

بررسی نقش گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در تشنجات ناشی از کیندلینگ مسیر پرفورنت ناحیه هیپوکمپ در موش صحرایی

محمد محمدزاده^۱، سید جواد میرنجفی زاده^۲

^۱ استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار
^۲ دانشیار فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

نشانی نویسنده مسؤول: سبزوار، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دکتر محمد محمدزاده

E-mail: mohamad1353@gmail.com

وصول: ۸۷/۳/۳۰، اصلاح: ۸۷/۵/۶، پذیرش: ۸۷/۷/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات قبلی نقش گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} را در گسترش تشنجات ناشی از کیندلینگ را به درستی روشن نکرده‌اند. در مطالعه حاضر با انسداد این گیرنده‌ها (توسط آنتاگونیست اختصاصی) نقش آن‌ها در تشنجات ناشی از کیندلینگ مسیر پرفورنت مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت تجربی بر روی موش‌های صحرایی انجام شد که ۲۴ سر موش در چهار گروه ۶ تایی به صورت تصادفی مورد مطالعه قرار گرفتند. روش کار به این صورت بود که حیوانات با تحریک الکتریکی مسیر پرفورنت کیندل شدند. در دو گروه از حیوانات قبل از هر بار تحریک کیندلینگ، آنتاگونیست گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} (ZM 241385) با غلظت‌های ۵۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار به داخل بطن جانبی حیوانات تزریق می‌شد. حیوانات گروه کنترل نرمال فقط تحریکات کیندلینگ دریافت می‌کردند. در گروه چهارم حیوانات تزریق حلال داروی فوق به داخل بطن جانبی قبل از تحریکات کیندلینگ صورت می‌گرفت (گروه کنترل شم). جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه و توکی تحت نرم افزار Statistica استفاده شد.

یافته‌ها: تزریق آنتاگونیست گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} (ZM 241385) با غلظت ۵۰۰ میکرومولار به داخل بطن جانبی حیوانات باعث به تعویق افتادن روند کیندلینگ شد. آزمون آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که تعداد تحریکات لازم برای رسیدن به مراحل تشنجی را به طور معناداری افزایش داد [$F(۴,۷) = ۴۷, P < ۰/۰۰۱$]. همچنین در این گروه کاهش معناداری در مدت زمان امواج تخلیه متعاقب تجمعی [۰/۰۵ و $P < ۲/۵$] نسبت به گروهی که حلال دارو دریافت کرده بودند (گروه کنترل شم)، مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این تحقیق، تزریق آنتاگونیست گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} اثر ضد تشنجی معناداری بر تشنجات القا شده توسط کیندلینگ مسیر پرفورنت دارد و این اثر از طریق مهار اثر آدنوزین درون زاد بر گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} صورت می‌گیرد. (مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۵/شماره ۳/۱۳۷-۱۳۹).

واژه‌های کلیدی: کیندلینگ؛ تشنج؛ آدنوزین؛ مسیر پرفورنت.

مقدمه

صرع یکی از رایج‌ترین اختلالات عصبی در انسان می‌باشد و هنوز روش قطعی درمان آن شناخته نشده است. داروهای ضد صرع موجود فقط در ۴۰ درصد موارد، تشنج را از بین می‌برند و در بقیه موارد، فقط فراوانی وقوع تشنج‌ها را کم می‌کنند (۱). شایع‌ترین نوع صرع در انسان صرع لوب گیجگاهی (Temporal lobe epilepsy) می‌باشد (۲). در این نوع صرع، هیپوکمپ نقش مهمی در عمومی شدن تشنجات دارد (۳). بهترین مدل آزمایشگاهی برای این نوع صرع، کیندلینگ الکتریکی می‌باشد که در واقع یک پاسخ پیش رونده تشنجی به دنبال تحریک مکرر و دوره‌های ناحیه خاصی از مغز می‌باشد (۴، ۵).

