

اثر حفاظتی گوانوزین در مقابل اثر سمی دیازینون بر آستانه تحریک الکتریکی آمیگدال و اکتساب کیندلینگ در موش‌های صحرایی نر

حمیدرضا وکیلی^۱ MSc، مهدی صابری^{*} PhD

آدرس مکاتبه: گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی،

دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، تهران، ایران

m_s_saber@yahoo.com

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۸۸/۱۱/۷

تاریخ اعلام وصول: ۸۷/۸/۲۹

چکیده

اهداف. با توجه به اثر صرع‌زایی دیازینون و مصرف وسیع آن، پیشگیری و مقابله با این آثار اجتناب‌ناپذیر است. این مطالعه با هدف بررسی اثر حفاظتی گوانوزین در مقابل اثر سمی دیازینون بر آستانه تحریک الکتریکی و اکتساب کیندلینگ کامل در موش‌های صحرایی نر انجام شد.

روش‌ها. ابتدا موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار (۲۵۰-۳۵۰ گرم) تحت استرئوتاکسی قرار گرفتند و یک الکتروود سه قطبی در قاعده جانبی آمیگدال و دو الکتروود تک قطبی در سطح جمجمه آنها نصب شد. پس از بهبود، به مدت ۱۰ روز، آستانه تحریک الکتریکی تعیین گردید. سپس حیوانات به‌طور روزانه روغن زیتون (گروه کنترل)، گوانوزین خوراکی (۰/۵mg/kg)، دیازینون (۳۰mg/kg) یا هر دو را دریافت نمودند. به‌طور روزانه، آستانه تحریک، میزان تخلیه‌های متعاقب (ADD) و تعداد تحریکات لازم برای نیل به کیندلینگ کامل ثبت شد.

یافته‌ها. آستانه تحریک الکتریکی نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری پس از ۳۰ دقیقه توسط دیازینون کاهش و با گوانوزین افزایش یافت. پیش‌درمانی با گوانوزین تا حدودی و نیز پس‌درمانی، کاهش آستانه تحریک ناشی از دیازینون را به‌طور کامل مهار نمود. دیازینون سبب افزایش معنی‌دار ADD ثبت‌شده روزانه و نیز ADD تجمعی شد و درمان قبل یا بعد با گوانوزین، آن را مهار کرد. همچنین، تعداد تحریکات لازم برای نیل به کیندلینگ کامل توسط دیازینون کاهش یافت که گوانوزین نه تنها سبب مهار آن شد، بلکه خود به‌تنهایی نیز آن را افزایش داد. **نتیجه‌گیری.** احتمالاً گوانوزین به‌تنهایی نیز اثر ضدصرع دارد و می‌تواند اثر محافظتی مناسبی در مقابل آثار تشنج‌زای دیازینون ایجاد نماید.

کلیدواژه‌ها: دیازینون، کیندلینگ، آمیگدال، گوانوزین، تحریک الکتریکی

مقدمه

اثرات سموم ارگانوفسفره بر سیستم عصبی، آن چنان واضح است که نام عوامل اعصاب بر این سموم اطلاق شده است [۱]. گزارش سازمان منع گسترش سلاح‌های شیمیایی، مبنی بر ذخایر بالای گازهای اعصاب نسبت به سایر سلاح‌های شیمیایی و همچنین گزارش سازمان بهداشت جهانی، مبنی بر مسمومیت بیش از ۳ میلیون و مرگ‌ومیر ۳۰۰ هزار نفر در سال، ناشی از کاربرد غیرنظامی این سموم [۲]، اهمیت تحقیق درباره اثر این سموم، خصوصاً روی اعصاب انسان و پستانداران را دوچندان می‌نماید.

اثر سموم ارگانوفسفره بر اعصاب عمدتاً ناشی از مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز است که انهدام استیل‌کولین در فضای سیناپسی یا محل اتصال عصب-عضله را مهار کرده و موجب تداوم انتقال تحریکات عصبی و تحریک مداوم و بیش از حد گیرنده‌های نیکوتینی و موسکارینی می‌شود [۳]. افزایش استیل‌کولین در سیستم اعصاب مرکزی موجب اضطراب، تشنج و وقفه تنفسی می‌شود [۴، ۵، ۶، ۷، ۸]. مرگ در اثر مشکلات تنفسی ناشی از اثر توام عوارض نیکوتینی (فلج عضلات تنفسی)، عوارض موسکارینی (برونکواسپاسم و انسداد مجاری تنفسی) و عوارض CNS (وقفه مرکز تنفس) بر سیستم تنفسی رخ می‌دهد [۴، ۵]. بنزودیازپین‌ها نظیر دیازپام نیز در جهت کاهش عوارض CNS ارگانوفسفره‌ها استفاده می‌شود [۸، ۹].

