

ارزیابی توانایی پرالیدوکسایم در مهار یا بازگرداندن اثر افزایشی پاراکسون بر روی پاسخ انقباضی عضله مخطط دو سر گردن جوجه به دنبال تحریک الکتریکی عصب

دکتر غلامرضا پورحیدری^۱، ناصر خدایی^۲، علیرضا شهریاری^۳

۱- گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) ۲- گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) ۳- مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

Title: Evaluation of antidotal effect of pralidoxime on prevention or reversal of a paraoxon- induced increasing response of chicken biventer cervices to electrical stimulation

Author(s): Poorheidari G, (PhD); Khodaei N, (MSc); Shahriary A, (MSc).

Introduction: One of the most toxic effects of organophosphate (OP) poisoning has been the paralysis of skeletal muscles that can lead to paralysis of respiratory muscles and death. However, oximes are the only antidotes available to reverse or prevent such toxic effects of OP insecticides and nerve chemical warfare agents.

Methods: In the present study, the effect of different concentrations of paraoxon (as an OP) on the function of skeletal muscle and reversal or prevention of these effects by an oxime (pralidoxime, 2-PAM) were studied in chicken biventer cervices nerve-muscle preparation using twitch tension recording technique. For this purpose, twitches of the biventer cervices were evoked by stimulating the motor nerve at 0.1 Hz with pulses of 0.2 msec duration and a voltage of greater than that required to produce maximum response. Twitches and contractures were recorded isotonicly using Narco Biosystems.

Results: The results showed that paraoxon (0.1 μM) induced a great increase (more than 100%) in the twitch amplitude, while higher concentrations (0.3 and 1 μM) could induce partial or total contractures. In this study, paraoxon at a concentration of 0.1 μM was used to examine the capability of pralidoxime to reverse or prevent its effects. Pralidoxime at doses of 300 and 100 μM almost fully reversed (when it was used as post treatment) or prevented (when it was used as pretreatment or at the same time as toxin) the effect of paraoxon. While oxime at doses of 30 and 10 μM could only reverse or reduce this effect to about 25 and 75% respectively, pralidoxime alone had no significant effect on the function of the muscle.

Conclusion: These results suggest that this method is of high value in studying the functional effects of OPs on skeletal muscle tissues and the reversal effects of antidotes, and pralidoxime by itself can fully reverse such effects.

Keywords: Paraoxon, pralidoxime, skeletal muscle, chicken.

Hakim 2006; 9(2):24 - 30.

* نویسنده مسؤل: دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی. تلفن: ۸۸۰۵۷۰۲۳ نمابر: ۸۸۰۵۷۰۲۳
پست الکترونیک: poorheidari@yahoo.com

چکیده

مقدمه: یکی از آثار مهم مسمومیت با ترکیبات ارگانوفسفره که به شکل حشره‌کش‌ها و یا عوامل شیمیایی نظامی استفاده می‌شوند، فلج عضلات اسکلتی مانند عضلات تنفسی است که می‌تواند منجر به مرگ شود. از طرف دیگر، اکسایم‌ها تنها آنتی‌دوت‌های کاربردی هستند که می‌توانند مانع از بروز این اثرات سمی بر روی عضلات مخطط شده و یا این اثرات را برگشت دهند. لذا بررسی و مطالعه اثرات آنتی‌کولین‌استرازهای ارگانوفسفره بر عملکرد عضلات مخطط و نیز اثرات آنتی‌دوتی اکسایم‌ها در برگرداندن این اثرات ضروری به نظر می‌رسد تا در کنار مطالعات آنزیماتیک بتواند اطلاعات بیشتری را در اختیار قرار دهد.

