پژوهنده (مجله پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي)
سال دوازدهم, شماره ۶ , پي در پي ۶۰ ، صفحات ۵۲۷ تا ۵۳۴
بهمن و اسفند ۱۳۸۶

تاريخ دريافت مقاله ۸۵/۱۰/۱۶
تاريخ پذيرش مقاله ۸۶/۶/۲۸

اثر پاراكسان بر عملكرد ترانسپورترهاي گابا در سيناپتوزم هاي مغز موش

دكتر اصغر قاسمي[1] *، دكتر احمد سديدي[2]، مسلم محمدي[3] ، دكتر علي خوش باطن[4]، دكتر عليرضا عسگري[5]

چكيده

سابقه و هدف: *پاراتيون يك تركيب ارگانوفسفره است كه مصرف فراواني به عنوان حشره كش دارد. پاراكسان نيز متابوليت پاراتيون است كه نشان داده شده برداشت گابا در سيناپتوزوم هاي كورتكس رت را مهار مي كند. هدف اين مطالعه بررسي مكانيسم هاي اثر مهاري پاراكسان بر برداشت گابا در سيناپتوزوم هاي كورتكس رت مي باشد.*

مواد و روش ها: *بعد از تهيه سيناپتوزوم مطالعات كينتيك جهت تعين اثر پاراكسان بر K_m و V_{max} برداشت گابا انجام شد. از استيل كولين و آنتاگونيست هاي آن (آتروپين و مكاميل آمين) براي ارزيابي وابستگي كولينرژيك برداشت گابا و از بتا آلانين و دابا براي تعيين نوع ترانسپورتر درگير در برداشت گابا استفاده گرديد.*

يافته ها: *بر اساس نتايج حاصل از اين مطالعه، پاراكسان به طور معني داري V_{max} برداشت گابا را كاهش مي دهد (۴/۲۳±۱۷۵/۲ در برابر ۲/۰۳±۸۰/۴ پيكومول به ازاي هر ميلي گرم پروتئين در دقيقه، $P<0.001$) در حالي كه اثر معني داري بر K_m آن ندارد (۱/۰۲±۹/۸۰ در برابر ۰/۹۲±۹/۰۹ ميكرومولار در گروه هاي پاراكسان و كنترل). دابا سبب كاهش معني دار برداشت گابا شد ($P<0.001$)، در حالي كه بتا آلانين اثري بر برداشت نداشت. استيل كولين اثري بر برداشت اعمال نكرد و آتروپين و مكاميل آمين نيز نتوانستند اثرات مهاري پاراكسان بر برداشت گابا را معكوس نمايند.*

نتيجه گيري: *در مجموع مي توان گفت كه پاراكسان يك آنتاگونيست غير رقابتي عمل برداشت گابا مي باشد كه مي تواند در پايانه هاي عصبي كينتيك برداشت گابا را متأثر كند. هم چنين مي توان نتيجه گيري كرد كه مهار برداشت گابا توسط پاراكسان مستقل از اثرات كولينرژيك آن است.*

واژگان كليدي: پاراكسان ، سيناپتوزوم ، برداشت گابا ، ترانسپورترها ، گابا ، ارگانوفسفره

مقدمه

پاراتيـون يک ترکيب ارگانوفسفره است که به عنوان حشره‌کش مصرف زيادي دارد (۱). به دليل پايداري پاراتيون در محيط‌هاي آبي، نسبت به ديگر عوامل ارگانوفسفره مسؤول بيش تـرين مسموميـت‌هاي تصـادفي مي‌باشـد (۲). پاراکسان فرآورده متابوليک پاراتيون است (۱) که سبب مهار آنزيم کولين استراز مي‌شود (۳). اگرچه مکانيسم اصلي اثر عوامل ارگانوفسفره مهار آنزيم کولين استراز است که منجر به تجمـع استيل کوليـن در سيسـتم‌هاي عصبي مرکزي و محيطي مي‌شود (٤)، تحقيقات اخير نشان مي‌دهد که مهار آنزيم کولين استراز تنها مکانيسم ايجاد سميت توسط اين عـوامـل نمي‌باشـد (۷-٤). در مورد پاراکسان پيشنهاد شده است که مکانيسم‌هاي غيـر کوليـنرژيک نيز در ايجاد سميت عصبي آن نقش دارند (۵).

