

مجله دانشکده پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی تهران

سال ۶۲، شماره ۸، صفحات ۶۸۵ تا ۶۸۹، (۱۳۸۳)

اثر هیپرگلیسمی بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتلین تترازول در موش سوری

دکتر مرضی ثمنی، دکتر آزاده شایانمهر، دکتر حامد شفارودی
گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: هیپرگلیسمی یکی از عوامل مهم متابولیک تأثیرگذار بر عملکرد نورون‌های سربرال می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی اثر هیپرگلیسمی بر آستانه تشنج ناشی از پنتلین تترازول بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه برای ایجاد گلیسمی از گلوکز ۴۰٪ با دوز ۴ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق گاوژ استفاده شده است. ۳۰ دقیقه پس از تأیید هیپرگلیسمی با انجام آزمایش خون، پنتلین تترازول از طریق ورید دم انفوزیون شده و آستانه تشنج اندازه‌گیری گردید. در گروه کنترل معادل حجم گلوکز گروه تست، از سالین استفاده و با روش فوق آستانه تشنج تعیین گردید.

یافته‌ها و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که هیپرگلیسمی احتمالاً باعث کاهش آستانه تشنج ناشی از پنتلین تترازول می‌شود در مطالعات و تحقیقات انجام شده نشان داده شده است که پنتلین تترازول از طریق اثر بر سایت پیکروتوکسین و تداخل اثر با گابا اثرات خود را ایفا می‌کند. همچنین نشان داده شده که هیپرگلیسمی احتمالاً ذخایر انرژی مغزی را کاهش داده و بازیافت ATP مغزی را مختل می‌کند. در نتیجه ممکن است مغز برای تأمین انرژی به متابولیزه کردن گابا متوسل شده و در نتیجه گابا کاهش یافته و آستانه تشنج کاهش یابد.

مقدمه

بیماری مغزی یا اختلال در عملکرد مغز به دلیل تغییر در شرایط سیستمیک باشد (۱). عملکرد نورون‌های سربرال به عوامل سیستمیک متعددی بستگی دارد از جمله غلظت گلوکز-اکسیژن- توزیع الکترولیتی در دو طرف غشای سلولی- روند‌های سمیت‌زدایی ارگان‌های احشایی و غیره هر اندازه تغییرات متابولیک سریع‌تر باشد احتمال وقوع تشنج بیشتر

تشنج Seizure به حالتی اطلاق می‌شود که تخلیه الکتریکی از نورون‌های کورتیکال به صورت غیرطبیعی و همزمان و ناگهانی انجام شود. از لحاظ بالینی می‌تواند علامت

توجه به اتیولوژی تشنج همه موارد فوق‌الذکر در ایجاد تشنج نقش دارند (۶،۷) در این مطالعه اثرات هیپرگلیسمی بر آستانه تشنج بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی موش‌های سوری نر در محدوده وزنی ۲۳-۳۴ گرم که مرکز سرم‌سازی رازی تهیه شدند انجام گرفت. در ابتدا حیوانات داخل قفس‌های مخصوص قرار داده شدند و یک روز به حال خود رها شده تا به شرایط محیط عادت کنند در این مدت و در طول آزمایش دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. نور و رطوبت و دما برای تمام حیوانات یکسان بوده است.

پنتیلان ترازول یک ماده سفید کریستالی است که در حالت جامد باید در فریزر نگهداری شود. برای انجام آزمایش محلول ۱٪ از آن ساخته شد که قابل نگهداری در یخچال است. جهت تزریق آن به ورید موش از یک کاتتر پلی‌اتیلن استفاده شد که در حین آزمایش آزادی عمل و حرکات را نیز حفظ کند. یک سر کاتتر به سرنگ انسولین و سر دیگر به 10 needle دندانپزشکی متصل شد. در داخل سرنگ محلول ۱٪ از PTZ ریختیم. موش‌ها را در محفظه مخصوص restrainer قرار داده بطوری که فقط دم موش بیرون باشد. سوزن را درون ورید کرده سپس با سرعت ۱ واحد در ثانیه PTZ تزریق شد. در ابتدا پرش Jerk دیده می‌شود و پس از آن تشنجات کلونیک اتفاق می‌افتد. در مرحله اخیر تزریق متوقف شده و آستانه تشنج اندازه‌گیری گردید. آستانه تشنج به صورت میلی‌گرم از PTZ تزریق شده به ازای وزن موش گزارش گردید.

آزمایش در دو گروه کنترل و تست انجام شد و هر گروه متشکل از ۱۰ موش سوری نر بود. در گروه تست با دوز ۴ g/kg گلوکز ۴۰٪ از طریق گاوژ معدی هیپرگلیسمی انجام و ۳۰ دقیقه پس از آن با آزمایش خون تأیید گردید.