روش کار: در مطالعه حاضر، اثر غلظت‌های مختلف پاراکسون بر روی عملکرد عضله مخطط و همچنین مهار یا برگرداندن این اثرات بوسیله پرالیدوکسایم بررسی شد. به این منظور با استفاده از تحریک الکتریکی با فرکانس ۰/۱ هرتز و مدت زمان ۰/۲ میلی‌ثانیه و با ولتاژی بالاتر از ولتاژ مورد نیاز برای حداکثر پاسخ، تکانه‌های عضلانی منفرد در عضله دو سرگردن جوجه ایجاد شد و به صورت ایزوتونیک به وسیله دستگاه فیزیوگراف (نارکو) و نرم‌افزار طراحی شده ثبت گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که پاراکسون ۰/۱ میکرومولار افزایشی قابل توجه (بیش از ۱۰۰٪) را در دامنه تکانه‌ها ایجاد می‌کند و غلظت‌های بالاتر پاراکسون (۰/۳ و ۱ میکرومولار) موجب انقباض پایدار عضلانی می‌شوند. در ادامه آزمایش‌ها، غلظت ۰/۱ میکرومولار پاراکسون برای بررسی توانایی آنتی‌دوتی پرالیدوکسایم انتخاب شد. پرالیدوکسایم در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار تقریباً به طور کامل موجب مهار یا بازگرداندن اثر پاراکسون شد. در حالی که در غلظت‌های ۱۰ و ۳۰ میکرومولار تنها حدود ۲۵ تا ۷۵ درصد از این اثرات را مهار کرد یا برگرداند. پرالیدوکسایم در مقادیر فوق به تنهایی هیچگونه تأثیری بر عملکرد عضله نداشت.

نتیجه‌گیری: در مجموع آزمایش‌ها نشان می‌دهد که مطالعه اثرات ارگانوفسفره‌ها و آنتی‌دوت‌های آنها (اکسایم‌ها) با استفاده از روش به کار گرفته شده به خوبی قابل انجام بوده و پرالیدوکسایم صرف‌نظر از زمان تجویز آن، از توانایی خوبی در بازگرداندن یا مهار اثرات پاراکسون برخوردار است.

کل‌واژگان: پاراکسون، پرالیدوکسایم، عضله اسکلتی، جوجه.

مقدمه

مسمومیت با حشره‌کش‌های ارگانوفسفره مانند پاراتیون و مالاتیون از دیرباز یکی از موارد مسمومیت‌های حاد و کشنده را تشکیل می‌دهد و هنوز هم یکی از مسمومیت‌های رایج است (۲۰۱). گروهی از عوامل ارگانوفسفره مانند تابون، سارین، سومان و VX با هدف کاربردهای نظامی ساخته شده‌اند و از آنها در حملات تروریستی و جنگ‌ها (به خصوص در جنگ عراق علیه ایران که به طور وسیعی در سال‌های ۱۳۶۷-۱۳۶۲ به کار گرفته شد) مکرراً استفاده شده است (۴ و ۳). بنابراین، با توجه به گستردگی کاربرد و بالطبع مسمومیت‌های ناشی از حشره‌کش‌ها و آفت‌کش‌های ارگانوفسفره و همچنین احتمال به‌کارگیری مجدد عوامل طراحی شده جدید جنگی، افزایش

دانسته‌ها نسبت به عوارض حاد و تأخیری این گروه از سموم و یافتن پروتکل‌های علمی و آزمایشگاهی جهت مطالعه اثرات این عوامل به منظور سنجش شدت سمیت و یافتن آنتی‌دوت‌های مؤثر برای آنها ضروری است.

عوامل ارگانوفسفره، اثرات خود را به وسیله غیر فعال کردن آنزیم استیل‌کولین‌استراز^۱ اعمال می‌کنند. غیرفعال شدن این آنزیم، موجب تجمع استیل‌کولین در پایانه‌های سیناپسی و اتصالات عصبی و عضلانی می‌شود و در نتیجه باعث تحریک وسیع و شدید در گیرنده‌های کولینرژیک می‌گردد. تظاهرات ناشی از این تحریکات به سه گروه عمده اثرات بر اعصاب مرکزی، عضلات صاف و عضلات مخطط تقسیم می‌گردند.

^۱ AChE

مورد مطالعه قرار گرفته بود، در این روش که مبتنی بر عملکرد عضله است نیز بررسی شود. هدف مهم این مطالعه معرفی یک روش غیرآنزیماتیک در بررسی اثرات ارگانوفسفره‌ها و آنتی‌دوت‌های احتمالی آنها بود.

روش کار

برای بررسی الکتروفیزیولوژی انتقال عصبی - عضلانی از عضله دو سرگردن جوجه استفاده شد. جوجه‌های مورد استفاده در این مطالعه حدود ۱۲-۴ روز سن و ۳۷-۴۷ گرم وزن داشتند که تحت شرایط فیزیولوژیک تغذیه و نگهداری شدند.