يکـي از عـوارض مسـموميت با عـوامل ارگانـوفسـفره که نگراني‌هاي زيادي ايجـاد کرده، تشـنج مي‌باشد که تـا حدي به درمان هاي رايج مقاوم است (۸و۹). گفته شـده است کـه

۱ * . نويسنده مسؤول: پژوهشگر، مرکز تحقيقات غدد درون ريز و متابوليسم، دانشگاه علوم پزشکي شهيد بهشتي. آدرس براي مکاتبه: مرکز تحقيقات غدد درون ريز و متابوليسم، دانشگاه علوم پزشکي شهيد بهشتي، صندوق پستي ۱۹۳۹۵-٤۷٦۳ ، تلفن: ۲۲٤۰۹۳۰۱ ، دورنگار: ۲۲٤۱٦۲٦٤ . پست الکترونيک: **Ghasemi@erc.ac.ir**
۲ . عضو هيأت علمي، گروه جراحي مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکي بقيه الله (عج)
۳ . دانشجوي دکتراي فيزيولوژي، دانشگاه علوم پزشکي بقيه الله (عج)
۴ . استاد، گروه فيزيولوژي و بيوفيزيک، دانشگاه علوم پزشکي بقيه الله (عج)
۵ . استاد، گروه فيزيولوژي و بيوفيزيک، دانشگاه علوم پزشکي بقيه الله (عج)

سيستم هاي نوروترانسميتري ديگر علاوه بر سيستم کولينرژيک در تشنج ناشي از عوامل ارگانوفسفره نقش دارند (۱۰) که در بين آن ها سيستم گابانرژيک يکي از کانديداهاي اصلي مي‌باشد. Shih و همکاران گزارش کرده‌اند که تقريباً همه داروهايي که اثرات سودمندي در برابر تشنج ناشي از عوامل ارگانوفسفره دارند فعاليت مهاري سيستم گابانرژيک را افزايش مي‌دهند (۱۱). هم چنين نشان داده شده است که تعداد ترانسپورترهاي گابا در بافت هاي اپي‌لپتيک کاهش مي‌يابد (۱۲).

ما در مطالعه قبلي نشان داديم که پاراکسان با دوز ۱ ميلي‌مولار برداشت گابا در سيناپتوزوم هاي تهيه شده از کورتکس مغز موش صحرايي را مهار مي‌کند (۱۳). اما تاکنون اثر پاراکسان بر ترانسپورترهاي گابا بررسي نشده است. از سوي ديگر سيناپتوزوم ها پايانه‌هاي عصبي هستند که با حفظ خواص بيوشيميايي و مورفولوژيک مدل مناسبي براي بررسي عملکرد پايانه‌هاي عصبي ارائه مي‌دهند (۱۴و۱۵). بنابراين هدف اين مطالعه تعيين مکانيسم اثر مهاري پاراکسان بر برداشت گابا در سيناپتوزوم هاي مغز موش صحرايي مي‌باشد.

مواد و روش ها

گاباي نشاندار با تريتيوم (۸۶ کوري به ازاي هر ميلي‌مول) از شرکت آمرشام انگلستان، دي اتيل پاراکسان، اسيد نيپکوتيک، اسيد آمينواکسي‌استيک، گابا، بتاآلانين، اسيد دي‌آمينوبوتيريک و استيل تيوکولين از شرکت سيگماي آلمان و اسيد دي‌تيوبيس بنزوئيک و سرم آلبومين گاوي از شرکت فلوکا (سوئيس) تهيه شد. ديگر مواد نيز از شرکت مرک (آلمان) تهيه گرديد.

در اين مطالعه از موش‌هاي نر نژاد ويستار با محدوده وزني ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد که در دماي ۲±۲۲ درجه سانتي گراد و سيکل‌هاي ۱۲ ساعته نور و روشنايي نگهداري و حين مطالعه دسترسي آزاد به آب و غذا داشتند. آزمايش‌هاي انجام شده روي حيوانات مطابق با پروتکل‌هاي مصوب کميته اخلاق دانشگاه بود.

