

پاسخ انقباضی عضله مخطط به پاراکسون و پراالیدوکسایم:

معرفی یک روش غیر آنزیمی

غلامرضا پورحیدری*** Ph.D.، ناصرخدایی** M.Sc.، علیرضا شهریاری*** M.Sc.، هدایت صحرایی** Ph.D.،
علی نوروززاده** M.Sc.، مهدی صابری* Ph.D.، ژیلا پیرزاده جهرمی*** M.Sc. و
علی خوش باطن** Ph.D.

آدرس مکاتبه: *دانشگاه علوم پزشکی بقیه...[©] - گروه فارماکولوژی و سم شناسی - تهران - ایران

**دانشگاه علوم پزشکی بقیه...[©] - گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک - تهران - ایران

***دانشگاه علوم پزشکی بقیه...[©] - مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی - تهران - ایران

خلاصه

یکی از اثرات سمی عوامل اعصاب جنگی و حشره‌کش‌های ارگانوفسفره فلج عضلات اسکلتی است که اغلب پس از فلج عضلات تنفسی حادث می‌گردد. از طرف دیگر، اکسایم‌ها تنها آنتی‌دوت‌هایی هستند که می‌توانند مانع از بروز این اثرات سمی بر روی عضلات مخطط گردیده و یا این اثرات را برگشت دهند. در این تحقیق یک روش ساده جهت بررسی اثرات آنتی‌کولین استرازهای ارگانوفسفره بر عملکرد عضلات مخطط و نیز اثرات آنتی‌دوتی اکسایم‌ها در برگرداندن این اثرات ارائه شده است. زیرا، این مطالعه آنزیماتیک قادر است، اطلاعات بیشتری را در اختیار قرار دهد. بر همین اساس پاراکسون به‌عنوان یک آنتی‌کولین استراز ارگانوفسفره و پراالیدوکسایم به‌عنوان یک اکسایم با اثرات ثابت شده و عضله دو سرگردن جوجه به همراه عصب مربوطه به‌عنوان یک عضله مخطط مناسب انتخاب و چند سری آزمایش صورت گرفت. مجموعه این آزمایشات نشان داد که پاراکسون به‌صورت وابسته به غلظت موجب افزایش قدرت انقباضی عضله می‌گردد، به‌نحوی که پاراکسون با غلظت ۰/۱ میکرومولار پاسخ عضله را به تحریک الکتریکی عصب به بیش از دو برابر افزایش داد. یافته قابل توجه این پژوهش آن بود که پراالیدوکسایم نیز به‌صورت وابسته به غلظت قادر به برگرداندن این افزایش پاسخ بود، به‌نحوی که در غلظت ۱۰۰ میکرومولار و بالاتر این افزایش پاسخ را تقریباً به‌طور کامل برگشت داد.

در مجموع، این مطالعه نشان داد که روش به‌کار گرفته شده، روش مناسبی جهت ارزیابی اثرات آنتی‌کولین استرازی مواد بر روی عملکرد عضلات مخطط و نیز ارزیابی آنتی‌دوت‌ها در برگرداندن این اثرات می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پاراکسون، پراالیدوکسایم، عضله مخطط، جوجه

مقدمه

عوامل اعصاب جنگی مانند تابون، سارین، سومان و VX که از ترکیبات ارگانوفسفاته‌ها می‌باشند در موارد متعددی در حملات تروریستی و جنگ‌ها (به‌خصوص در جنگ عراق علیه ایران که به‌طور وسیعی در سال‌های ۱۳۶۷ - ۱۳۶۲ شمسی، توسط رژیم معدوم صدام به‌کار گرفته شد) مورد استفاده قرار گرفته‌اند و مسمومیت‌های حاد و کشنده‌ای را ایجاد نموده‌اند [۱، ۲]. همچنین مسمومیت با حشره‌کش‌های ارگانوفسفره مانند پاراتیون و مالاتیون از دیرباز یکی از موارد مسمومیت‌های خطرناک را تشکیل داده و هنوز هم یکی از مسمومیت‌های رایج است [۳، ۴]. به‌نظر می‌رسد، با توجه به گستردگی کاربرد و بالطبع مسمومیت‌های ناشی از حشره‌کش‌ها و آفت‌کش‌های ارگانوفسفره و همچنین احتمال به‌کارگیری مجدد عوامل طراحی‌شده جدید جنگی، نیازمند افزایش دانسته‌ها نسبت به عوارض حاد و تأخیری این گروه از سموم است. همچنین یافتن پروتکل‌های علمی و آزمایشگاهی جهت مطالعه اثرات این عوامل به‌منظور سنجش شدت سمیت و یافتن آنتی‌دوت‌های مؤثر برای آن‌ها ضروری است.