ابتدا بوسیله یک دوز کشنده از اتر و سپس قطع وریدهای اصلی جوجه را کشته و بلافاصله عضله مورد نظر به همراه اعصاب مرتبط با آن جدا و در داخل حمام بافتی با حجم ۵۰ میلی‌لیتر محتوی محلول فیزیولوژی با ترکیب زیر قرار داده شد. بافت جدا شده با گاز کربوژن (۹۵٪ O₂ و ۵٪ CO₂) به طور مداوم هوادهی گردید. دمای محیط حمام بافتی ۳۲ °C و pH به میزان ۷/۲ تا ۷/۳ تنظیم شد (۱۰). ترکیب محلول بر حسب میلی‌مول عبارت بود از: NaCl, 118.4; KH₂PO₄, 1.2; glucose, 11.1; NaHCO₃, 25; CaCl₂, 2.5; MgSO₄, 1.4 و KCl, 4.7. عصب عضله با پالس‌های مربعی سوپراماکزیمال (ولتاژی بالاتر از ولتاژ مورد نیاز برای حداکثر پاسخ) و با فرکانس ۰/۱ هرتز و مدت زمان پالس ۰/۲ میلی ثانیه برای ایجاد تکانه‌های انقباضی منفرد تحریک شد. پاسخ‌های انقباضی به صورت ایزوتونیک از طریق یک ترانسدوسر و فیزیوگراف (نارکو) و در ادامه با یک نرم‌افزار طراحی شده، ثبت و ذخیره گردید (۱۱). پس از قرار گرفتن بافت در شرایط آزمایش برای رسیدن به شرایط یکنواخت و یکسان شدن ارتفاع تکانه‌ها و در واقع پایدار شدن وضعیت عضله، ۳۰-۱۵ دقیقه ثبت از تکانه‌های انقباضی انجام شد. سپس ارتفاع تکانه‌ها در دقیقه آخر به عنوان کنترل برای ادامه آزمایش در نظر گرفته شد.

مجموعه عصب و عضله در معرض غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۳، ۰/۱، ۰/۳ و ۱ میکرومولار) پاراکسون قرار داده شد و همزمان تکانه‌ها برای مدت حداقل ۶۰ دقیقه ثبت و از نظر تغییرات در ارتفاع نسبت به کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. از میان غلظت‌های مورد استفاده، غلظت ۰/۱ میکرومولار بهترین پاسخ عضلانی را برای بررسی اثرات آنتی‌دوتی پرالیدوکسایم از خود نشان داد که در ادامه آزمایش‌ها از این غلظت استفاده شد.

اثرات بر سیستم اعصاب مرکزی عمدتاً به صورت گیجی، اضطراب، بی‌قراری، سردرد، عدم تمرکز، تشنج و نارسایی تنفسی است. برای جلوگیری از اثرات مرکزی این عوامل از جمله مهار تشنج، از بنزودیازپین‌ها مانند دیازپام استفاده می‌شود (۵۳).

ارگانوفسفره‌ها در بسیاری از عضلات صاف باعث انقباض شده و اثرات متعددی را در بخش‌های مختلف بدن موجب می‌گردند که از آن جمله می‌توان به ضعف تطابق، کرامپ‌های شکمی و اسهال، تکرر ادرار، برونکواسپاسم و تنگی نفس اشاره کرد. این اثرات با استفاده از داروهای آنتی‌موسکارینی، مانند آتروپین و اسکوپولامین (در صورتی که به مقدار کافی تجویز شود) قابل کنترل هستند.

عضلات مخطط نیز در مقابل این عوامل دچار انقباض می‌گردند. عوارض ناشی از تحریک بیش از حد عضلات مخطط عبارتند از: فاسیکولاسیون و بلوک انتقال تحریک عصبی در محل اتصال عصب - عضله و نهایتاً فلج دیپلاریزان. برای برطرف کردن اثرات ارگانوفسفره‌ها بر عضلات مخطط که معمولاً با فلج عضلات تنفسی موجب نارسایی تنفسی می‌گردند و حتی نهایتاً می‌توانند موجب مرگ شوند (۶)، تنها دارو درمانی شناخته شده موجود، استفاده از احیاء کننده‌های کولین‌استرازی است. البته احیاء کننده‌های آنزیمی که عمدتاً اکسایم‌های مختلف مانند پرالیدوکسایم و ایدوکسایم می‌باشند (۸۷)، تنها در صورتی می‌توانند مؤثر واقع شوند که پیوند آنزیم و سم وارد شکل کاملاً پایدار خود و یا اصطلاحاً دچار پیری^۱ نشده باشد (۹). در مجموع یکی از معضلات جدی در درمان مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها، عدم وجود آنتی‌دوت مناسب برای برطرف کردن اثرات نیکوتینی ناشی از استیل‌کولین انباشته شده، است (۷).

