

Forskolin attenuates the paraoxon-induced hyperexcitability in snail neurons

Vatanparast J^{1,2}, Janahmadi M^{1*}, Sepehri H², Haeri-Rohani A² and Asgari AR³

¹Neuroscience Research Center and Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shaheed Beheshti Medical Sciences University, Tehran. ²Department of Biology, Faculty of Science, University of Tehran, Tehran. ³Chemical Injury Research Center, Baqiyatollah Medical Sciences University, Tehran, Iran.

Abstract

Introduction: Since organophosphorus compounds (OP) are toxic and designed to destroy insects and pest species, there are many hazards associated with their use. Although, the main target site of these compounds is acetylcholinesterase (AChE), however it has become increasingly evident that OPs have also other direct effects on cellular processes. In the present study, the effects of low concentrations of paraoxon and its interaction with forskolin, an activator of protein kinase A (PKA), were studied on Ca²⁺ spike configuration and frequency in neurons of snail *Caucasotachea atrolabiata*.

Methods: Subesophageal ganglia neurons were recorded in current clamp mode in Na⁺ free Ringer solution that contained voltage dependent potassium channel blockers, 4AP and TEA.

Results: Paraoxon (0.3-0.6 μM) decreased the duration of spontaneous Ca²⁺ spikes. This effect was seen with a suppression of single spike AHPs, leading to an increment in firing rate. Paraoxon induced hyperactivity appeared to be a consequence of decrease in Ca²⁺ influx during spikes which is the main determinant of AHP duration by activating Ca²⁺ dependent potassium channels. Forskolin (25 μM), in the absence of a significant change in spike duration, decreased the duration of single spike AHPs and increased the frequency of spikes. After forskolin application, paraoxon decreased the duration of Ca²⁺ spikes and AHPs, and increased the activity. However, these effects, especially on spike duration, were not as pronounced as in the absence of forskolin.

Conclusion: These findings suggest that although forskolin, similar to paraoxon, decreases the AHP and increases the frequency of spikes but it employs mechanism(s) different from paraoxon which also oppose the effects of paraoxon on Ca²⁺ spikes configuration and frequency.

Keywords: Paraoxon, Forskolin, Ca²⁺ spike, Neuronal activity, Snail.

* Corresponding Author Email: mjanahmadi@yahoo.com

فورسکولین تحریک‌پذیری ناشی از پاراکسان را در نورون‌های حلزون کاهش می‌دهد

جعفر وطن‌پرست^{۱*}، مهیار جان احمدی^{۲*}، حوری سپهری^۲، علی حائری روحانی^۲ و علیرضا عسگری^۳
۱- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی ۲- دانشگاه تهران، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی
۳- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی

دریافت: بهمن ۱۳۸۴ بازبینی: اسفند ۱۳۸۴ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۵

چکیده

مقدمه: ترکیبات سمی ارگانوفسفره (OP) جهت کنترل آفات بویژه حشرات تولید و مصرف می‌شوند که آلودگی‌های محیطی و مسمومیت افراد را نیز به دنبال دارند. اگرچه آنزیم استیل‌کولین استراز (AChE) مهمترین ناحیه اثر این ترکیبات است بااینحال شواهد روز افزونی حاکی از تاثیر آنها بر روندهای مختلف سلولی است. در این تحقیق اثرات غلظت‌های پایین پاراکسان (Paraoxon) و برهمکنش آن با فورسکولین (forskolin)، یک فعال‌کننده پروتیین کیناز A (PKA)، بر روی ویژگی‌های کمی اسپایک‌های کلسیمی و فرکانس آنها در نورون‌های حلزون مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها: با استفاده از تکنیک Current clamp نورون‌های گانگلیون تحت‌مری در رینگری فاقد سدیم و حاوی مهارکننده‌های کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ (TEA و 4-AP) مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: پاراکسان ($0.3-0.6 \mu\text{M}$) مدت اسپایک‌های کلسیمی را کاهش داد. این اثر با کاهش مدت AHP متعاقب اسپایک‌های واحد همراه بود که افزایش فرکانس اسپایک‌ها را به دنبال داشت. بنظر می‌رسد کاهش ورود کلسیم در طی اسپایک‌های کلسیمی، که با فعال کردن کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم تعیین کننده مدت AHP است، افزایش فعالیت نورون‌ها در حضور پاراکسان را باعث می‌شود. فورسکولین ($25 \mu\text{M}$) بدون تغییر معنی‌دار در مدت اسپایک‌ها، مدت AHP را کاهش و فرکانس آنها را افزایش داد. در حضور فورسکولین، پاراکسان مدت اسپایک‌های کلسیمی و AHP متعاقب را کاهش و فرکانس اسپایک‌ها را افزایش داد ولی این اثرات بویژه بر مدت اسپایک‌ها کمتر از اثرات پاراکسان در غیاب فورسکولین بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌کند اگرچه فورسکولین، همانند پاراکسان، مدت AHP را کاهش داده و فرکانس را افزایش می‌دهد ولی مکانیسم(های) متفاوتی از اثر پاراکسان بکار می‌گیرد که تا حدودی با اثرات پاراکسان بر ویژگی‌های اسپایک‌های کلسیمی و فرکانس آنها مقابله می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پاراکسان، فورسکولین، اسپایک کلسیمی، فعالیت نورونی، حلزون.

مقدمه

بسیاری از عوارض حاد محیطی (مانند فلج عضلات ارادی بویژه دیافراگم) فعالیت شدید سیستم اتونوم (انقباض برونشها، ترشح غدد و مجاری مختلف، اختلالات قلبی و عروقی) و نیز برخی اثرات مرکزی (مانند عدم هوشیاری، صرع، و قطع مرکزی تنفس) را تا حد زیادی توجیه می‌کند [۲۲ و ۳۱]. بااینحال مهار AChE توجیه کننده تمام اختلالات نورولوژیک ناشی از مجاورت با ارگانوفسفره‌ها نمی‌باشد. ناکارائی تیمارهای رایج در حذف کامل اثرات حاد ترکیبات ارگانوفسفره موید وجود مکانیسم‌های دیگر برای عملکرد آنها در سیستم عصبی است.

شواهدی وجود دارد که برخی ارگانوفسفره‌ها حتی در غلظت‌های بسیار پائین با اهداف مولکولی واقع در CNS برهم‌کنش دارند. کمپلکس گیرنده-کانال استیل‌کولین، برخی از کانال‌های یونی و نیز مسیره‌های

استفاده گسترده از ترکیبات ارگانوفسفره بعنوان حشره‌کش در کشاورزی، دامپروری و حتی مصارف خانگی، مجاورت و مسمومیت با آنها را بویژه در مناطق روستائی شایع ساخته است. پاراکسان، متابولیت فعال ارگانوفسفره پاراتیون (Parathion)، بعنوان رایج‌ترین حشره‌کش از این گروه از مهمترین عوامل مسمومیت‌های کشنده بشمار می‌آید [۱۹ و ۳۰]. برای سالیان متمادی عوارض ناشی از مسمومیت با ترکیبات ارگانوفسفره به تاثیر اولیه آنها در مهار AChE نسبت داده می‌شود. این مکانیسم

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
mjnanhmedi@yahoo.com