سپس با استفاده از PTZ آستانه تشنج تعیین شد. در گروه کنترل معادل حجم محلول گلوکز سالین داده شد و پس از ۳۰ دقیقه آستانه تشنج با PTZ تعیین گردید.

است زیرا نوروهای سربرال در برابر آنها بسیار حساس می‌باشند. تشنج‌های ایجاد شده به دلیل اختلالات متابولیک از نوع حرکتی جنرالیزه تا نوع پارشیال متغیر است. نکته مهم این است که وقوع یک یا تعداد بیشتر تشنج که به دلیل عوامل متابولیک ایجاد می‌شود به عنوان بیماری صرع تلقی نمی‌گردد زیرا اغلب با اصلاح وضعیت متابولیک بهبود یافته و به ندرت دارو درمانی با داروهای ضدصرع لازم خواهد بود. به علاوه هر بیماری که سبب آسیب به بافت کورتکس مغز شود می‌تواند باعث بروز تشنج گردد هیپرگلیسمی پدیده‌ای است که در افراد دیابتی نوع II شایع است. در این حالت انسولین به میزانی وجود دارد که روند تشکیل کتواسیدها را مهار کند ولی نمی‌تواند بر هیپرگلیسمی و افزایش اسمولاریته ناشی از آن تأثیر بگذارد (۲).

اولین پدیده‌ای که به دنبال هیپرگلیسمی ایجاد می‌شود افزایش اسمولاریته است (۳) و به دنبال آن دهیدراسیون ایجاد می‌شود.

نشان داده شده است که دهیدراسیون به صورت تجربی از کتواسیدوز جلوگیری می‌کند. Stoter این طور می‌گوید که پیدایش سریع دهیدراسیون می‌تواند در ایجاد کتواسیدوز اختلال ایجاد کند (۳). افزایش اسمولاریته پلاسما سبب ایجاد یک گرادیان اسموتیک بین داخل و خارج سلول‌های مغزی شده و این عامل باعث دهیدراسیون نوروها و اختلال در عملکرد آنها می‌گردد زیرا در زمان افزایش اسمولاریته، سمیوپلاسم اولیگودندروگلیال‌ها چروکیده شده و سلول‌های اندونلیال حفره‌دار می‌گردند و دانسیته نوروها افزایش می‌یابد. تمامی این عوامل کارکرد سلول‌های مغزی را دچار اشکال می‌کند و در بروز تشنج دخالت دارد لازم به ذکر است که در کتواسیدوز گرادیان اسمولاریته در داخل و خارج سلول‌های مغزی ایجاد نشده و این اثرات نیز ملاحظه نمی‌گردد (۴).

از اختلالات دیگری که به دنبال هیپرگلیسمی ایجاد می‌شود آسیب در خونرسانی مغز است (۳). در حقیقت هیپرگلیسمی خونرسانی را مختل کرده و نوعی vascular ischemia ایجاد می‌کند که بر کارکرد نوروها اثرگذار است (۴،۵).

به علاوه ترومبوز وریدهای کورتیکال، هموراژ مغزی و نکروز نوروئی نیز پس از هیپرگلیسمی ایجاد می‌شود که با

گروه مورد آزمایش	آستانه تشنج با PTZ, mg/kg	غلظت قند خون mg/dl	P
گروه کنترل (نرمال سالین)	۳۹/۴	۹۷/۱۵	$P < ۰/۰۰۱$
گروه تست (گلوکز ۴۰٪)	۲۷/۳۹	۳۰۰/۹۳	$P < ۰/۰۰۱$

بحث

هیپرگلیسمی پدیده‌ای است که بخصوص در افراد دیابتی تیپ II شایع است و اغلب بدون فاز کتواسیدوز دیده می‌شود. در این حالت انسولین به میزانی وجود دارد که روند تشکیل کتواسیدها را مهار کند ولی نمی‌تواند بر هیپرگلیسمی و هیپراسمولاریتی ناشی از آن تأثیری بگذارد. بسیاری از این بیماران دچار کما و عده‌ای دچار تشنج‌های حرکتی پارشیال می‌شوند. حتی در بعضی از بررسی‌ها نشان داده شده که تشنج‌ها علامتی برای تشخیص هیپرگلیسمی و به دنبال آن دیابت در بسیاری از بیماران بوده است (۲).

در این بیماران تشنجات به درمان با داروهای ضدصرع مقاوم بوده و به آنها جوابی نمی‌دهند ولی با اصلاح وضعیت متابولیک و تجویز انسولین و مایع درمانی بهبود می‌یابند. حتی تجویز بعضی داروها نظیر فنی‌تونین که باعث تشدید هیپرگلیسمی می‌شود می‌تواند باعث وخامت وضعیت بیمار گردد. هیپرگلیسمی یکی از عوامل متابولیکی است که بر نوروهای سربرال تأثیر گذاشته و می‌تواند کارکرد آنها را دچار اختلال نماید (۲).