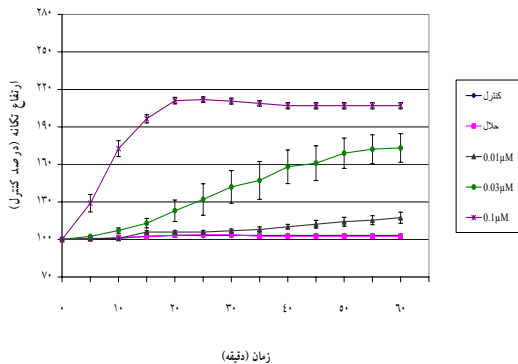
در این پژوهش تلاش گردید تا یک مدل بافتی آزمایشگاهی^۲ مناسب جهت بررسی اثرات سمی ارگانوفسفره‌ها بر عملکرد عضلات مخطط به دست آید که بتوان اثرات آنتی‌دوت‌های مختلف را بر کاهش یا مهار این اثرات سمی مورد بررسی قرار داد. در مرحله اول ارگانوفسففات پاراکسون که به عنوان حشره‌کش کاربرد داشته و در دسترس قرار دارد، مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد یک آنتی‌دوت شناخته شده (پرالیدوکسایم) جهت کاهش اثرات سمی پاراکسون به کار گرفته شد تا عملاً این مدل آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گیرد و از طرف دیگر پرالیدوکسایم که عمدتاً در آزمایش‌های آنزیماتیک

¹ Aging

² In-vitro

(۵۰ - ۳۰ دقیقه) به حالت پایه بازگشت. غلظت یک میکرومولار پاراکسون در تمامی موارد منجر به انقباض پایدار گردید.

به این ترتیب غلظت ۰/۱ میکرومولار پاراکسون که بدون ایجاد انقباض عضلانی پایدار، صرفاً موجب افزایش ارتفاع تکانه‌های عضلانی ثبت شده گردید و این افزایش به طور متوسط به بیش از ۱۰۰٪ می‌رسید، غلظت مناسبی جهت بررسی اثرات آنتی‌دوتی اکسایم‌های مختلف از جمله پرایدوکسایم تشخیص داده شد و در آزمایش‌ها این غلظت به کار گرفته شد.



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف پاراکسون بر ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از انقباض عضله پس از تحریک الکتریکی ارتفاع تکانه‌ها.

نقاط نشانگر میانگین ۶ آزمایش است که به همراه خطای استاندارد نشان داده شده است.

اثر غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم بر پاسخ عضله به تحریک الکتریکی عصب در این سری آزمایش‌ها، پرایدوکسایم در غلظت‌های ۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار به تنهایی هیچ تأثیری بر ارتفاع تکانه‌ها یعنی پاسخ عضله به تحریک الکتریکی عصب از خود نشان نداد.

بررسی اثر Pre-treatment غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم بر افزایش ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از پاراکسون در این سری آزمایش‌ها نشان داد، پرایدوکسایم در تمام غلظت‌های به کار گرفته شده و به صورت وابسته به دوز، موجب مهار حدود ۱۰۰-۴۰٪ اثر افزایشی پاراکسون می‌شود (شکل ۲).

غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار تقریباً به طور کامل مانع از اثر افزایشی پاراکسون شده و غلظت‌های ۱۰ و ۳۰ به ترتیب حدود ۴۰٪ و ۷۵٪ اثر افزایشی پاراکسون بر روی دامنه تکانه‌ها را مهار نموده است. اختلاف بوجود آمده از لحاظ آماری کاملاً معنادار بود ($p=0/000$).

تابستان ۸۵، دوره نهم، شماره دوم

پرایدوکسایم با غلظت‌های مختلف (۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار)، به صورت ۵ دقیقه قبل، همزمان^۲ و ۲۰ دقیقه بعد^۳ از پاراکسون و به تنهایی مورد آزمایش قرار گرفت و تکانه‌های عضلانی به‌عنوان پاسخ در مدت ۶۰ دقیقه ثبت گردید. داده‌ها که عبارت بودند از درصد ارتفاع تکانه‌ها نسبت به کنترل، با روش آنالیز واریانس دو طرفه- غلظت‌های مختلف داروها به‌عنوان متغیر بین آزمایش^۴ و زمان ۵، ۱۰، ۱۵ تا ۶۰ دقیقه به‌عنوان متغیر درون آزمایش^۵ - مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

زمانی که آنالیز واریانس دو طرفه تداخل معناداری بین زمان و نوع مداخله نشان داد، برای هر زمان مشخص یک آنالیز واریانس یک طرفه و در موارد لزوم یک تست بعدی^۶ که آزمون^۷ بود، انجام شد. تمامی آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ انجام و همواره مقدار p کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان تفاوت معنادار تلقی گردید. تعداد نمونه‌ها در هر مورد ۶ بافت بوده و کلیه داده‌ها به صورت میانگین و خطای استاندارد ارائه شده است.