در حین فرآیند کیندلینگ، تخلیه‌های الکتریکی از موضع تحریک به نواحی دیگر در مغز منتشر شده و فعالیت آن نواحی را به گونه ای تغییر می‌دهند که علائم حرکتی تشنج به وجود می‌آید. این پاسخ‌های حرکتی به تدریج، عمومی و فراگیر می‌شوند (۶). یکی از نواحی مغزی که نقش مهمی در ایجاد صرع در انسان دارد و در نتیجه در مدل کیندلینگ هم بسیار مورد مطالعه قرار می‌گیرد، ناحیه هیپوکمپ است. هیپوکمپ از قسمت‌های هیپوکمپ، شکنج دندان‌دار و ساییکولوم تشکیل شده است (۷). مهم‌ترین ورودی به تشکیلات هیپوکمپ از قشر انتورینال می‌باشد. این فیبرهای عصبی ورودی موسوم به مسیر پرفورانت می‌باشد. مسیر پرفورانت از دو مسیر جانبی و میانی وارد تشکیلات هیپوکمپ می‌شود که مسیر جانبی از لایه ۲ قشر انتورینال به سلول‌های دانه دار در شکنج دندان‌دار ختم می‌شود که مسیر میانی از لایه ۳ قشر انتورینال مستقیماً به سلول‌های هر می CA1 و ساییکولوم ختم می‌شود. شکنج دندان‌دار نقش مهمی در صرع لوب گیجگاهی دارد و یکی از نواحی حساس برای ایجاد کیندلینگ است (۴، ۵). کیندلینگ باعث تقویت مدارهای مهارتی و تحریکی در شکنج دندان‌دار می‌شود

(۸-۱۱). مثلاً نشان داده شده است که کیندلینگ شیب پتانسیل‌های پس سیناپسی میدانی و دامنه اسپایک‌های دسته جمعی را افزایش می‌دهد (۱۲، ۱۳).

آدنوزین در تنظیم فرآیندهای مغزی مانند خواب، هوشیاری، حفاظت نورون‌ها در برابر آسیب و صرع دخیل است. به طور کلی، آدنوزین در سیستم عصبی به عنوان یک نورومدولاتور که عموماً اثرات مهارتی دارد، شناخته شده است (۱۴). آدنوزین چهار نوع گیرنده دارد؛ گیرنده-های A₁، که فراوان‌ترین گیرنده‌ها در مغز هستند. گیرنده-های A_{2A} پراکنش محدودی در مغز دارد و عمدتاً در استریاتوم و هسته اکومبیس مشاهده شده‌اند (۱۵)، اما در نواحی قشری نیز یافت می‌شوند و گیرنده‌های A_{2B} که در مغز پراکنش وسیعی دارند، به دلیل فقدان آگونیست و آنتاگونیست انتخابی این گیرنده، تاکنون اطلاعاتی در مورد نقش نورولوژیک این گیرنده در دست نیست (۱۶). گیرنده‌های A₃ پراکنش وسیعی در مغز دارند و باعث مهار اتصال آدنوزین به گیرنده‌های A₁ می‌شوند (۱۷، ۱۸).

در رابطه با نقش گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در صرع گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد. نتایج چند مطالعه اخیر نشان داده است که تزریق موضعی آگونیست A_{2A} صرع را تشدید می‌کند (۱۸، ۱۹) ولی در بیشتر مطالعات قبلی مشاهده شده است که آگونیست گیرنده-های A_{2A} تشنج را در چند مدل مهار می‌کند (۲۰-۲۳). برخی دیگر نیز نشان داده‌اند که این آگونیست‌ها نمی‌توانند بر روی تشنج مؤثر باشند (۲۴، ۲۵). بنابراین با توجه به اهمیت آدنوزین در محافظت نورون‌ها و روشن نبودن نقش گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در پیشرفت تشنجات ناشی از کیندلینگ، این مطالعه با هدف بررسی نقش گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در تشنجات ناشی از کیندلینگ مسیر پرفورانت طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی بر روی موش‌های

یک هفته پس از جراحی، حیوانات با شدت آستانه، تحریک می‌شدند. برای به دست آوردن شدت آستانه، ابتدا حیوان مورد نظر توسط جریانی با شدت ۵۰ میکروآمپر تحریک می‌گردید. فرکانس و مدت زمان تحریک به ترتیب ۵۰ هرتز و ۵ ثانیه و مدت زمان هر پالس ۱ میلی ثانیه بود. در صورتی که امواج متعاقب (حداقل به مدت ۱۰ ثانیه) ثبت می‌شدند، این شدت جریان به عنوان شدت جریان آستانه شناخته می‌شد. در غیر این صورت، به تدریج شدت جریان با فواصل ۵ دقیقه‌ای، هر بار ۱۰ میکروآمپر افزایش داده می‌شد، تا این که اولین امواج تخلیه متعاقب ثبت گردد. سپس حیوانات با این شدت جریان هر روز ۱۲ بار با فاصله زمانی ۵ دقیقه تا کیندل شدن کامل تحریک داده می‌شدند. مدت زمان تخلیه‌های متعاقب و مدت زمان لازم برای رسیدن به مراحل مختلف تشنج (مراحل ۱ تا ۵ بر اساس تقسیم‌بندی Racine) (۳۱) اندازه‌گیری می‌شد. این مراحل بدین ترتیب پس از تحریک به عنوان رفتار تشنجی ظاهر می‌شود:

(مرحله ۱) کلونوس یا انقباض عضلات صورت؛

(مرحله ۲) کلونوس عضلات گردن؛

(مرحله ۳) کلونوس یک‌طرفه اندام‌های جلویی؛

(مرحله ۴) کلونوس هر دو اندام جلویی و ایستادن روی اندام‌های عقبی؛

(مرحله ۵) کلونوس تمامی بدن و اندام‌ها و زمین خوردن حیوان.