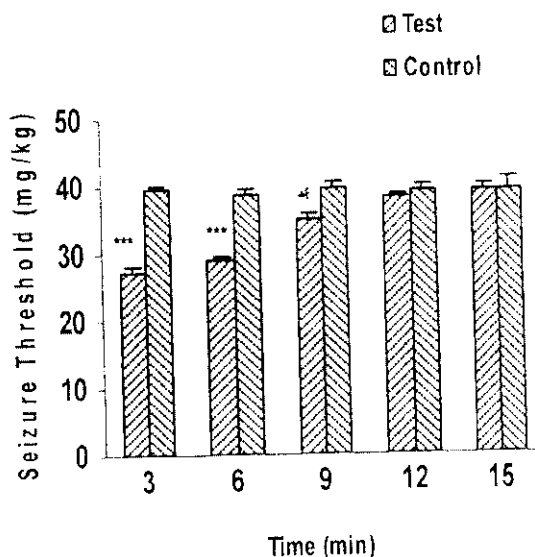
هیپرگلیسمی ذخایر انرژی مغزی را کاهش می‌دهد (۱۴). به علاوه بازیافت ATP مغزی و سطح فسفوکراتین را مختل کرده و به این طریق باعث کاهش در فعالیت پمپ $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPase}$ در سلول‌های کورتیکال می‌شود. از طرفی هیپرگلیسمی سبب کاهش غلظت اکسیژن در مغز و کاهش فعالیت چرخه کربس می‌گردد (۱۵، ۱۶، ۱۷).

همه این عوامل احتمالاً سبب می‌گردند که نیاز مغزی به انرژی از طریق متابولیسم کردن GABA تأمین شود به این

برای محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS و روش آنالیز independent sample T-test استفاده شد و اختلاف معنی‌دار با $P < ۰/۰۰۱$ در نظر گرفته شد.

در هر دو گروه تست و کنترل در زمان‌های ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه نیز آستانه تشنج با روش فوق اندازه‌گیری گردید و نتایج در نمودار زیر ارائه شده است.

در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه ($P < ۰/۰۰۱$) بین گروه‌های آزمایش مشاهده شد ولی در زمان‌های ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه اختلاف بین گروه تست و کنترل معنی‌دار نبود.



یافته‌ها

هیپرگلیسمی باعث کاهش آستانه تشنج کلونیک ناشی از PTZ در موش‌های سوری گردید در گروه کنترل که فقط سالین دریافت کرده بودند میانگین آستانه تشنج $۳۹/۴ \text{ mg/kg}$ بود که در اثر هیپرگلیسمی به $۲۷/۳۹ \text{ mg/kg}$ کاهش یافت. SE در گروه کنترل $۲/۰۷$ و در گروه تست $۱/۲۶$ بود. قند خون در موش‌های گروه کنترل $۹۷/۱۵ \text{ mg/dl}$ و در گروه تست $۳۰۰/۹۳ \text{ mg/dl}$ بود. SE در گروه کنترل $۳/۲۷$ و در گروه تست $۴/۹۲$ محاسبه گردید.

عامل مهمی در بروز تشنج کلونیک ناشی از PTZ است و مهار کنندگان سنتز NO باعث ساپرس شدن این تشنج می‌شوند (۱۱). اخیراً یک پروتئین با وزن مولکولی ۷۰ دالتون با نام P70 در کورنکس رت‌هایی که به صورت تجربی با PTZ دچار تشنج شده بودند شناسایی شده و مشخص گردیده ایجاد دشوارزهای الکتریکی شبیه صرع می‌کند و علائم الکتروگرافیک و رفتاری همانند صرع نیز به وجود خواهد آورد در نوروهای یک حلزون خشکی‌زی ژاپنی به نام *Euhadra peliomphala* این پروتئین باعث شکل‌گیری نوعی مقاومت با شیب منفی در منحنی جریان-ولتاژ می‌شود. این اثرات توسط آنتی‌بادی anti-P70 بلاک می‌گردند. به همین دلیل به نظر می‌رسد در مکانیسم تشنج‌زایی PTZ نوعی پروتئین نیز می‌تواند دخیل باشد (۱۲،۱۳).

از آنجایی که مکانیسم PTZ از طریق سایت پیکروتوکسین و مهار کانال کلراید و به عبارتی کاهش اثر GABA است و نشان داده شده که هیپرگلیسمی نیز با کاهش GABA در مغز عمل می‌کند احتمالاً این دو عامل به طور مکمل سبب تشدید اثرات یکدیگر شده و ممکن است آستانه تشنج را کاهش دهند.