دیازپینون از جمله سموم ارگانوفسفره است که اکثراً در تحقیقات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. گزارش‌هایی مبنی بر اثر حشره‌کش‌ها از جمله دیازپینون بر روی آستانه تحریک الکتریکی، ایجاد صرع، تشنج و تحریک CNS منتشر شده است [۱۰، ۱۱، ۱۲]. در تحقیقی که *ویناد* و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام دادند، نشان داده شد که تجویز خوراکی و داخل صفاقی نوکلئوزید گوانوزین، از تشنج‌های ناشی از کوئینولینیک‌اسید (QA) و آلفا دندروتوکسین، اختلال حافظه و اضطراب در موش‌های صحرایی نر و موش صوری جلوگیری کرده است [۱۳، ۱۴]. *بارون* و همکاران در سال ۱۹۸۹، و *لارا* و همکاران در سال ۲۰۰۱ مشاهده کردند که در محیط *زند*، تجویز پورین‌های با پایه گوانین (GBPS) داخل بطنی نخاعی (i.c.v.)، داخل صفاقی (IP) یا خوراکی (PO) از تشنج‌های ناشی از عوامل گلوتاماترژیک در موش‌ها جلوگیری کردند [۱۵، ۱۶]. به‌علاوه به‌نظر می‌رسد تجویز گوانوزین خوراکی با آنتاگونیست‌های سیستم گلوتاماترژیک در ارتباط باشد [۸]. بنابراین اثرات تجویز مزمن گوانوزین در موش‌ها قبلاً به‌طور وسیع گزارش شده است [۱۷].

هدف از این مطالعه، ارزیابی اثرات حفاظتی تجویز خوراکی گوانوزین در مقابل اثر سمی دیازپینون بر آستانه تحریک الکتریکی، طول تخلیه‌های متعاقب و اکتساب تشنج کامل در موش‌های صحرایی نر بود. در صورت تایید این اثر و نیز با تحقیقات بعدی، احتمالاً می‌توان گوانوزین خوراکی را به‌عنوان یک ماده بی‌خطر به‌جای بنزودیازپین‌ها در کنترل عوارض CNS سموم ارگانوفسفره پیشنهاد کرد.

روش‌ها

مواد و وسایل: گوانوزین از شرکت شیمیایی مرک آلمان، بیهوش‌کننده کتامین کلراید و گزایلازین ۲٪ از شرکت بایر آلمان خریداری شد. دیازپینون از موسسه گیاهپزشکی کشور ایران وابسته به وزارت جهاد کشاورزی تهیه گردید.

الکتروود: از جنس فولاد زنگ‌نزن با پوشش تفلونی (قطر ۰/۱ mm) ساخت شرکت AM-SYSTEM بود.

حیوانات: موش‌های نر بالغ از نژاد ویستار (۳۵۰-۲۵۰ گرمی)، ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی، در دمای ثابت (۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد) و در قفس‌های پلاستیکی (۵ تا در هر قفس) با آب و غذای آماده، در حیوان‌خانه نگهداری شدند. پروتکل ما برای آزمایشات بر روی حیوانات با کمترین آسیب و تعداد محدود تلفات طراحی شده بود.

جراحی حیوان و نصب الکتروود: موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۵۰-۲۵۰ گرم در حالت بیهوشی کامل، با کتامین (۵۰ mg/kg) و گزایلازین (۲٪) به‌صورت I.P با استفاده از دستگاه استرئوتاکسی، تحت جراحی قرار گرفتند و یک الکتروود سه‌قطبی در قاعده جانبی آمیگدال (مختصات ۲/۵ mm به عقب، ۴/۸ mm جانبی از برگما و ۷/۵ mm از سطح دورا پایین) و دو الکتروود تک‌قطبی در سطح جمجمه قرار داده شد. انتهای الکتروودها به سوکت مخابراتی ۵ کاناله وصل شد و سوکت، با استفاده از آکریل (سیمان دندانپزشکی) در سطح جمجمه فیکس گردید.