روش تهیه دارو: داروها برای تزریق به داخل بطن جانبی مغز در مایع مغزی- نخاعی مصنوعی (حلال دارو) حل می‌شدند. مواد تشکیل‌دهنده حلال دارو عبارت بود از: NaCl (114mM), MgSO₄ (2mM), KCl (3mM), NaHCO₃ (26 mM), CaCl₂ (1mM), NaH₂PO₄ (1.25mM), Glucose (10mM) و پس از تهیه حلال دارو، برای تهیه دوزهای مختلف دارو، ابتدا مقدار مورد نیاز از ZM241385 (ZM)؛ خریداری شده از شرکت Tocris) به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده A_{2A} آدنوزین وزن

صحرائی انجام شد که ۲۴ سر موش در چهار گروه ۶ تایی به صورت تصادفی مورد مطالعه قرار گرفتند. روش کار به صورت زیر بود:

حیوانات: ۳۶ موش صحرائی نر (۴-۳ ماهه) که از انستیتو پاستور خریداری شده بود، در حیوان‌خانه با شرایط مناسب نور (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری می‌شد. حیوانات در قفس‌های منفرد که آزادانه به آب و غذا دسترسی داشته باشند، نگهداری می‌شدند. تمامی آزمایش‌ها در یک زمان (قبل از ظهر) انجام می‌شد تا دوره‌های زمانی شبانه روز اثری بر نتیجه آزمایش‌ها نداشته باشد.

جراحی حیوانات: به منظور جراحی، حیوانات با سدیم پنتوباریتال (۵۰ mg/kg داخل صفاقی) بیهوش شده و در دستگاه استرئوتاکس قرار داده می‌شدند. یک الکتروود دو قطبی در مسیر پرفورنت (با مختصات ۶/۹- میلی‌متر قدامی خلفی و ۴/۱- میلی‌متر جانبی نسبت به برگما و ۲/۵- میلی‌متر به سمت پایین نسبت به سخت شامه) و یک الکتروود تک قطبی در شکنج دنداندار (با مختصات: ۲/۸- میلی‌متر قدامی خلفی و ۱/۸ میلی‌متر جانبی نسبت به برگما و ۳-۲/۵ میلی‌متر به سمت پایین نسبت به سخت شامه) قرار می‌گرفت. موقعیت بطن جانبی راست (برای قرار دادن کانول راهنما) نیز مشخص می‌شد (بر حسب میلی‌متر: AP=-۰/۹، L=+۱/۵ نسبت به برگما و V=۳/۲ نسبت به سطح سخت شامه) (۲۶). الکتروودها (از جنس فولاد ضد زنگ با پوشش تفلون، قطر ۱۲۷ میکرومتر، شرکت A.M آمریکا) در تمام طول‌شان (بجز نوک) عایق بودند. دو الکتروود تک قطبی نیز به وسیله پیچ‌های متصل به آن‌ها به سطح جمجمه در لوب فرونتال محکم می‌شدند. در پایان کارگذاری الکتروودها و کانول راهنما پین‌های متصل به الکتروودها در داخل مادگی سوکت مخابراتی قرار داده می‌شد و سوکت توسط سیمان دندانپزشکی به روی سر حیوان متصل می‌گردید.

تحریک و ثبت (روش کیندلینگ سریع): حداقل

شده، در حجم معینی از حلال دارو حل می‌گردید و سپس با استفاده از pH متر و HCl یک نرمال، pH محلول در حد ۷/۲-۷/۴ تنظیم می‌شد.