سيناپتوزوم ها با روش مصرفي شده توسط Raiteri و همکاران (۲۰۰۳) تهيه شدند (۱۶). در اين روش کورتکس مغزي جدا و در سوکروز ۰/۳۲ مولار (تهيه شده در بافر فسفات ۱۰۰ ميلي‌مولار، pH= ۷/٤) هموژن گرديد. به منظور حذف زوائد سلولي سوسپانسيون حاصل به مدت ۵ دقيقه در g ۱۰۰۰ سانتريفيوژ گرديد. سپس محلول رويي نيز به مدت ۲۰ دقيقه در g ۱۲۰۰۰ سانتريفوژ شد. رسوب حاصل که محتوي سيناپتوزوم ها بود در بافر استاندارد وارد شد که حاوي ترکيبات NaCl ۱۲۵، KCl ۳، $MgSO_4$ ۱/۲، $CaCl_2$ ۱/۲، $NaHCO_3$ ۲۲ $NaH2PO_4$ يك ميلي‌مولار بود و با گاز کربوژن (۹۵% اکسيژن و ۵% دي‌اکسيد کربن) در حد اشباع گاز دهي مي‌شد و pH آن در حد ۷/٤ تنظيم مي‌شد.

غلظت پروتئين به روش برادفورد اندازه‌گيري شد (۱۷) و از سرم آلبومين گاوي به عنوان استاندارد استفاده گرديد. فعاليت آنزيم لاکتات دهيدروژناز (LDH) براي اثبات تماميت غشاء سيناپتوزومي از احياء پيروات به لاکتات اندازه‌گيري گرديد (۱۸). فعاليت LDH سيناپتوزومي در حضور (فعاليت کل) وعدم حضور (فعاليت LDH آزاد) تريتون X-۱۰۰ يک درصد اندازه‌گيري و از تفاضل اين دو مقدار فعاليت LDH موجود در سيناپتوزوم ها محاسبه شد. فعاليت آنزيم استيل کولين استراز نيز با استفاده از روش المن که توسط Dietz و همکاران توصيف شده اندازه‌گيري گرديد (۱۹).

سيناپتوزوم ها (۰/۵ ميلي‌ليتر حاوي ۰/۵ ميلي‌گرم پروتئين) به مدت ۲۰ دقيقه با پاراکسان ۱ ميلي‌مولار يا بافر (در نمونه هاي کنترل) پري انکوبه شده و سپس به مدت ۱۰ دقيقه در دماي ۳۷ درجه سانتي گراد با گاباي ٤۰۰ نانو مولار (که ۱/۵% آن نشان دار بود) انکوبه شدند. در تمام مراحل آزمايش ها به منظور جلوگيري از تخريب گابا از اسيد

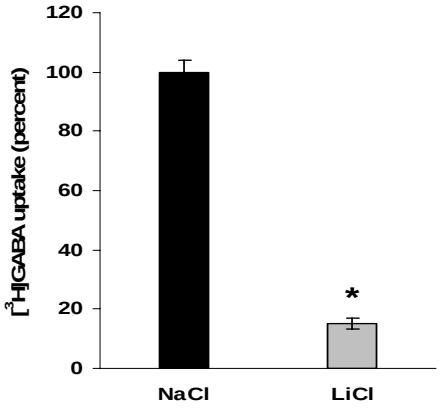
آمينو اكسي‌استيک (۱۰ ميكرومولار) استفاده گرديد. با اضافه كردن ۱ ميلي‌ليتر سالين سرد واكنش پس از ۱۰ دقيقه متوقف گرديد. سيناپتوزومها به مدت ۱۰ دقيقه دوبار در ۱۰۰۰۰g سانتريفوژ شـده و رسوب حاصـل در سولفات دودسيل سديم (SDS) ۱% حل گرديد. به هر نمونه سنتيلاتور اضافه و راديواكتيويته نمونه‌ها با استفاده از دستگاه بتاكانتر (بتاماتيک، ساخت كمپاني كونترون فرانسه) قرائت گرديد. براي به دست آوردن برداشت اختصاصي گابا، برداشت كل گابا از برداشت انجام شده در حضور اسيد نيپكوتيك ۵۰ ميلي‌مولار - كه يک مهـاركننده برداشـت گابا است - كسر گرديد. در تعدادي از آزمايش ها به جاي كلريد سديم، كلريد ليتيوم جايگزين شد تا وابستگي برداشت به ترانسپورترها روشن شود. به منظور تعيين نوع ترانسپورتر گابا نيز كه در برداشت گابا دخيل مي‌باشد از اسيد دي آمينوبوتيريك به عنوان يك مهاركننده برداشت گابا در نرون ها كه ترجيـحاً ترانسپورتر شماره ۱ گابا را مهار مي‌كند و بتا آلانين به عنوان يك مـهاركننـده برداشـت گـابـاي گلـيال كه عـمـدتاً ترانسپورترهاي شماره ۲ و ۳ گابا را مهار مي‌كند، استفاده گرديد. اين داروها ۵ دقيقه قبل از انجام آزمايش ها برداشت گابا به سيناپتوزوم ها اضافه شدند. آزمايش ها در اين مطالعه مربوط به سه سر موش صحرايي مي باشند كه به صورت سه تايي انجام شده اند.