یافته‌ها

اثر غلظت‌های مختلف پاراکسون بر پاسخ عضله به تحریک الکتریکی عصب در یک سری آزمایش، غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۳، ۰/۱، ۰/۳ و ۱ میکرومولار پاراکسون مورد استفاده قرار گرفت. پاراکسون در غلظت ۰/۱ و ۰/۰۳ میکرومولار به ترتیب باعث افزایش تدریجی (حدود ۱۵٪ و ۷۵٪) در ارتفاع تکانه‌های عضلانی تا پایان ۶۰ دقیقه گردید. پاراکسون با غلظت ۰/۱ میکرومولار تقریباً بلافاصله (پس از ۵ دقیقه) موجب افزایش قابل ملاحظه‌ای در ارتفاع تکانه‌ها شد که نهایتاً این افزایش در دقیقه ۲۰ به حداکثر (۱۰۵٪) رسید و تا دقیقه ۶۰ تقریباً در همان افزایش حداکثر باقی ماند (شکل ۱). هنگامی که پاراکسون به محیط اضافه نشد و یا فقط حلال آن به محیط اضافه گردید، هیچ تغییری در ارتفاع تکانه‌ها ایجاد نشد.

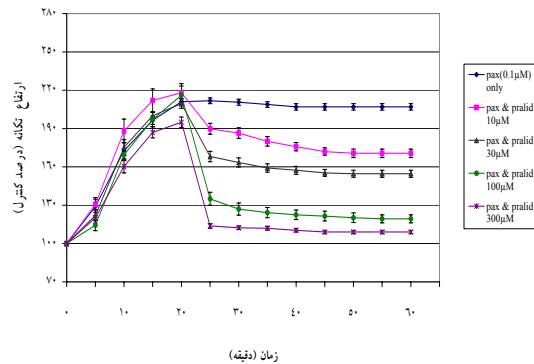
پاراکسون در غلظت ۰/۳ میکرومولار در دقیقه ۱۰-۵ باعث انقباض پایدار عضله گردید که این انقباض در مواردی (۴ از ۶ مورد) تا دقیقه ۶۰ پایدار بود و در مواردی پس از مدتی

¹ Pre-treatment
² Simultaneously
³ Post-treatment
⁴ Between subjects variable
⁵ Within subjects variable
⁶ Posthoc
⁷ Student newman keuls

نقاط نشانگر میانگین ۶ آزمایش است که به همراه خطای استاندارد نمایش داده شده است.

غلظت ۳۰۰ میکرومولار پرایدوکسایم مانع از بروز اثر پاراکسون گردید. در غلظت‌های ۳۰ و ۱۰۰ میکرومولار میزان مهار به ترتیب حدوداً ۷۵٪ و ۸۷٪ است که در پایان ۶۰ دقیقه نیز در هر دو غلظت حدود ۷٪ از اثر باقی مانده پاراکسون بازگردانده شده است. اختلاف بوجود آمده از لحاظ آماری معنادار بود. ($p=0/000$)

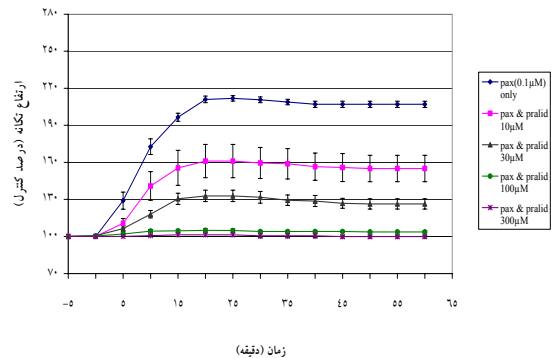
بررسی اثر Post-treatment غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم بر افزایش ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از پاراکسون در این سری آزمایش‌ها نشان داد، پرایدوکسایم در غلظت‌های ۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار افزایش پاسخ به پاراکسون را به صورت وابسته به غلظت کاهش می‌دهد؛ به طوری که غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار تقریباً به طور کامل این اثر را برگرداند (شکل ۴).