روش تزریق دارو: برای تزریق دارو به داخل بطن جانبی، از لوله پلی اتیلنی PE-20 (ساخت شرکت Stoelting، آمریکا) که یک سر آن به سر سوزن ۲۷ G متصل شده بود، استفاده گردید. قبل از تزریق دارو، لوله مزبور و سرسوزن که ابتدا با آب مقطر استریل و سپس با داروی استریل شستشو داده می‌شدند، از دارو پر شده سپس لوله پلی اتیلنی به سرنگ هامیلتون متصل می‌گردید. در نهایت سرنگ هامیلتون در محل مخصوص بر روی دستگاه تزریق (Microsyringe pump؛ ساخت شرکت Stoelting آمریکا) قرار می‌گرفت و سرعت تزریق روی ۰/۵ میکرولیتر در ۲ دقیقه تنظیم می‌شد. به منظور استریل کردن، دارو از میکروفیلتر (۰/۲ μm) ساخت شرکت Scheicher & Schuell آلمان گذرانده شده و درون ظرف‌های شیشه‌ای استریل ریخته می‌شد. این کار در مجاورت شعله چراغ الکلی صورت می‌گرفت تا هوای محیط نیز استریل گردد. از حلال داروی استریل شده که pH آن تنظیم شده بود، به عنوان محلول شاهد استفاده می‌شد.

گروه‌های آزمایشی: حیوانات به چهار گروه

تقسیم‌بندی شدند:

- ۱- گروه کیندل (گروه کنترل نرمال)
 - ۲- گروه کیندل + حلال دارو (گروه کنترل شم)
 - ۳- گروه کیندل + تزریق ZM (۵۰۰ μM)
 - ۴- گروه کیندل + تزریق ZM (۲۰۰ μM).
- حیوان‌های گروه کیندل بر اساس پروتکل کیندلینگ سریع، تحریک داده می‌شدند و پارامترهای کیندلینگ ثبت می‌شد. تحریک حیوانات ۵ دقیقه بعد از تزریق حلال یا دارو (۱۸) صورت می‌گرفت. در هر گروه تعداد حیوانات ۶ سر می‌باشد.

بافت‌شناسی: در پایان هر آزمایش حیوان توسط

اتر، کاملاً بیهوش شده و پس از پرفیوژن با سالین و فرمالین، مغز آن خارج شده و به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت. آن‌گاه از محل الکتروود، برش‌گیری به عمل می‌آمد تا محل الکتروود مشخص شود. علاوه بر این با انجام رنگ آمیزی نیسل، میزان تخریب نورونی در محل ثبت مورد بررسی قرار می‌گرفت. در همه آزمایش‌ها، فقط موش‌هایی مورد ارزیابی نهایی قرار می‌گرفتند که جایگاه الکتروود در آن‌ها درست بود.

روش تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها بر اساس

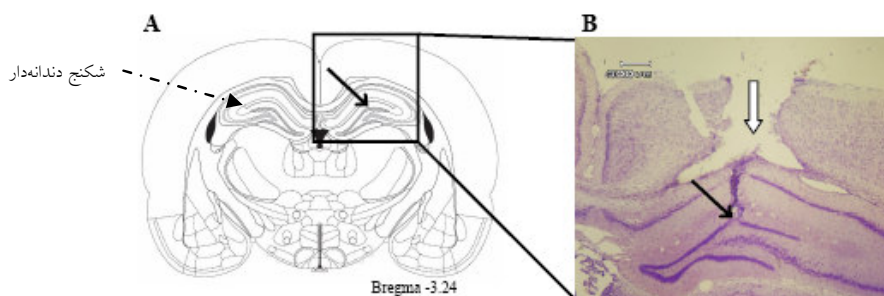
خطای استاندارد ± میانگین (SEM) بیان شده‌اند. از آزمون ANOVA و آزمون توکی برای مقایسه پارامترها در گروه‌های مختلف در روزهای مختلف با نرم افزار Statistica استفاده شده است. سطح معنادار آماری $P < 0/05$ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

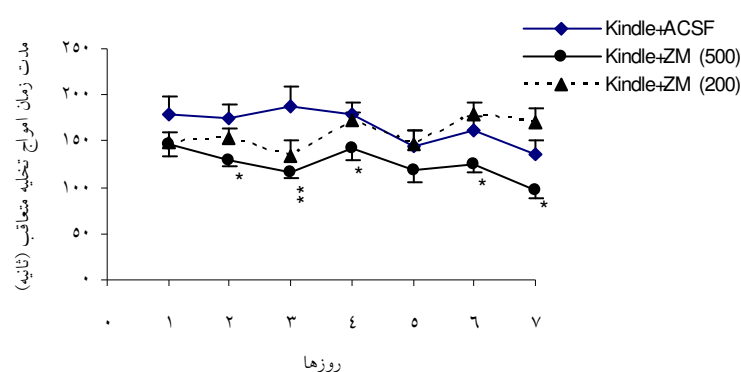
ارزیابی بافت‌شناسی نشان داد که الکتروودها در موقعیت خود (شکنج دنداندار) قرار داشتند (شکل ۱) و در محل تحریک هیچ‌گونه آسیب بافتی مشاهده نشد. اندازه‌گیری شدت آستانه در گروه کنترل نشان داد که هیچ اختلاف معناداری بین روزهای مختلف وجود ندارد. علاوه بر این، تزریق دارو اثر معناداری بر این پارامترها نداشت (داده‌ها نشان داده نشده است. $n=4$). شدت آستانه (بر حسب میکروآمپر) برای گروه‌های کنترل نرمال، کنترل شم، گروه کیندل+تزریق ZM (۵۰۰ μM) و گروه کیندل+تزریق ZM (۲۰۰ μM)، به ترتیب، $80 \pm 10/6$ ، $88/3 \pm 6/1$ و $90 \pm 7/4$ بود. آزمون ANOVA یک طرفه تفاوت معناداری را بین این کمیت‌ها نشان نداد. به عبارت دیگر، تحریک‌پذیری در گروه‌های مختلف در شروع آزمایش‌ها یکسان بود.