تحریک حیوان: پس از ریکاوری به‌مدت ۱۰ روز، ابتدا باید تحریک الکتریکی حیوانات توسط دستگاه استیمولاتور انجام و شدت جریان آستانه در هر حیوان مشخص می‌شد. لذا شدت جریان ۲۵ μA اعمال گردید. در صورت ایجاد تخلیه‌های متعاقب (AD) حداقل به‌مدت ۵ ثانیه، این شدت جریان به‌عنوان جریان آستانه تعیین شد. در صورت عدم موفقیت، شدت جریان را ۲۵ μA افزایش داده، پس از ۵ دقیقه تحریک دوم اعمال می‌شد. در صورت عدم جواب‌دهی، شدت جریان را هر بار به فواصل ۵ دقیقه به میزان ۲۵ μA افزایش داده تا اولین تخلیه‌های متعاقب ظاهر گردند. آن‌گاه حیوان، هر ۲۴ ساعت با شدت جریان آستانه تعیین شده، تحریک گردیده و به‌تدریج با تحریکات متوالی وارد مراحل بعدی (S_1-S_5) کیندلینگ می‌شد: الف- مراحل ۱ و ۲ (اسپاسم عضلات صورت، حرکات دهان و سر) ب- مرحله ۳ (کلونوس دست چپ با تحریک آمیگدال طرف راست) ج- مرحله ۴ (بلند شدن روی دو پا و کلونوس اندام‌های جلویی) د- مرحله ۵ (بلند شدن روی دو پا و از دست دادن تعادل) که با چند بار تکرار این مرحله (S_5) حیوان دچار کیندلینگ کامل می‌شد. با اعمال تحریک، بلافاصله ثبت نیز شروع شده و پارامترهای ذیل اندازه‌گیری شد: ۱- مراحل تشنجی (SS یا Seizure Stage) ۲- طول مدت تخلیه متعاقب (ADD) ۳- تعداد تحریکات لازم برای رسیدن به هر مرحله تا کیندلینگ کامل ۴- مدت تاخیر در شروع فاز ۴ پس از تحریک (S_4L)

۵- مدت مرحله ۵ تشنج [۱۸].

پارامترهای اکتساب تشنج کامل در حیوانات با کمک نرم‌افزار آنالوگ-دیجیتال (شرکت رایان طب نوان) توسط رایانه ثبت گردید.

آزمایشات: حیوانات در ۵ گروه ۴-۵ تایی به شرح زیر قرار گرفتند:

(۱) گروه کنترل: تنها آب خوراکی دریافت داشتند.

(۲) گروه دیازینون: ۰/۱cc دیازینون (۳۰mg/kg) محلول در روغن به صورت داخل صفاقی دریافت داشتند.

(۳) گروه گوانوزین: به مدت ۲۴ ساعت گوانوزین با غلظت (۳۰mg/kg) در آب خوراکی گرفتند.

(۴) گروه پیش‌درمانی: به مدت ۲۴ ساعت گوانوزین با غلظت (۳۰mg/kg) در آب خوراکی گرفتند و سپس یک دوز دیازینون (۳۰mg/kg) محلول در روغن به صورت داخل صفاقی دریافت داشتند.

(۵) گروه پس‌درمانی: ابتدا یک دوز دیازینون (۳۰mg/kg) محلول در روغن به صورت داخل صفاقی و سپس به مدت ۲۴ ساعت گوانوزین با غلظت (۰/۵mg/kg) در آب خوراکی دریافت کردند.

هر روز پارامترهای کیندینگ شامل آستانه تحریک، ADD، مراحل (S₁-S₅) و تعداد تحریکات لازم برای ورود به هر مرحله، قبل و نیم‌ساعت پس از تزریق دیازینون، ثبت می‌شد.

آنالیز آماری: با استفاده از نرم‌افزار Prisms 5 (Mean±SEM)، گروه‌ها محاسبه و کلیه داده‌ها براساس میانگین گروه کنترل به صورت درصد بیان شدند. آزمون KS نشان داد که داده‌ها در هر پنج گروه از توزیع نرمال تبعیت می‌کنند. گروه‌های تحت آزمایش با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه (ANOVA) و آزمون توکی مورد مقایسه قرار گرفتند.