عوامل ارگانوفسفره اثراتشان را به‌وسیله غیرفعال کردن آنزیم استیل‌کولین‌استراز (AChE) اعمال می‌کنند. غیرفعال شدن این آنزیم موجب تجمع استیل‌کولین در پایانه‌های سیناپسی و اتصالات عصبی و عضلانی می‌شود. از تجمع بالای استیل‌کولین به نوبه خود موجب تحریک وسیع و شدید در رسپتورهای کولینرژیک می‌گردد. تظاهرات ناشی از این تحریکات بر اعصاب مرکزی، عضلات صاف و عضلات مخطط وارد می‌گردند. این اثرات بر سیستم اعصاب مرکزی عمدتاً به‌صورت گیجی، اضطراب، بی‌قراری، سردرد، عدم تمرکز، تشنج و نارسایی تنفسی می‌باشد. برای جلوگیری از این اثرات از بنزودیازپین‌ها مانند دیازپام استفاده می‌گردد [۳، ۵].

ارگانوفسفره‌ها در 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 آنتی‌موسکارینیک، مانند آتروپین و

اسکوپولامین (در صورتی که به‌مقدار کافی تجویز شود) قابل کنترل می‌باشند.

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 و عضله و نهایتاً فلج دپلاریزان. برای برطرف کردن اثرات ارگانوفسفره‌ها بر عضلات مخطط که معمولاً با فلج عضلات تنفسی موجب نارسایی تنفسی و نهایتاً مرگ می‌گردد [۶]، تنها درمان شناخته شده موجود، استفاده از احیاء‌کننده‌های کولین‌استراز می‌باشد. البته احیاء‌کننده‌های آنزیمی که عمدتاً اکسایم‌های مختلف مانند پراپیلیدوکسایم و اییدوکسایم می‌باشند [۷، ۸]، تنها در صورتی می‌توانند مؤثر واقع شوند که پیوند آنزیم و سم وارد شکل کاملاً پایدار خود و یا اصطلاحاً دچار پیری (aging) نشده باشد [۹]. در مجموع یکی از معضلات جدی درمان مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها، عدم وجود آنتی‌دوت مناسب برای برطرف کردن اثرات نیکوتینی ناشی از استیل‌کولین انباشته شده می‌باشد [۷].

در مطالعه حاضر تلاش بر این بود تا یک مدل بافتی (In vitro) ساده و مناسب برای مطالعه اثرات ارگانوفسفره‌ها مورد آزمایش قرار گیرد که در آن عملکرد عضله مخطط در پاسخ به اثرات پاراکسون که از سموم ارگانوفسفره در دسترس می‌باشد و همچنین اثر یک احیاء‌کننده آنزیمی مانند پراپیلیدوکسایم در برگرداندن تغییرات ناشی از پاراکسون مورد بررسی قرار گیرد. مطمئناً شناخت بیشتر مکانیسم‌های اثر سموم جنگی و بررسی خواص آنتی‌دوتی داروها می‌تواند در جهت رسیدن به پروتکل‌های درمانی مناسب و مؤثرتر راه‌گشا باشد.

مواد و روش‌ها

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

ابتدا به‌وسیله یک دوز کشنده از اتر جوجه را کشته و سپس وریدهای اصلی را قطع نموده و بلافاصله عضله مورد نظر

تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

زمانی که آنالیز واریانس دوطرفه تداخل معنی‌دار بین زمان و نوع را نشان داد، برای هر زمان مشخص یک آنالیز واریانس یک‌طرفه و در موارد لزوم یک تست بعدی (post hoc) که آزمون (Student Newman keuls) بود انجام شد. تمامی آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (۱۱/۵) انجام و همواره مقدار p کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار تلقی گردید. نمونه‌ها شامل: ۶ بافت بوده و کلیه داده‌ها به‌صورت میانگین و خطای استاندارد ارایه شده است.

نتایج

۱- اثر غلظت‌های مختلف پاراکسون بر پاسخ عضله به تحریک الکتریکی عصب

در یک سری آزمایش، غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۱، ۰/۳ و ۱ میکرومولار پاراکسون مورد استفاده قرار گرفت. پاراکسون در غلظت ۰/۰۱ و ۰/۰۳ میکرومولار به‌ترتیب 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 گردید که نهایتاً این افزایش در دقیقه ۲۰ به حداکثر (۱۰۵٪) رسید و تا دقیقه ۶۰ تقریباً در همان حد باقی ماند. هنگامی که پاراکسون به محیط اضافه نگردید و یا فقط حلال آن به محیط اضافه گردید، هیچ تغییری در ارتفاع تکانه‌ها ایجاد نشد (شکل ۱).