اثر تزریق ZM بر مدت زمان امواج تخلیه

متعاقب تجمعی: تزریق ZM با غلظت ۵۰۰ میکرومولار ۵ دقیقه قبل از تحریکات کیندلینگ انجام شد که کاهش



شکل ۱- (A): نمایی از برش کرنال در ناحیه شکنج دنداندار از اطلس پاکسینوس و واتسون (۲۶). (B) تصویر میکروسکوپ نوری از ناحیه شکنج دنداندار پس از رنگ آمیزی نیسل. الکتروود ثبت در ناحیه گرانولی شکنج دنداندار است.



شکل ۲: اثر تزریق آنتاگونیست گیرنده A_{2A} (ZM) بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب تجمعی از روز اول تا هفت روز بعد از تحریکات کیندلینگ. همان طور که در شکل مشاهده می شود مسدود شدن گیرنده های آدنوزینی A_{2A} توسط ZM با غلظت ۵۰۰ میکرومولار توانست مدت زمان امواج تخلیه متعاقب تجمعی تمام روزها را به استثنای روزهای اول و پنجم به طور معنی داری کاهش دهد. در صورتی که ZM با غلظت ۲۰۰ میکرومولار اثر معناداری بر مدت زمان امواج تخلیه متعاقب تجمعی نداشت. * نشان دهنده $P < 0.05$ و ** نشان دهنده $P < 0.01$ در مقایسه با گروه Kindle+ACSF است. داده ها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر می باشد.

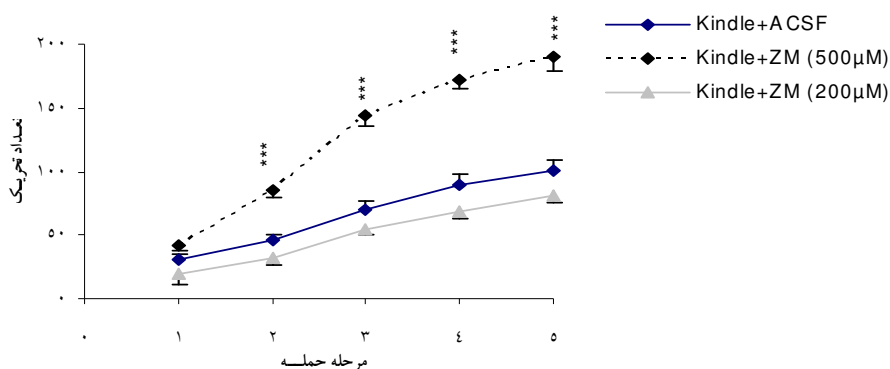
رسیدن به مراحل تشنج [$F(4,0) = 4.7, P < 0.01$]، نسبت به گروهی که حلال دارو دریافت کرده بودند (گروه کنترل شم)، مشاهده شد (شکل ۳). اما تزریق ZM با غلظت ۲۰۰ میکرومولار تفاوت معناداری در تعداد تحریکات لازم برای رسیدن به مراحل تشنج [$P = 0.05$]، $F(4,0) = 0.7$ (شکل ۳) ایجاد نکرد.

بحث

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که مسدود شدن گیرنده های A_{2A} موجب به تعویق افتادن روند کیندلینگ می شود. این نتایج در راستای برخی

معنی داری در مدت زمان امواج تخلیه متعاقب تجمعی [$F(6,0) = 2.5, P < 0.05$] نسبت به گروهی که حلال دارو دریافت کرده بودند (گروه کنترل شم) مشاهده شد. اما تزریق ZM با غلظت ۲۰۰ میکرومولار تفاوت معناداری در مدت زمان امواج تخلیه متعاقب تجمعی نسبت به گروه حلال دارو ایجاد نکرد [$F(6,0) = 1.8, P = 0.1$] (شکل ۲).