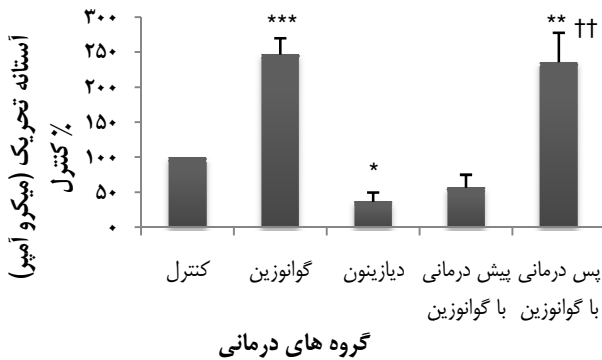
نتایج

اثر تجویز دیازینون بر آستانه تحریک الکتریکی: یک ساعت پس از تزریق دیازینون به صورت داخل صفاقی، آستانه تحریک الکتریکی در حیوانات گروه دیازینون نسبت به گروه کنترل، به طور معنی‌داری، کاهش یافت (p=۰/۰۱۸). کاهش آستانه تحریک بیش از ۱۷۷٪ مشاهده شد و از متوسط ۱۰۰ به ۳۶ میکروآمپر کاهش پیدا کرد. (نمودار ۱).

اثر مصرف گوانوزین بر آستانه تحریک الکتریکی: ۲۴ ساعت پس از آغاز مصرف گوانوزین خوراکی، آستانه تحریک الکتریکی در حیوانات گروه گوانوزین نسبت به گروه کنترل، به شکل معنی‌داری، افزایش یافت (p=۰/۰۰۹۵). افزایش آستانه تحریک بیش از ۱۴۵٪ مشاهده شد و از متوسط ۱۰۰ به ۲۴۵ میکروآمپر افزایش پیدا کرد (نمودار ۱).

اثر مصرف گوانوزین به صورت پیش‌درمانی بر آستانه تحریک الکتریکی: ۲۴ ساعت پس از آغاز مصرف گوانوزین خوراکی و نیم‌ساعت پس از تزریق داخل صفاقی دیازینون، آستانه تحریک الکتریکی در حیوانات گروه پیش‌درمانی، هم نسبت به گروه کنترل (P=۰/۲۹۶۹) و هم نسبت به گروه دیازینون، تفاوت معنی‌داری

نداشت. (P=۰/۴۵۲۰) هرچند افزایش آستانه تحریک در حد ۵۲٪ نسبت به گروه دیازینون مشاهده شد و از متوسط ۳۶ به ۵۵ میکروآمپر افزایش یافت (نمودار ۱).



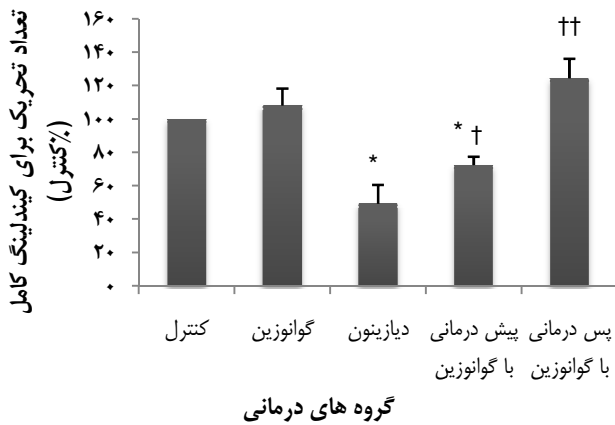
نمودار ۱) اثر محافظتی گوانوزین بر آستانه تحریک الکتریکی در موش‌های صحرایی نر در معرض دیازینون. داده‌ها % کنترل بوده، † نسبت به DZ و * نسبت به کنترل معنی‌دار است p < ۰/۰۵ و ** یا †† یا ††† p < ۰/۰۱.

اثر تجویز گوانوزین به صورت درمانی بر آستانه تحریک الکتریکی: ۲۴ ساعت پس از مصرف گوانوزین خوراکی که در پی تزریق داخل صفاقی دیازینون آغاز شده بود، آستانه تحریک الکتریکی در حیوانات گروه درمانی، هم نسبت به گروه کنترل (p=۰/۰۰۹۸) و هم نسبت به گروه دیازینون (p=۰/۰۰۴۸) به صورت معنی‌داری افزایش یافت. این افزایش تحریک، در حد ۵۶۶٪ مشاهده شد و از متوسط ۳۶ به ۲۴۰ میکروآمپر افزایش پیدا کرد (نمودار ۱).