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم در برگرداندن اثر افزایشی پاراکسون (۰/۱ میکرومولار) بر روی ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از تحریک الکتریکی عصب هنگامی که ۲۰ دقیقه بعد از به کارگیری پاراکسون به محیط اضافه می‌شود. نقاط نشانگر میانگین ۶ آزمایش است که به همراه خطای استاندارد نمایش داده شده است.

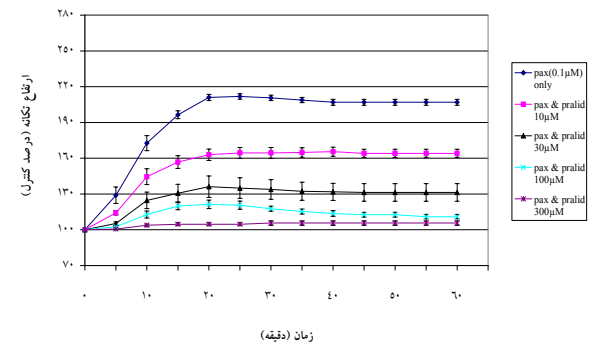
همان‌طور که در شکل ۴ مشخص است عمده اثر غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم که ۲۰ دقیقه پس از پاراکسون به محیط اضافه شد، در ظرف ۵ دقیقه (یعنی تا دقیقه ۲۵ آزمایش) مشاهده شد و پس از آن اثرات فقط اندکی بیشتر شده و یا تقریباً بدون تغییر باقی می‌ماند. اختلاف بوجود آمده از لحاظ آماری کاملاً معنادار بود. ($p=0/000$)

بحث



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم (2-PAM) در مهار اثر افزایشی پاراکسون (۰/۱ میکرومولار) بر روی ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از تحریک الکتریکی عصب هنگامی که ۵ دقیقه قبل از به کارگیری پاراکسون به محیط اضافه می‌شود. نقاط نشانگر میانگین ۶ آزمایش است که به همراه خطای استاندارد نمایش داده شده است.

بررسی اثر مصرف همزمان غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم بر افزایش ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از پاراکسون در سری آزمایش‌هایی که پرایدوکسایم به صورت همزمان با پاراکسون تجویز گردید، نشان داد پرایدوکسایم در تمام غلظت‌های ۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار موجب مهار حداکثر پاسخ به پاراکسون شده و در مجموع به صورت وابسته به دوز حدود ۹۵-۱۳٪ موجب مهار اثر پاراکسون شده است (شکل ۳).



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم در مهار اثر افزایشی پاراکسون (۰/۱ میکرومولار) بر روی ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از تحریک الکتریکی عصب هنگامی که به طور همزمان با پاراکسون به محیط اضافه می‌شود.

امکان پذیر گردید؛ در حالی که غلظت‌های پایین‌تر در مدت زمان مناسب، افزایش لازم در ارتفاع تکانه‌ها را موجب نشدند و غلظت بالاتر سبب انقباض پایدار کامل یا نسبی گردیده و ارتفاع تکانه‌ها را به نحو نامطلوبی تحت تأثیر قرار می‌دادند. البته به کار بردن غلظت‌هایی که انقباض پایدار طولانی‌مدت ایجاد می‌کنند و مطالعه اثرات اکسایم در آن شرایط نیز نتایج دیگری را به دست خواهد داد.

نتیجه‌گیری

پرایدوکسایم به دلیل اثرات اثبات شده احیاء کنندگی آنزیمی، انتخاب مناسبی برای ارزیابی روش به کار برده شده جهت بررسی احیاء کننده‌های احتمالی آنزیم استیل کولین استراز مهار شده با انواع آنتی کولین استرازهای ارگانو فسفره بود (۲۰-۱۷). هنگامی که پرایدوکسایم در غلظت‌های مختلف به تنهایی به کار برده شد، هیچگونه تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر عملکرد عضله (ارتفاع تکانه‌ها) از خود به جای نگذاشت.