V_{max} و K_m برداشت گابا در سيناپتوزوم ها با روش معرفي شده توسط Sutch و همكاران (۱۹۹۹) تعيين گرديد (۲۰) كه به طور مختصر براي انجام اين كار، برداشت گابا در يك غلظت ثابت از گاباي نشان دار و در حضور غلظت‌هاي فزاينده گاباي غير نشاندار (۰/۱ تا ۱۰۰ ميكرومولار) اندازه‌گيري گرديد.

نتايج به صورت ميانگين± خطاي معيار ارائه شده‌اند. آناليز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شده، به جز در مـورد تعـيين K_m و V_{max} كه از نـرم افـزار پرسـيم استفاده گرديد. مقايسه بين گروه‌ها برحسب نياز با استفاده از آزمون هاي t زوج، كروسكال- واليس توأم با تست من ويتني و آناليز واريانس دو طرفه انجام گرديد. مقدار P كم تر از ۰/۰۵ نيز معني‌دار در نظر گرفته شد.

يافته ها

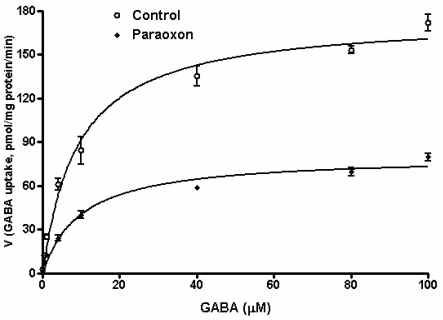
ميزان فعاليت آنزيم لاكتات دهيدروژناز برحسب درصد از فعاليت كل در سيناپتـوزوم ها ۱±۸۷% بـود كـه بـه طـور معني‌داري بيش تر از فعـاليت LDH آزاد (۱±۱۳%) بود ($P<۰/۰۵$ و $n=۸$). پاراكسان در روشي وابسته به دوز سبب مهار فعاليت آنزيم استيل كولين استراز گرديد به طوري‌كه IC_{50} اين مهار ۸/۵ نانومولار بود. جايگزيني ليتوم‌كلرايد به جاي كلريد سديم نيز سبب كاهش قابل ملاحظه برداشت گابا تا حد ۱۵% گرديد ($P<۰/۰۰۱$ ، نمودار ۱).



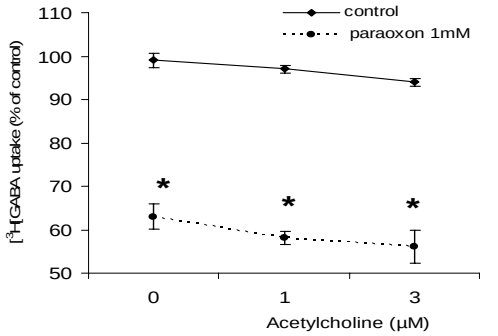
نمودار ۱. اثر جايگزيني كلريد ليتيوم به جاي كلريد سديم. اين جايگزيني سبب كاهش معني دار برداشت گابا گرديد ($P<۰/۰۰۱$) كه نشان دهنده وابستگي برداشت گابا به سديم مي‌باشد.

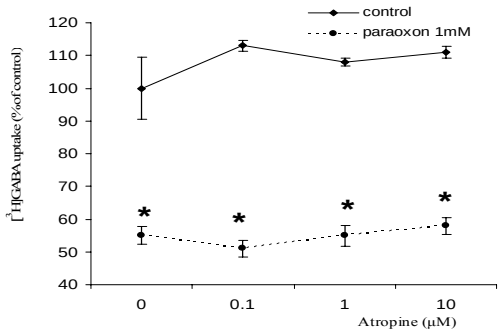
در گروه كنترل K_m برداشت گابا (۰/۹۲±۹/۰۹ ميكرومولار) تفاوت معني‌داري با گروه پاراكسان (۱/۰۲±۹/۸ ميكرومولار) نداشت. اما V_{max} از ٤/۲۳±۱۷۵/۲ پيكومول در دقيقه به ازاي هر ميلي‌گرم پروتئين در گروه كنترل به ۲/۰۳±۸۰/۳۵ در گروه پاراكسان افت نمود ($P<۰/۰۰۱$ ، نمودار ۲).

