hippocampus and striatum
۱۱. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates, Academic Press, California ۱۹۸۶.
۱۲. McNamara IO, Byrne MC, Dasheiff RM, Fitz JG. The kindling model of epilepsy: a review, Prog Neurobiol ۱۹۸۰; ۱۵: ۱۳۹-۱۵۹.
۱۳. Fuji S, Kuroda Y, Ito K, Kaneko K, Kato H. Effects of adenosine receptors on the synaptic and EPSP-spike components of long term potentiation and depotentiation in the guinea-pig hippocampus. J Physiol ۱۹۹۹; ۵۲۱: ۴۵۱-۴۶۶.
۱۴. Cunha RA. Adenosine as a neuromodulator and as a homeostatic regulator in the nervous system: different roles, different sources and different receptors, Neurochem Int ۲۰۰۱; ۳۸: ۱۰۷-۱۲۵.
۱۵. Albertson TE, Start LG, Toy RM, Bowyer JF. Aminophylline and kindled seizures. Exp Neurol ۱۹۸۳; ۸۱: ۷۰۳-۷۱۳.
۱۶. Albeston TE, Joy RM, Stark LG. Caffeine modification of kindled amygdaloid seizures. Pharmacol Biochem Behav ۱۹۸۳; ۱۹: ۳۳۹-۳۴۳.
۱۷. During MJ, Spencer DD. Adenosine: a potential mediator of seizure arrest and postictal refractoriness. Ann Neurol; ۱۹۹۲; ۳۲: ۶۱۸-۶۲۴.
۱۸. Dragunow M, Goddard GV, Lavery R. Is adenosine an endogenous anticonvulsant? Epilepsia ۱۹۸۵; ۲۶: ۴۸۰-۴۸۷.
۱۹. Wardas J. Neuroprotective role of adenosine in the CNS. J Pharmacol ۲۰۰۲; ۵۴: ۳۱۳-۳۲۶.