نتایج به دست آمده از اثرات پرایدوکسایم نشان می‌دهد که در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار در هر سه روش قبل، همزمان و بعد، اثرات ناشی از پاراکسون (۰/۱ میکرومولار) تقریباً به طور کامل مهار یا بازگردانده شده است؛ ولی در غلظت‌های پایین‌تر، این اثرات آنتی دوتی به صورت وابسته به غلظت، کمتر بود. به این ترتیب، پرایدوکسایم احتمالاً با غلظت ۱۰۰۰ برابر یا بیشتر قادر خواهد بود، اثرات آنتی دوتی بسیار قابل قبولی را در برطرف کردن آثار نیکوتینی پاراکسون ۰/۱ میکرومولار ایجاد نماید. با مقایسه نتایج اثر مهاری پرایدوکسایم در روش تجویز قبل و همزمان، به نظر می‌رسد این اثر علاوه بر این که وابسته به دوز می‌باشد وابسته به زمان نیز است؛ یعنی هر چه سریع‌تر پرایدوکسایم اجازه مداخله یابد آثار پاراکسون را بهتر مهار می‌کند. با توجه به اینکه حداکثر پاسخ به پاراکسون در ۲۰ دقیقه پس از به کارگیری آن بود و از طرفی حداقل زمان مهار توسط پرایدوکسایم در کمترین غلظتش ۱۰ دقیقه است، برای جلوگیری از حداکثر اثر پاراکسون، بایستی پرایدوکسایم قبل یا بلافاصله پس از پاراکسون به محیط اضافه شود.

در مجموع نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهد که مطالعه اثرات ارگانو فسفره‌ها و آنتی دوت‌های آنها (اکسایم‌ها) با استفاده از روش به کار گرفته شده به خوبی قابل انجام است و پرایدوکسایم صرف نظر از زمان تجویز آن، قابلیت خوبی در بازگرداندن یا مهار اثرات پاراکسون از خود بروز داد.

عمده مطالعات انجام شده برای بررسی آثار مسمومیت با ارگانو فسفره‌ها، آنزیماتیک بوده و کمتر به آزمایش بر روی عملکرد فیزیولوژیک بافت‌ها^۱ پرداخته شده است (۳ و ۵ و ۶ و ۸ و ۱۴-۱۲). آنچه مسلم است برای مقابله مؤثرتر با آثار این مسمومیت‌ها، علاوه بر آزمایش‌های آنزیماتیک که با پی‌گیری وضعیت فعالیت آنزیمی به پیش‌بینی و انتخاب روش‌های درمانی می‌پردازد، بررسی عملکرد بافتی در مقابل اثرات سموم ارگانو فسفره و حتی سایر آنتی کولین استرازها با استفاده از یک روش^۲ ساده بسیار مهم بوده و بررسی و تحقیق در این زمینه را تسهیل می‌کند و سبب می‌شود که اطلاعات دقیق‌تر و عینی‌تری از اثرات سموم و آنتی دوت‌های مورد استفاده در اختیار قرار گیرد.

بر اساس مطالعات گذشته، استفاده از بافت عصب-عضله به کار گرفته شده در این مطالعه برای بررسی انتقال عصبی-عضلانی و عملکرد عضله با توجه به ویژگی‌های بافتی عضله دو سرگردن جوجه نسبتاً آسان و مطمئن است. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که پاسخ‌های عضلانی به دنبال اثر غلظت‌های مختلف پاراکسون و برگرداندن این اثرات بوسیله خواص آنتی دوتی پرایدوکسایم تکرار پذیر، معنادار و قابل اعتماد است و روش به کار گرفته شده برای بررسی اثرات کولینرژیک-نیکوتینی مواد مختلف بر عملکرد عضلات مخطط بسیار مناسب می‌باشد. بدیهی است معرفی این روش در مقابل روش‌های آنزیمی یک روش جایگزین به حساب آمده و اهمیت بسیاری دارد؛ ضمن این که بررسی نتایج به دست آمده به خودی خود هم از ارزش علمی بالایی برخوردار است.

به کارگیری غلظت‌های مختلف پاراکسون نشان داد که غلظت ۰/۱ میکرومولار ضمن اینکه حداکثر پس از ۲۰ دقیقه افزایش مناسبی (بیش از ۱۰۰٪) در ارتفاع تکانه‌ها ایجاد می‌کند، انقباض عضلانی پایدار ایجاد نمی‌کند و همین امر این امکان را فراهم می‌سازد که اثرات آنتی دوتی مواد مختلف از جمله اکسایم‌ها قابل بررسی شوند. بنابراین غلظت ۰/۱ میکرومولار پاراکسون می‌تواند به عنوان یک غلظت مرجع برای بررسی اثرات آنتی دوت‌های مختلف مورد استفاده قرار گیرد. در حقیقت هدف از به کارگیری غلظت‌های مختلف پاراکسون، یافتن غلظت مناسبی از آن بود که ضمن افزایش لازم در پاسخ به تحریک الکتریکی و افزایش ارتفاع تکانه‌ها موجب انقباض پایدار^۳ عضله نشود که این امر با به کارگیری غلظت ۰/۱ میکرومولار