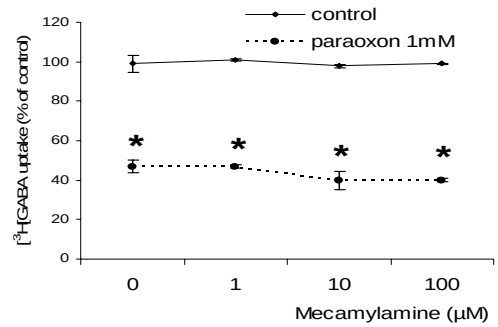
استيل كولين اثري بر برداشت گابا نداشت. از طرف ديگر آتروپين و مكاميل آمين نيز نتوانستند اثر مهاري پاراكسان بر برداشت گابا را معكوس كنند (نمودار ۳).



نمودار ۲- اثر پاراکسان بر K_m و V_{max} برداشت گابا در سيناپتوزوم ها؛ پاراکسان اثري بر K_m نداشت اما V_{max} را به طور معني داري کاهش داد ($P<۰/۰۰۱$).

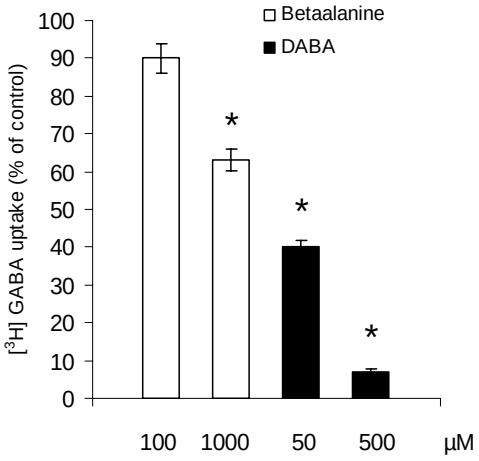






نمودار ۳- عدم وابستگي برداشت گابا به سيستم کولينرژيك؛ استيل کولين، آتروپين و مکاميل آمين اثري بر برداشت گابا در سيناپتوزومهاي کورتکس موش صحرايي نداشتند (* : نشاندهنده $P<۰/۰۰۱$ در مقايسه با گروه کنترل است).

بتاآلانين در دوز ۱۰۰ ميکرومولار اثري بر برداشت گابا نداشت ولي با دوز ۱۰۰۰ ميکرومولار برداشت گابا را به طور معني‌داري کاهش داد ($P<۰/۰۰۱$). اما دابا در دوزهاي ۵۰ و۵۰۰ ميکرومولار سبب کاهش معني‌دار برداشت گابا شد ($P<۰/۰۰۱$ ، نمودار٤).



نمودار ٤ - اثر بتا آلانين و دابا بر برداشت گابا توسط سيناپتوزوم ها؛ مهار ضعيف و قوي برداشت گابا به ترتيب توسط بتا آلانين و دابا نشان دهنده اين است که برداشت از طريق ترانسپورتر شماره ۱ گابا انجام شده است. (* : نشاندهنده $P<۰/۰۰۱$ در مقايسه با گروه کنترل است).

بحث

در اين مطالعه نشان داده شد که پاراکسان، برداشت گابا در سيناپتوزوم هاي کورتکس موش صحرايي را مهار مي‌کند و مکانيسم آن از طريق کاهش حداکثر سرعت برداشت از طريق ترانسپورترهاي شماره ۱ گابا است. تماميت غشای سيناپتوزوم ها با اندازه‌گيري LDH اثبات گرديد. همان‌طور که انتظار مي‌رفت پاراکسان سبب مهار وابسته به دوز فعاليت آنزيم استيل کولين استراز گرديد و برداشت گابا وابسته به سديم بود که اين مطلب در مورد ترانسپورترهاي گابا قبلاً گـزارش شـده است (۲۱). استويکيومتري وابستگي برداشت گابا توسط ترانسپورترها به سديم نيز به صورت ۱ گابا: ۲ سديم: ۱ کلر گزارش گرديد (۲۲). آزمايش های انجام شده در اين مطالعه بيان گر آن بود که جايگزيني کلريد ليتوم