اثر تزریق ZM بر تعداد تحریکات لازم برای رسیدن به مراحل مختلف تشنج: تزریق ZM با غلظت ۵۰۰ میکرومولار ۵ دقیقه قبل از تحریکات کیندلینگ انجام شد که افزایش معناداری در تعداد روزهای لازم برای



شکل ۳: مهار گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} باعث کند شدن روند کیندلینگ شد. آزمون آنالیز واریانس دو طرفه و آزمون توکی نشان داد که تعداد متوسط تحریک برای کیندل شدن (مرحله ۵) یا مراحل دیگر تشنج به طور معناداری با تزریق ZM در گروه Kindel+ZM (500µM) افزایش یافت. همان‌گونه که در شکل مشاهده می‌شود ZM با غلظت ۲۰۰ میکرومولار اثری بر سرعت روند کیندلینگ ندارد. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین می‌باشد. *** نشان‌دهنده $P < 0.001$ در مقایسه با گروه Kindel+ACSF است. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر می‌باشد.

کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. البته همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد غلظت ۵۰۰ میکرومولار دارای این اثر است. کاهش امواج تخلیه متعاقب بیانگر کاهش شدت تشنجات و کاهش تحریک‌پذیری نورون‌ها است. بنابراین هنگامی که گیرنده‌های A_{2A} توسط آنتاگونیست اختصاصی آن مسدود می‌شوند، اثر آدنوزین اندوژن از طریق این گیرنده‌ها حذف می‌شود و در نتیجه تحریک‌پذیری نورون‌ها کاهش می‌یابد. در تأیید این نتایج، نشان داده شده است که فعال شدن گیرنده‌های A_{2A} در هیپوکمپ اثرات تحریکی ایجاد می‌کند (۲۷). علاوه بر این، مطالعات قبلی در همین آزمایشگاه نشان داده است که تزریق موضعی آگونیست A_{2A} به داخل ناحیه CA1 هیپوکمپ (۱۹) و یا قشر انتورینال (۱۸) حملات صرعی ناشی از مدل کیندلینگ را تشدید می‌کند. با این حال، در برخی مطالعات مشاهده شده است که آگونیست گیرنده‌های A_{2A} تشنج‌های ایجاد شده با مدل‌های مختلف آزمایشگاهی را مهار می‌کند (۲۳-۲۰) و جالب این‌که برخی دیگر نیز گزارش کرده‌اند که این آگونیست‌ها نمی‌توانند بر روی تشنج مؤثر باشند (۲۸، ۲۵، ۲۴).

در تحقیق دیگری نشان داده شده است که تزریق موضعی ZM به قشر انتورینال بر پارامترهای تشنجی ناشی از کیندلینگ قشر پیرفورم بی‌تأثیر است (۱۸). دلیل این

تحقیقات گذشته است که نشان دادند تزریق موضعی آگونیست A_{2A} حملات صرعی ناشی از مدل کیندلینگ را تشدید می‌کند (۱۹، ۱۸).

تشنج می‌تواند از هر ناحیه مغز شروع شود، ولی به طور عمده از هیپوکمپ و نواحی مجاور آن در لوب تمپورال منشأ می‌گیرد. تمایل هیپوکمپ به شروع تشنج به دلیل توانایی آن در ایجاد تقویت سیناپسی طولانی مدت (Long term potentiation) می‌باشد. وجود یک مدار داخلی یک طرفه تحریکی و محدود بودن نورون‌های مهاری در هیپوکمپ، این ناحیه را مستعد تولید فعالیت تشنجی کرده است (۵). با توجه به ارتباط آناتومیک و فیزیولوژیک شکنج دنداندار و مسیر پرفورنت بدیهی است که افزایش تحریک‌پذیری شکنج دنداندار، فعالیت صرعی نشأت گرفته از هیپوکمپ را تشدید می‌کند.

آدنوزین به عنوان یک نورومدولاتور در هیپوکمپ شناسایی شده است (۱۹). مطالعات متعددی اثرات تعدیلی آدنوزین را در مدل‌های مختلف تشنجی گزارش کرده‌اند (۱۷، ۱۵، ۱۴). تزریق آگونیست‌های A₁ عمدتاً اثرات مهاری داشته (۱۴) و آگونیست‌های A_{2A} اثرات ضد و نقیضی داشته است (۲۳-۱۸).