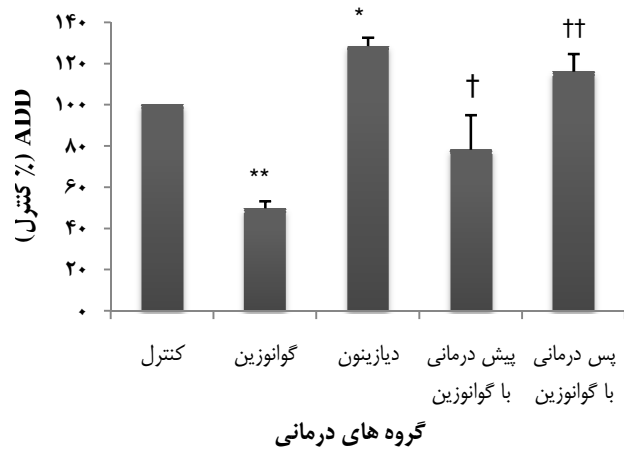
مقایسه تجویز گوانوزین به صورت درمانی و پیش‌درمانی بر آستانه تحریک: در گروه درمانی، افزایش آستانه تحریک الکتریکی، تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه پیش‌درمانی داشت. (p=۰/۰۲۲۵) این افزایش تحریک، در حد ۳۳۶٪ مشاهده شد و از متوسط ۵۵ به ۲۴۰ میکروآمپر افزایش یافت (نمودار ۱).

اثر تجویز دیازینون و گوانوزین بر طول تخلیه‌های متعاقب (ADD) در روز اول: نیم‌ساعت پس از تزریق دیازینون به دنبال تحریک الکتریکی، ADD حیوانات افزایش یافت، لیکن معنی‌دار نبود (p=۰/۴۶۳۵). در اثر مصرف گوانوزین به صورت خوراکی (۰/۵mg/kg) پس از ۲۴ ساعت، ADD، کاهش معنی‌دار یافت (p=۰/۰۴۳۷). ولی گوانوزین به صورت پیش‌درمانی، توانست به طور معنی‌داری افزایش ADD ناشی از دیازینون را مهار نماید (p=۰/۰۰۵). درمان با گوانوزین (پس از دیازینون) کاهش کمی در ADD ناشی از دیازینون ایجاد نمود (p=۰/۲۳۲۶)، هرچند بین دو گروه پیش‌درمانی و درمانی تفاوت معنی‌داری وجود داشت (p=۰/۰۴۹۱) (نمودار ۲).

اثر تجویز دیازینون بر ADD تجمعی ۱۰ روزه: دیازینون، تا حدودی، ADD تجمعی را افزایش داد که غیرمعنی‌دار بود (p=۰/۸۵۰۳). در اثر مصرف گوانوزین به مدت ۲۴ ساعت به صورت خوراکی، ADD تجمعی کاهش یافت (p=۰/۰۴۲۳۹). گوانوزین به صورت پیش‌درمانی و نیز درمانی ADD تجمعی را نسبت



نمودار ۴ تعداد تحریکات لازم برای کیندلینگ کامل در موش‌های صحرایی نر. داده‌ها % کنترل بوده، † نسبت به DZ و * نسبت به کنترل معنی‌دار است $p < 0.05$ یا †† یا ††† $p < 0.01$.

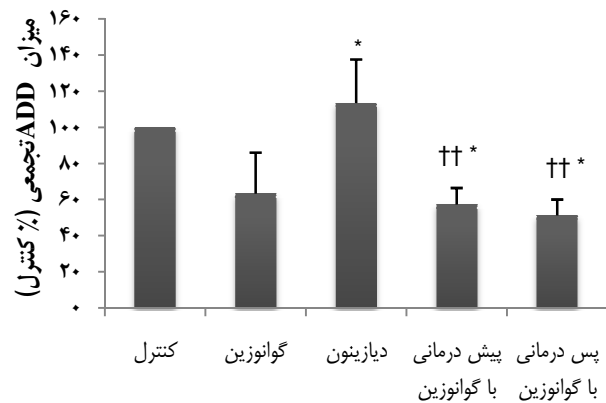


نمودار ۲ میزان تخلیه‌های متعاقب (ADD) در موش‌های صحرایی نر. داده‌ها % کنترل بوده، † نسبت به DZ و * نسبت به کنترل معنی‌دار است $p < 0.05$ و ** یا ††† $p < 0.01$.

به گروه دیازینون کاهش داد (به ترتیب $p = 0.045$ و $p = 0.0439$). در ضمن بین گروه پیش‌درمانی و درمانی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p = 0.6988$) (نمودار ۳).