به جـاي كلريـد سـديم برداشـت گابا را بـه طور معـني‌داري كاهش مي‌دهد كه اين مسأله تأييدي براي وابستگي برداشت گابا به سديم مي‌باشد كه توسط ساير محققين هم گزارش شده است (۲۳و۲٤). پاراكسان برداشت گابا را مهار كرد كه در تأييد اين مطلب Szilagyi و همكاران (۱۹۹۳) نشان داده‌اند كه تابون در غلظت‌هاي ۲-۱ ميلي مولار برداشت گابا در كورتكس خوكچه هندي را كاهش مي‌دهد (۲۵). هم چنين مطالعات كينتيك نشان داد كه كاهش V_{max} برداشت يكي از مكانيزم‌هاي اثر مهاري پاراكسان بر برداشت گابا مي‌باشد كه الگوي اين مهار يعني كاهش سرعت واكنش بدون اثر بر K_m ، نشان دهنده يك مهار غيررقابتي است. اين احتمال كه پاراكسان به طور مستقيم بر ترانسپورترهاي گابا اثر كرده يا در محل ديگري برداشت را مختل كرده است از نتايج اين مطالعه قابل استنتاج نيست. در اين مطالعه توزيع مجدد ترانسپورترهاي گابا بين سطح سلول و سيتـوپلاسـم به عنـوان يك مكانيـسم تنظيمي براي عملكرد ترانسپورترها در نظر گرفته شده است (۲٦). بنابراين مي‌توان پيشنهاد كرد كه پاراكسان از طريق وارد كردن ترانسپورترهاي گابا به سيتوپلاسم سبب كاهـش برداشـت گابـا مي شـود. Bahena-Trujillo و همكاران (۱۹۹۹) نيز گزارش كرده‌اند كه استرهاي فوربول سبب كاهش برداشت گابا در سيناپتوزوم هاي جسم سياه در مغز موش صحرايي مي شوند و كاهش V_{max} مكانيزم اين كاهش برداشت است (۲۷).

در ايـن مطالعـه استـيل كولين و آنتـاگونيـست هاي آن (آتروپين و مكاميل آمين) نتوانستند اثر پاراكسان بر برداشت گابا را تغيير دهند كه نشان مي‌دهد اثر پاراكسان در مهار برداشت گابا مستقل از سيستم كولينرژيك است، اگرچه دوز استفاده شده پاراكسان كاملاً آنزيم استيل كولين استراز را مهار مي‌كند (IC_{50}=۸/۵ nm). در مطالعه Rocha و همكاران (۱۹۹٦) بر روي اثر پاراكسان بر الكتروفيزيولوژي نرون هـاي كشـت داده شـده هيپـوكامـپ، اثر پاراكسـان بر رهايش ميانجي‌ها مستقل از سيستم كولينرژيك بيـان شـده است (۵۰). يك مطالعه اخير نيز نشان مي‌دهد كه افزايش فركانس پتانسيل‌هاي عمل خود به خـودي توسـط پاراكسان مسـتقل از مـهار كولين استـراز است (۲۸). ممكن است تعجب آور باشد كه پاراكسان در دوزي بالاتر از آن چه براي مهار فعاليت آنزيم استيل كولين استراز نياز است اثرات مستقيم بر ديگر اهداف خود اعمال مي‌كند. اما اين مسأله در مورد ديگر عوامل ارگانوفسفره نيز قبلاً گزارش شده است و گفته شده كه اهميت آن دانسته نيست (۲۹).

بر اساس نتايج اين مطالعه، ترانسپورترهاي شماره ۱ گابا در اين مدل نقش دارند. بتا آلانين كه يك مهاركننده برداشت گاباي گليالي است در دوز ۱۰۰ ميكرومولار كه براي مهار ۹۰ درصدي ترانسپورترهاي ۲ و ۳ گابا كافي است (۲۰) نتوانست برداشت گابا را مهار كند. از طرف ديگر دابا كه يك مهاركننده برداشت گاباي نروني است در دوز نزديك IC_{50} خود يعـني۵۰ ميكرومولار (۳۰) سبب كاهـش معني‌دار برداشت گابا شد. مهار قوي برداشت توسط دابا و مهار ضعيف آن توسط بتـاآلانيـن نشـان مي‌دهـد كه گـابـا از طريـق ترانسپورترهاي نروني (يعني ترانسپورتر شماره ۱ گابا) برداشت شده است.