به دنبال تزریق آنتاگونیست گیرنده A_{2A} به داخل بطن جانبی حیوانات گروه کیندل، امواج تخلیه متعاقب

میکرومولار آنتاگونیست گیرنده آدنوزینی A_{2A} (ZM) تأثیر معنی داری بر پارامترهای تشنجی نداشت، بدین معنی که این غلظت برای مسدود کردن عمل آدنوزین (به واسطه گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A}) کافی نیست و آدنوزین درون زاد در این غلظت قادر به اثرگذاری می‌باشد. همان‌طور که قبلاً بیان شد تراکم گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در قشر (ناحیه شکنج دنداندار به عنوان یکی از نواحی قشری) نسبتاً زیاد نمی‌باشد (۱۵). در تأیید این نتایج مشخص شده است که میانگین تمایل (mean affinity) گیرنده‌های A_{2A} به آنتاگونیست اختصاصی آن (ZM241385) در حدود ۱ نانومولار است (۲۹). غلظت ۲۰۰ میکرومولار با حجم تزریق ۱ میکرولیتر در داخل مایع مغزی نخاعی غلظت کمتر از ۱ نانومولار را ایجاد می‌کند. بنابراین غلظت‌های بالاتر را برای مسدود کردن عمل آدنوزین نیاز دارد و همان‌طور که در این تحقیق نشان داده شد، غلظت ۵۰۰ میکرومولار قادر به انجام این کار است.

بنابراین با توجه به اثرات مهار آنتاگونیست گیرنده آدنوزینی A_{2A} (ZM241385) می‌توان این احتمال را مطرح کرد که این گیرنده‌ها بر پیشرفت تشنج‌های ناشی از کیندلینگ اثر تحریکی دارند. به بیان دیگر، گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} موجود در هیپوکمپ موجب پیشرفت و گسترش تشنج در زمان حمله صرعی می‌شود، اما برای پی بردن به مکانیسم‌های اثر این گیرنده‌ها به تحقیق بیشتری نیاز است.

همه تفاوت در نتایج تحقیقات از یک طرف به تفاوت تراکم گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} در نواحی مختلف مغز برمی‌گردد و از طرف دیگر به ارتباطات آناتومیکی و گسترش امواج تشنجی توسط مراکز رله‌کننده این امواج مربوط می‌شود. در گسترش امواج تشنجی علاوه بر کانون تشنج و نواحی حرکتی مغز مراکز حد واسطی وجود دارند که پس از دریافت امواج تشنجی از کانون تشنج، آن‌ها را تقویت و یا تعدیل و سپس تحویل نواحی حرکتی می‌دهند. بنابراین هم اختلاف در محل تحریک کیندلینگ (کانون تشنج) و هم تفاوت در تراکم گیرنده‌های آدنوزینی در مناطق مختلف مغز موجب به وجود آمدن جواب‌های مختلف می‌شود.

همان‌طور که شکل ۲ نشان می‌دهد، کاهش امواج تخلیه متعاقب در روز ۵ متعاقب تزریق ZM معنی‌دار نمی‌باشد. شاید یکی از دلایل آن این است که امواج تخلیه متعاقب در روزهای متوالی به مرور کاهش می‌یابد و چون اثر مسدود کردن گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} نیز کاهش امواج تخلیه متعاقب است. این اثر تا حدودی با اثر گذر روزها هم جهت است و باعث شود در روز ۵ به خوبی اثر دارو نشان داده نشود. دلیل دیگر آن شاید این باشد که چون پراکنش گیرنده‌های آدنوزینی کم است و با اعمال تحریکات کیندلینگ بیان گیرنده‌های آدنوزینی A_{2A} کاهش پیدا می‌کند (۱۷) اثر این گیرنده‌ها به مرور کم‌رنگ‌تر شود. همان‌طور که پیشتر گفته شد غلظت ۲۰۰

References

1. Delgado-Escueta AV, Wilson WA, Olsen RW, Porter RJ. New waves of research in the epilepsies: crossing into the third millennium. *Adv Neurol.* 1999; 79: 3-58.
2. Engel J Jr. Classifications of the International League Against Epilepsy: time for reappraisal. *Epilepsia.* 1998; 39: 1014-7.
3. Cohen AS, Lin DD, Quirk GL, Coulter DA. Dentate granule cell GABA_A receptors in epileptic hippocampus: enhanced synaptic efficacy and altered pharmacology. *Eur J Neurosci.* 2003; 17: 1607-16.
4. Ang CW, Carlson GC, Coulter DA. Massive and specific dysregulation of direct cortical input to the hippocampus in temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 2006; 26: 11850-6.

5. Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol.* 2004; 73: 1-60.
6. Loscher W, Ebert U. The role of the piriform cortex in kindling. *Prog Neurobiol.* 1996; 50: 427-81.
7. Corsellis JA, Bruton CJ. Neuropathology of status epilepticus in humans. *Adv Neurol.* 1983; 34: 129-39.
8. Adamec RE, McNaughton B, Racine R, Livingston KE. Effects of diazepam on hippocampal excitability in the rat: action in the dentate area. *Epilepsia.* 1981; 22: 205-15.
9. de Jonge M, Racine RJ. The development and decay of kindling-induced increases in paired-pulse depression in the dentate gyrus. *Brain Res.* 1987; 412: 318-28.
10. Maru E, Goddard GV. Alteration in dentate neuronal activities associated with perforant path kindling. I. Long-term potentiation of excitatory synaptic transmission. *Exp Neurol.* 1987; 96: 19-32.
11. Gilbert ME. Potentiation of inhibition with perforant path kindling: an NMDA-receptor dependent process. *Brain Res.* 1991; 564: 109-16.
12. Robinson GB, Scwabassi RJ, Berger TW. Kindling-induced potentiation of excitatory and inhibitory inputs to hippocampal dentate granule cells. I. Effects on linear and non-linear response characteristics. *Brain Res.* 1991; 562: 17-25.
13. Ruthrich H, Grecksch G, Krug M. Development of long-lasting potentiation effects in the dentate gyrus during pentylentetrazol kindling. *Int J Dev Neurosci.* 2001; 19: 247-54.
14. Dunwiddie TV. Adenosine and suppression of seizures. *Adv Neurol.* 1999; 79: 1001-10.
15. Haas HL, Selbach O. Functions of neuronal adenosine receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2000; 362: 375-81.
16. Daval J, Werck M. Autoradiographic changes in brain adenosine A₁ receptors and their coupling to G proteins following seizures in the developing rat. *Brain Res Dev Brain Res.* 1991; 59: 237-47.
17. Gupta YK, Malhotra J. Adenosinergic system as an endogenous anticonvulsant mechanism. *Indian J Physiol Pharmacol.* 1997; 41: 329-43.
18. Hosseinmardi N, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Shahabi P. The role of adenosine A₁ and A_{2A} receptors of entorhinal cortex on piriform cortex kindled seizures in rats. *Pharmacol Res.* 2007; 56: 110-7.
19. Zeraati M, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Namvar S, Rezvani ME. Adenosine A₁ and A_{2A} receptors of hippocampal CA1 region have opposite effects on piriform cortex kindled seizures in rats. *Seizure.* 2006; 15: 41-8.
20. De Sarro G, De Sarro A, Di Paola ED, Bertorelli R. Effects of adenosine receptor agonists and antagonists on audiogenic seizure-sensible DBA/2 mice. *Eur J Pharmacol.* 1999; 371: 137-45.
21. De Sarro A, Grasso S, Zappala M, Nava F, De Sarro G. Convulsant effects of some xanthine derivatives in genetically epilepsy-prone rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1997; 356: 48-55.
22. Huber A, Guttinger M, Mohler H, Boison D. Seizure suppression by adenosine A_(2A) receptor activation in a rat model of audiogenic brainstem epilepsy. *Neurosci Lett.* 2002; 329: 289-92.
23. Adami M, Bertorelli R, Ferri N, Foddi MC, Ongini E. Effects of repeated administration of selective adenosine A₁ and A_{2A} receptor agonists on pentylentetrazole-induced convulsions in the rat. *Eur J Pharmacol.* 1995; 294: 383-9.
24. Malhotra J, Gupta YK. Effect of adenosine receptor modulation on pentylentetrazole-induced seizures in rats. *Br J Pharmacol.* 1997; 120: 282-8.
25. Zhang G, Franklin PH, Murray TF. Activation of adenosine A₁ receptors underlies anticonvulsant effect of CGS21680. *Eur J Pharmacol.* 1994; 255: 239-43.
26. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press: 1986.
27. Vianna EP, Ferreira AT, Dona F, Cavalheiro EA, da Silva Fernandes MJ. Modulation of seizures and synaptic plasticity by adenosinergic receptors in an experimental model of temporal lobe epilepsy induced by pilocarpine in rats. *Epilepsia.* 2005; 46 Suppl 5: 166-73.

28. Rezvani ME, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y, Palizvan MR. Changes in neuromodulatory effect of adenosine A₍₁₎ receptors on piriform cortex field potentials in amygdala kindled rats. *Eur J Pharmacol.* 2007; 565: 60-7.
29. Kelly M, Bailey A, Ledent C, Kitchen I, Hourani S. Characterization of [3H]ZM 241385 binding in wild-type and adenosine A_{2A} receptor knockout mice. *Eur J Pharmacol.* 2004; 504: 55-9.