ترتیب میزان این نورترانسسمیتر مهاری در مغز کم شده و آستانه تشنج کاهش یابد (۱۵،۱۶).

شایان ذکر است که کتواسیدوز یک اثر ضد تشنجی ایجاد می‌کند زیرا سبب افزایش فعالیت آنزیم گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز شده و میزان GABA در مغز را افزایش می‌دهد. پتیلین تترازول یکی از داروهای محرک مغز است که در گروه تشنج‌زاها و محرک‌های تنفسی طبقه‌بندی می‌شود البته امروزه به عنوان یک ابزار آزمایشگاهی در اختیار محققین قرار دارد (۸).

فرمول بسته آن $C_6H_{10}N_4$ ، وزن مولکولی آن 138.17 و نقطه ذوب ۶۰-۵۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (۹).

با استفاده از روش *Positron emission tomography* (PET) که یک تکنیک *non-invasive* است و به صورت *in-vivo* غلظت مواد رادیواکتیو در بافت را اندازه‌گیری می‌کند. مطالعه برای شناسایی جایگاه اثر PTZ با اشغال سایت پیکروتوکسین و از طریق مهار کانال کلراید اثرات خود را ایفا می‌کند و اشغال جایگاه بنزود یازینی نقش ناچیزی در اثرات آن دارد (۱۰) بعلاوه در بعضی مقالات ذکر شده است که NO

منابع

1. Davenport J, Epilepsy. In: Stein J. Internal medicine, third edition, Littleand Brown Company 1990; pp. 1973-1977.
2. Pedly T, Bazil C, M Orel, Epilepsy. In: Rowland L, Merritt's Neurology, tenth edition, Lippincott Williams and Wilkins 2000; pp. 813-833.
3. Maccario M. Neurological dysfunction associated with nonketotic hyperglycemia, Arch Neurol 1968; 19: 525-534.
4. Hennis A, Corbin D, Fraser H. Focal seizures and nonketotic hyperglycemia. J Neurol Neurosurg Psychiat 1992; 55: 195-197.
5. Sabin T. Tonic focal seizures in nonketotic hyperglycemia of diabetesmellitus. Arch Neurol 1981; 38: 512-514.
6. Park B, Meacham W. Nonketotic hyperglycemic hyperosmolar coma. J Neuro Surg 1976; 44: 409-417.
7. Rang H, Dale M, Ritter J. Pharmacology, third edition, Churchill livingstone, USA 1995; pp. 505-514, 634-644.
8. O Neil M. The Merch index, 13th edition, Merch research laboratories. Merch and Co. INC. White house station. NJ USA 2001; pp. 7219.
9. Chavoix C, Brouillet E, Guibert B, Fukuda H, De la sayette V, Fournier D, Naquet R, Maziere M. Status epilepticus induced by PTZ modulated in vivo [¹¹ C] RO 15 -1788 binding to benzodiazepines receptors. Effects of ligands acting at supra molecular receptor complex, Europ J Pharmacol 1988; 146.
10. Useone K, Mori N, Suzuki K, Osone M. Antiepileptic effects of inhibitors of nitric oxide synthase examined in PTZ- Induced seizures in rats, Brain Research 1994; 663: 338-340.
11. Onozuka M, Tsujitani M, Pentylene-tetrazol suppresses the potassium current in euhadra neurons which is couple with Ca²⁺ calmodulin-dependent protein phosphorvlation. Neuroscience Research 1991; 11: 146-153.
12. Onozula M, Watanabe K. Intracellular applied anti-P70 antibody blocks the induction of abnormal membrain properties by PTZ in identified Euhadra. Brain Research 1996; 716: 187-191.
13. Park W, Chang Y, Lee M. Effects of hyperglycemia or hypoglycemia on brain cell membrane function and energy metabolism during the immediate reoxygenatin- reperfusion period after acute transient global hypoxiaischemia in the newborn piglet. Brain Research 2001; 901: 102-108.
14. Brich J, Gutrecht J, Ringel R. Reflex epilepsy and nonketotic hyperglycemia in the elderly. Neurology 1989; 30: 344-398.
15. Johnson R, Conn J, Dykman C, Pek S, Star J, Arbor A. Mechanisms and management of hyperosmolar coma without ketoacidosis in the diabetics. Diabetes 1969; 18(2) 2: 111-115.
16. Single B, Strobos R, Epilepsia partialis continua associated with nonketotic hyperglycemia: clinical and biochemical profile of 21 patients. Ann Neurol 1980; 8: 155-160.
17. Schwechter EM, Veliskova J, Velisek I. Correlation between extracellular glucose glucose and seizure susceptibility in adult rats. Ann Neurol 2003; 53: 91-10