بحث

در این تحقیق، با استفاده از مدل کیندلینگ الکتریکی آمیگدال، از جریان الکتریکی حداقل، در حد میکروآمپر برای تحریک آمیگدال استفاده شد و اثر حفاظتی و ضد تشنجی گوانوزین در مقابل اثر تحریکی مقادیر حداقل سمی دیازینون، به‌عنوان یک ارگانوفسفره مغز موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار گرفت. دوزهای به‌کاررفته دیازینون، در حدود حداقل سمیت، (3 mg/kg) به‌صورت داخل صفاقی بود. تجویز یک دوز با حداقل سمیت از دیازینون، در موش‌های صحرایی، سبب کاهش آستانه تحریک الکتریکی آمیگدال، افزایش طول تخلیه‌های متعاقب اولیه پس از ۳۰ دقیقه و نیز تعداد دفعات تحریک برای رسیدن به تشنج کامل در یک دوره ۱۰ روزه شد. این اثر نشان‌دهنده افزایش حساسیت و تحریک‌پذیری بیشتر هسته آمیگدال است. در گروه حیواناتی که از گوانوزین با دوز 0.5 mg/kg در آب خوراکی‌شان استفاده شده بود، افزایش آستانه تحریک الکتریکی آمیگدال به‌صورت معنی‌دار و در حد ۱۴۵٪ مشاهده شد، اما ۲۴ ساعت پس از مصرف، کاهش معنی‌داری در طول تخلیه‌های متعاقب اولیه و در یک دوره ۱۰ روزه و همچنین تعداد دفعات تحریک برای رسیدن به تشنج کامل، مشاهده گردید. این یافته‌ها دال بر آثار ضدصرعی گوانوزین هستند. در گروه حیواناتی که ۲۴ ساعت قبل از تزریق سم دیازینون، از گوانوزین به‌صورت پیش‌درمانی در آنها استفاده شده بود، افزایش آستانه تحریک الکتریکی معنی‌دار نبود و افزایش معادل ۵۲٪ نسبت به گروه دیازینون دیده شد که نشان‌دهنده اثر حفاظتی گوانوزین بر آستانه تحریک مغزی است. همچنین، افزایش طول تخلیه‌های متعاقب، چه اولیه و چه ۱۰ روزه و کاهش تعداد تحریکات لازم برای اکتساب تشنج کامل ناشی از دیازینون، توسط گوانوزین، مهار شد. هرچند استفاده از گوانوزین به‌صورت پس‌درمانی، افزایش معنی‌داری



نمودار ۳ میزان تخلیه‌های متعاقب (ADD) جمعیت طی ۱۰ روز در موش‌های صحرایی نر. داده‌ها % کنترل بوده، † نسبت به DZ و * نسبت به کنترل معنی‌دار است $p < 0.05$ و ** یا ††† $p < 0.01$.

اثر مصرف دیازینون بر تعداد دفعات آزمایش (تحریک) جهت اکتساب تشنج: بعد از تزریق دیازینون به‌صورت داخل صفاقی، تعداد دفعات تحریک لازم برای رسیدن به مرحله تشنج کامل کاهش یافت ($p = 0.031$). با تجویز گوانوزین، تعداد تحریکات لازم تا مرحله تشنج کامل، افزایش غیرمعنی‌دار یافت ($p = 0.7109$) (نمودار ۴). گوانوزین به‌صورت پیش‌درمانی افزایش غیرمعنی‌دار ($p = 0.0961$) داشت و به‌صورت درمانی، به‌طور معنی‌داری تعداد تحریکات لازم را تا مرحله تشنج کامل، افزایش داد ($p = 0.0332$). در مقایسه گروه پیش‌درمانی با درمانی تفاوت معنی‌داری یافت نشد ($P = 0.0691$) (نمودار ۴).

تحقیقات، در این خصوص، فقدان نتایج متضاد و نیز بی‌خطر بودن این ماده، می‌تواند استفاده درمانی از آن را در مسمومیت‌های ارگانوفسفره، احتمالاً به‌جای داروهای آرام‌بخش توجیه نماید.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج فوق و دوز خوراکی گوانوزین (۰/۵ mg/kg) در موش‌های صحرایی نر که در انسان هم می‌تواند موثر باشد، احتمالاً اثرات تشنجی افراد در معرض سموم ارگانوفسفات، خصوصاً دیازینون را می‌توان با این ماده ضد تشنجی کاهش داد و در ادامه تحقیقات، مکانیزم اثرات حفاظتی گوانوزین پیشنهاد می‌گردد.