¹ Functional

² Set up

³ Contracture

References

1. Peter JV, Cherian M. Review of insecticides. *Anaesth Intensive Care* 2000; 28:11-21.
2. Loke WK, Sim MK, Go ML. O-Substituted derivatives of pralidoxime: muscarinic properties and protection against soman effects in rats. *Eur J Pharma* 2002; 442: 279-87
3. Moore DH. Long term health effects of low dose exposure to nerve agent. *J Physiol* 1998; 92: 325- 8.
4. Balali-Mood M, Shariat M. Treatment of organophosphate poisoning: Experience of nerve agents and acute pesticide poisoning on the effects of oximes. *J Physiol* 1998; 92: 375-8.
5. Kassa J, Fusek J. The influence of anticholinergic drug selection on the efficacy of antidotal treatment of soman-poisoned rats. *Toxicol* 2000; 154: 67-73.
6. Santos RP, Cavaliere MJ, Puga FR, et al. Protective Effect of Early and Late Administration of Pralidoxime against Organophosphate Muscle Necrosis. *Ecotoxicol Environ Saf* 2002; 53: 48-51.
7. Singh G, Avasthi G, Khurana D, Whig J, et al. Neurophysiological monitoring of pharmacological manipulation in acute organophosphate (OP) poisoning. The effects of pralidoxime, magnesium sulphate and pancuronium. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998; 107: 140-8.
8. Luo C, Leader H, Radic Z, et al. Two possible orientations of the HI-6 molecule in the reactivation of organophosphate-inhibited acetylcholinesterase. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 387-92.
9. Johnson MK, Glynn P. Neuropathy target esterase (NTE) and organophosphorus-induced delayed polyneuropathy (OPIDP): recent advances. *Toxicol Lett* 1995; 82-83: 459-63.
10. Ginsborg BI, Warriner J. The isolated chick biventer cervicis nerve-muscle preparation. *Br J Pharmacol Chemother* 1960; 15: 410-1.
11. Poorheidari G. Potassium channel blockers: purification, pharmacological characterisation and effects on learning and memory. A Thesis for the degree of Doctor of Philosophy at the University of Strathclyde 1996; pp:43-50.
12. Barril J, Tormo N, az-Alejo N, et al. Organophosphorus inhibition and heat inactivation kinetics of particulate and soluble forms of peripheral nerve neuropathy target esterase. *J Biochem Toxicol* 1995; 10: 211-8.
13. Ray R, Boucher LJ, Broomfield CA, et al. Specific soman-hydrolyzing enzyme activity in a lonal neuronal cell culture. *Biochem Biophys Acta - General Subjects* 1988; 967: 373-81.
14. Cowan FM, Broomfield CA, Lenz DE, et al. Protective action of the serine protease inhibitor N-tosyl-L-lysine chloromethyl ketone (TLCK) against acute soman poisoning. *J Appl Toxicol* 2001; 21: 293-6.
15. Lallement G, Demoncheaux JP, Foquin A, et al. Subchronic administration of pyridostigmine or huperzine to primates: compared efficacy against soman toxicity. *Drug Chem Toxicol* 2002; 25: 309- 20.
16. Thompson HM. Esterases as markers of exposure to organophosphates and carbamates. *Ecotoxicology* 1999; 8: 369-384.
17. Johnson S, Peter JV, Thomas K, et al. Evaluation of two treatment regimens of pralidoxime (1 gm single bolus dose vs 12 gm infusion) in the management of rganophosphorus poisoning. *J Assoc Physicians India* 1998; 46(5): 493-4.
18. Patial RK, Kapoor D. Pralidoxime for reducing nicotinic cholinergic morbidity in organophosphate poisoning. *J Assoc Physicians India* 1998; 46: 668.
19. Zheng G, Song S, Li M. Comparison on effects between concentrated-dose and non-concentrated- dose pralidoxime chloride on respiratory muscle paralysis in acute organophosphorus pesticide poisoning. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2000; 39: 655-7.
20. Jeevarathinam K, Ghosh AK, Srinivasan A, et al. Pharmacokinetics of pralidoxime chloride and its correlation to therapeutic efficacy against diisopropyl fluorophosphate intoxication in rats. *Pharmazie* 1988; 43: 114-5.