تشنج يكي از عوارض نگران كننده مسموميت با عوامل ارگانوفسفره است (۸). ايجاد تشنج و مهار برداشت گابا توسط پاراكسان در نگاه اول متناقض به نظر مي‌رسد اما بايد به چند نكته توجه نمود: اول اين كه گزارش‌هايي وجود دارد كه برخي مواد علي رغم مهار قوي برداشت گابا تشنج ايجاد مي‌كنند كه يكي آن ها نوعي سم بنام Crotoxin است (۳۱)، دوم ايـن كـه مـهار برداشـت گـابـا مي‌تـوانـد اثـرات پيش تشنجي داشته باشد (۳۲) و سوم اين كه سيناپتوزوم ها در مقايسه با سيستم هاي دست نخورده حساسيت كم تري به داروها و سموم دارند كه اين تفاوت ها تا ۱۰۰۰ برابر گزارش شده است (۳۳). براساس اين واقعيات مي‌توان تصور نمود كه اگرچه پاراكسان در دوز ۱ ميلي مولار برداشت گابا در سيناپتوزوم ها را مهار كرده است اما ممكن است اين كـار

را در بدن در دوزهايي خيلي پايين تر انجام دهد. هم چنين گزارش‌ها نشان مي‌دهد كه به دنبال مسموميت با پاراكسان غلظت اين ماده مي تواند در مغز تا ۱۰ ميكرومولار بالا رود (۵).

در مجـموع نتايج اين مطالعـه نشـان مي‌دهـد كه سيستم گابانرژيك ممكنست به عنوان يك هدف در توليد تشنج ناشي از پاراكسان عمل كند. هم چنين مي‌توان نتيجه‌گيري كرد كه پاراكسان اثر خود بر مهار برداشت گابا را از طريق اثر بر كينتيك ترانسپورترهاي شماره ۱ گابا در پايانه‌هاي عصبي اعمال مي‌كند.

REFERENCES

1. Zhang C, Malhotra SV. Increased paraoxon detection by acetylcholinesterase inactivation with ionic liquid additives. Talanta 2005; 67: 560-3.
2. Taylor P. Anticholinesterase agents. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman & Gillman´s The Pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. McGraw Hill, 1996; P: 166-9.
3. Thierman H, Eyer P, Worek F, Szinicz L. Effects of oximes on muscle force and acetylcholinesterase activity in isolated mouse hemidiaphragms exposed to paraoxon. Toxicology 2005; 214: 190-7.
4. Weinbroum AA. Pathophysiological and clinical aspects of combat anticholinesterase poisoning. Br Med Bull 2004; 72: 119-33.
5. Rocha ES, Swanson KL, Aracava Y, Goolsby JA, Maelicke A, Albuqerque EX. Paraoxon: cholinesterase-independent stimulation of transmitter release and selective block of ligand-gated ion channels in cultured hippocampal neurons. J Pharmacol Exp Ther 1996; 278: 1175-87.
6. Nagata K, Huang CS, Song JA, Narahash T. Direct actions of anticholinesterases on the neuronal nicotinic acetylcholine receptor channels. Brain Res 1997; 769: 211-8.
7. Haywood PT, Karalliedde L. Management of poisoning due to organophosphorus compounds. Curr Anaesth Crit Care 2000; 11: 331-7.
8. Emerson GM, Gray NM, Jelinek GA, Mountain D, Mead HJ. Organophosphate poisoning in Perth, Western Australia, 1987-1996. J Emerg Med 1999; 17(2): 273-7.
9. Doctor BP, Saxena A. Bioscavengers for the protection of humans against organophosphate toxicity. Chem Biol Interact 2005; 157–158: 167–71.
10. McDonough JRJH, Shih TM. Neuropharmacological mechanisms of nerve agent-induced seizure and neurophathology. Neurosci Biobehav Rev 1997; 21: 559-79.
11. Shih TM, McDonough JrJH, Koplovitz I. Anticonvulsants for soman-induced seizure activity. J Biomed Sci 1999; 6: 86-96.
12. Bradford HF. Glutamate, GABA and epilepsy. Prog Neurobiol 1995; 47(6): 477-511.
13. Ghasemi A, Sadidi A, Khoshbaten A, Asgari A. Paraoxon inhibits GABA uptake in brain synaptosomes. Toxicol In Vitro 2007; 21(8): 1499-504.