منابع

- 1- Klaassen D, Amdur O, Doull J. Casarett and Doull's toxicology. 5th ed. New York: McGraw-Hill; 1995.
- 2- Opcw.org [homepage on the Internet. Netherlands: Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons, Inc.; c2000-02 [updated 2009 May 4; cited 2005 Dec 14]. Available from: <http://www.opcw.org>.
- 3- Carey N, Pope CN, Chakraborti TK. Dose-related inhibition of brain and plasma cholinesterase in neonatal and adult rats following sublethal organophosphate exposures. *Toxicology*. 1992;73:35-43.
- 4- Worek F, Koller M, Thiermann H, Szinicz L. Diagnostic aspects of organophosphate poisoning. *Toxicology*. 2005;214:182-9.
- 5- Slotkin TA, Seidler FJ. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate in vivo: Transcriptional response of pathways for brain cell development, cell signaling, cytotoxicity and neurotransmitter systems. *Brain Res Bul*. 2007;72:232-74.
- 6- Savolainen KM, Hirvonen MR. Second messengers in cholinergic induced convulsions and neuronal injury. *Toxicol Lett*. 1992;64:437-45.
- 7- Tuovinen K. Organophosphate induced convulsions and prevention of neuropathological damages. *Toxicology*. 2004;196:31-9.
- 8- Ford DA, Delaney J, Erickson TL. *Clinical toxicology*. New York: McGraw-Hill; 2001.
- 9- Weiss B, Amler S, Amler RW. Pesticides. *Pediatrics*. 2004;113:1030-6.
- 10- Wu HX, Erreux-Gors C, Descotes J. Diazinon toxicokinetics: Tissue distribution and anticholinesterase activity in the rat. *Biomol Environ Sci*. 1996;9:359-69.
- 11- Gilbert ME, Acheson SK, Mack CM, Crofton KM. An examination of the proconvulsant actions of pyrethroid insecticide using pentylentetrazol and amygdale kindling seizure models. *Neurotoxicol*. 1990;11:73-86.
- 12- Wurlpel JN, Hirt OC, Bidanset JH. Amygdal kindling in immature rats: Proconvulsant effect of the organophosphate insecticide chlorpyrifos. *Neurotoxicol*. 1993;14:429-36.
- 13- Vinade ER, Schmidt AP, Frizzo MES. Effects of chronic administered guanosine on behavioral parameters and brain glutamate uptake in rats. *J Neurosci Res*. 2005;79:248-53.
- 14- Vinade ER, Schmidt AP, Frizzo MES. Chronically administered guanosine is anticonvulsant, amnesic and anxiolytic in mice. *Brain Res*. 2003;977:97-102.
- 15- Baron BM, Dudley MW, McCarty DR. Guanine nucleotides are competitive inhibitors of N-methyl-D-aspartate at its receptor site both in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*. 1989;250:162-9.

در آستانه تحریک الکتریکی و تعداد دفعات آزمایش برای اکتساب تشنج کامل داشت، ولی در مورد طول تخلیه‌های متعاقب اولیه و ۱۰ روزه، تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه دیازینون نداشت.

تفاوت معنی‌دار، در گروه پیش‌درمانی و درمانی گوانوزین، می‌تواند به دلیل نیمه‌عمر گوانوزین و متابولیزم سریع آن در جوندگان باشد. این امر موجب می‌شود تا گوانوزین خوراکی در هنگام تزریق سم، به مقداری که منجر به حفاظت حیوان در برابر عوارض سمی دیازینون گردد، در دسترس نباشد. در نتیجه اثر سم بر آستانه تحریک و سایر پارامترهای تشنجی بیش از اثر گوانوزین بوده است و بنابراین افزایش آستانه تحریک و سایر پارامترهای تشنجی کمتر صورت گرفته است. اما هنگامی که گوانوزین، ۲۴ ساعت پس از تزریق سم و به صورت درمانی مصرف شد، علاوه بر این که اثر سم پس از ۲۴ ساعت مقداری کاهش یافته، گوانوزین کافی نیز برای تاثیر بر آستانه تحریک و سایر پارامترهای تشنجی در دسترس است. این فرضیه با توجه به نزدیکی نتایج گروه گوانوزین، با گروه درمانی نیز قابل تایید است.