14. Whittaker VP. The morphology of fractions of rat forebrain synaptosomes separated on continuous sucrose density gradients. Biochem J 1968; 106(2): 412-7.

15. Duarte A, Santos MS, Seica R, Oliveira CR. Oxidative stress affects synaptosomal gamma-aminobutyric acid and glutamate transport in diabetic rats: the role of insulin. Diabetes 2004; 53(8): 2110-6.

16. Raiteri L, Giovedi S, Benfenati F, Raiteri M, Bonanno G. Cellular mechanisms of the acute increase of glutamate release induced by nerve growth factor in rat cerebral cortex. Neuropharmacology 2003; 44: 390-402.

17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-54.

18. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood, ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2nd ed. WB Saunders Company. 1994; P: 812-8.

19. Dietz AA, Garry PJ, Madera-Orsini F, Strever BC. Colorimetric determination of serum cholinesterase and its genetic variants by the propionylthiocholine dithiobis (nitrobenzoic acid) procedure. Clin Chem 1973; 19: 1309-13.

20. Sutch RJ, Davies CC, Bowery NG. GABA release and uptake measured in crude synaptosomes from genetic absence epilepsy rats from Strasburg (GAERS). Neurochem Int 1999; 34: 415-25.

21. Palacin M, Estevez R, Bertran J, Zarzona A. Molecular biology of mammalian plasma membrane amino acid transporters. Physiol Rev 1998; 78: 969-1054.

22. Lu CC, Hilgemann DW. GAT1 (GABA: Na^+: Cl^-) cotransporter function, steady state studies in giant xenopus oocyte membrane patches. J Gen Physiol 1999; 114: 429-44.

23. Duarte A, Santos M, Seica R, Oliveira C. Effect of oxidative stress on the uptake of the GABA and glutamate in synaptosomes isolated from diabetic rat brain. Neuroendocrinology 2000; 72: 179-86.

24. Zhang Y, Liu GQ. Sodium and chloride-dependent high and low affinity uptakes of GABA by brain capillary endothelial cells. Brain Res 1998; 808: 1-7.

25. Szilagyi M, Gray PJ, Dawson RM. Effects of the nerve agents soman and tabun on the uptake and release of GABA and glutamate in synaptosomes of guinea pig cerebral cortex. Gen Pharmacol 1993; 24: 663-8.

26. Whitworth TL, Quick MW. Substrate-induced regulation of gamma-aminobutyric acid transporter trafficking requires tyrosine phosphorylation. J Biol Chem 2001; 276(46): 42932-7.

27. Bahena-Trujillo R, Arias-Montano JA. [^{3}H] gamma-aminobutyric acid transport in rat substantia nigra pars reticulata synaptosomes: pharmacological characterization and phorbol ester-induced inhibition. Neurosci Lett 1999; 274(2): 119-22.

28. Vatanparast J, Janahmadi M, Asgari A. The functional consequences of paraoxon exposure in central neurones of land snail, Caucasotachea atrolabiata, are partly mediated through modulation of Ca2+ and Ca2+-activated K+-channels Comp. Biochem Physiol 2006; 143: 464–72.

29. Lotti M. Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation. Clin Chem 1995; 41: 1814-8.

30. Wonnemann M, Singer A, Muller WE. Inhibition of synaptosomal uptake of 3H-L-glutamate and 3H-GABA by hyperforin, a major constituent of St. John's Wort: the role of amiloride sensitive sodium conductive pathways. Neuropsychopharmacology 2000; 23(2): 188-97.

31. Cecchini AL, Soares AM, Giglio JR, Amara S, Arantes EC. Inhibition of L-glutamate and GABA synaptosome uptake by crotoxin, the major neurotoxin from crotalus durissus terrificus venum. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis 2004; 10: 260-79.

32. Patrylo PR, Spencer DD, Williamson A. GABA uptake and heterotransport are impaired in the dentate gyrus of epileptic rats and humans with temporal lobe sclerosis. J Neurophysiol 2001; 85(4): 1533-42.

33. Dam K, Seidler FJ, Slotkin TA. Chlorpyrifos releases norepinephrine from adult and neonatal rat brain synaptosomes. Dev Brain Res 1999; 118(1-2): 129-33.