دیوگو در سال ۲۰۰۱ مشاهده کرد که تجویز خوراکی گوانوزین، از تشنج‌های ناشی از کوئینولینیک‌اسید، تشنج‌ها و مرگ به دلیل آلفا دندروتوکسین جلوگیری کرده و این تشنجات را کاهش می‌دهد [۱۷]. در سال ۲۰۰۳ *ویناد* و همکاران پیشنهاد کردند که مکمل‌های خوراکی گوانوزین، شاید در درمان بیماری‌های مرتبط با سمیت‌زایی خارجی گلوتاماترژیک مثل شوک و بیماری‌های دژنراتیو عصبی مفید باشند، اما مکانیزم عمل گوانوزین، نامعلوم باقی ماند [۱۴]. گزارش تحقیقات تکمیلی *ویناد* و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان می‌دهد که دو هفته مصرف گوانوزین (۰/۵mg/kg) بدون آمادگی قبلی، تشنج‌های ناشی از QA را در موش‌های صحرایی نر کاهش می‌دهد [۱۳]. همچنین غلظت گوانوزین مایع مغزی- نخاعی (C.S.F) حیوانات درمان شده، با گوانوزین خوراکی نسبت به گروه شاهد، ۲ برابر بیشتر بوده است. *ویناد* نتیجه گرفت که گوانوزین خوراکی فعال است و به‌عنوان یک ترکیب فعال خوراکی بی‌خطر برای استفاده درمانی در انسان، به خوبی می‌تواند تحمل شود [۱۷].

در مورد مکانیزم فعالیت گوانوزین، مطالعه مذکور، فعالیت مستقیم آنتاگونیستی گوانوزین بر رسپتورهای گلوتاماترژیک را غیر محتمل می‌داند، چراکه گوانوزین، جایگزین ضعیف اتصالات گلوتامات است. به‌علاوه، نشان داده شده است که کافئین به‌عنوان آنتاگونیست آدنوزین، نمی‌تواند اثر گوانوزین روی تشنج‌های ناشی از QA را مهار نماید [۱۶]. همچنین گزارش‌ها حاکی است که رسپتورهای A1 و A2 آدنوزین، در این اثر دخالت ندارند [۱۷]. نتایج این تحقیق با تمامی مطالعات پیشین، درباره اثر حفاظتی مصرف خوراکی گوانوزین در مقابل صرع و تشنج [۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷] هم‌سو است و نشان می‌دهد که این اثرات حفاظتی در برابر عوارض عصبی سموم ارگانوفسفره نیز کارآمد است. بنابراین هرچند مکانیزم دقیق آثار حفاظتی گوانوزین همچنان مبهم است، اما یکسان بودن نتایج

17- Saberi M, Rezvanizadeh AR, Bakhtyarian E. The antiepileptic activity of *Vitex agnus castus* on amygdale kindled seizures in male rats. *Neurosci Lett*. 2008;441:193-6.

16- Lara DR, Schmidt AP, Frizzo MES. Effect of orally administered guanosine on seizures and death induced by glutamatergic agents. *Brain Res*. 2001;912(2):176-80.

Protective effect of Guanosine against Diazinon toxicity on after discharge threshold and kindling acquisition in male rats

Vakili H. R.¹, Saberi M.*

Address: "Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine" & "Research Center of Applied Neurosciences",
Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
m_s_saber@yahoo.com

Submission Date: 20/11/2008

Acceptation Date: 27/1/2010

Abstract:

Aims. Regarding to the epileptogenic properties of diazinon (DZ) and its widespread usages, prevention and conflict against these effects is indispensable. The this study was to evaluate the protective effect of guanosine against DZ toxic effects after discharge threshold and kindling acquisition in male rats.

Methods. At first, intact Wistar male rats (250-300g) were stereotaxically implanted with a tripolar and two monopolar electrodes in the amygdala and dura, respectively. After recovery, after discharge (AD) threshold was determined in each animal for 10 days. Then, the animals received either olive oil (control), oral guanosine (0.5mg/kg), DZ (30mg/kg) intraperitoneally, or both. AD threshold, after discharge duration (ADD) and number of trials for kindling acquisition were determined daily, 30 minutes post injections.

Results. The AD threshold was significantly reduced by DZ and increased by guanosine after 30 minutes compared to control group. Guanosine pretreatment partially and post-treatment completely inhibited the AD threshold reduction induced by DZ. Also, DZ could significantly increase the daily recorded ADD and also, cumulative ADDs which was inhibited with either pre- or post-treatment by guanosine. The number of trials (stimulations) for fully kindling acquisition was reduced significantly by DZ treatment which was blocked by guanosine post-treatment and guanosine.

Conclusion. While guanosine alone probably has antiepileptic effects, it can share a suitable protective effect against DZ induced epileptogenesis.

Keywords: Diazinon, Kindling, Guanosine, Amygdala, Electrical Stimulation