پاراکسون در غلظت ۰/۳ میکرومولار در دقیقه ۱۰ - ۵ باعث انقباض پایدار عضله گردید. این انقباض در مواردی (۴ از ۶ مورد) تا دقیقه ۶۰ پایدار بود و در مواردی پس از مدتی (۳۰ - ۵۰ 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 گردید و این افزایش به‌طور متوسط به بیش از ۱۰۰٪ رسید که غلظت مناسبی جهت بررسی اثرات آنتی‌دوتی

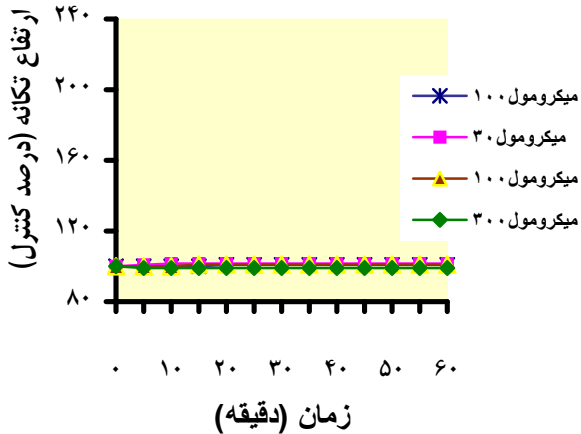
به‌همراه اعصاب مرتبط با آن جدا و در داخل حمام بافتی با حجم ۵۰ میلی‌لیتر محتوی محلول فیزیولوژی با ترکیب زیر قرار داده شد. بافت جدا شده با گاز کربوژن (۵٪ O₂ و ۵٪ CO₂) به‌طور مداوم هوادهی گردید. دمای محیط حمام بافتی ۳۲ °C و pH در ۲ تا ۷/۳ تنظیم شد [۱۰]. ترکیب محلول برحسب میلی‌مول عبارت بود از: ۱۱/۱ گرم گلوکز، ۱/۲ گرم ۱۱۸/۴ · KH₂PO₄ گرم کلریدسدیم، ۴/۷ گرم KCl، ۱/۴ گرم ۲/۵ · MgSO₄ گرم CaCl₂ و ۲۵ گرم NaHCO₃ عصب عضله با پالس‌های مربعی سوپرماکزیمال (ولتاژ بالاتر از حد مورد نیاز برای حداکثر پاسخ) و با فرکانس ۰/۱ هرتز و مدت زمان ۰/۲ میلی‌ثانیه برای ایجاد تکانه‌های انقباضی منفرد تحریک گردید. پاسخ‌های انقباضی به‌صورت ایزوتونیک از طریق یک ترانس‌دیوسر و فیزیوگراف (نارکو) و در ادامه با یک نرم افزار طراحی شده ثبت و ذخیره گردید [۱۱]. پس از قرارگرفتن بافت در شرایط آزمایش برای رسیدن به شرایط یکنواخت و یکسان‌شدن ارتفاع تکانه‌ها و در واقع پایدارشدن وضعیت عضله ۳۰ - ۱۵ دقیقه ثبت از تکانه‌های انقباضی انجام شد. سپس ارتفاع تکانه‌ها در دقیقه آخر به‌عنوان کنترل برای ادامه آزمایش در نظر گرفته شد.

مجموعه عصب و عضله در معرض غلظت‌های مختلف (۰/۰۱، ۰/۰۳، 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. همچنین پرالیدوکسایم (Pralidoxime) با غلظت‌های مختلف (۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار)، ۲۰ دقیقه بعد از به‌کارگیری با پاراکسون (با غلظت ۰/۱ میکرومولار) و به تنهایی مورد آزمایش قرار گرفته و تکانه‌ها به‌عنوان پاسخ در مدت ۶۰ دقیقه ثبت گردید.

داده‌ها که عبارت بودند از درصد ارتفاع تکانه‌ها نسبت به کنترل با روش آنالیز واریانس دوطرفه که در آن نوع مداخله مانند غلظت‌های مختلف داروها به‌عنوان متغیر بین آزمایش (between subjects variable) و زمان ۵، ۱۰، ۱۵ تا ۶۰ دقیقه به‌عنوان متغیر درون آزمایش (within subjects variable) مورد

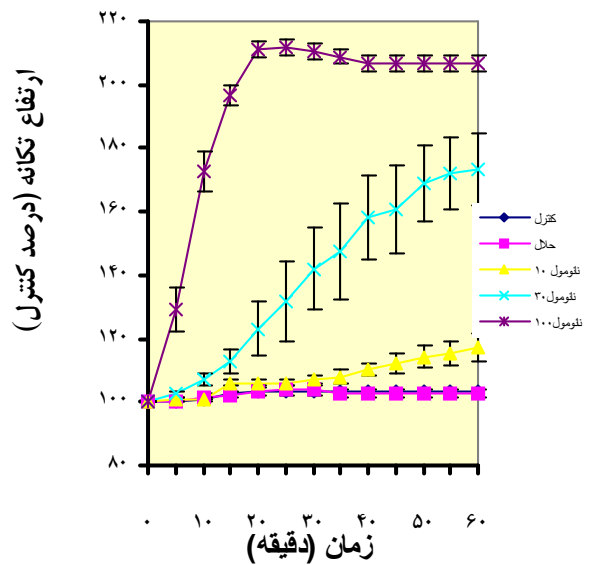
۲- اثر غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم بر پاسخ عضله به تحریک الکتریکی عصب

در این سری آزمایشات، 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 (شکل ۲).

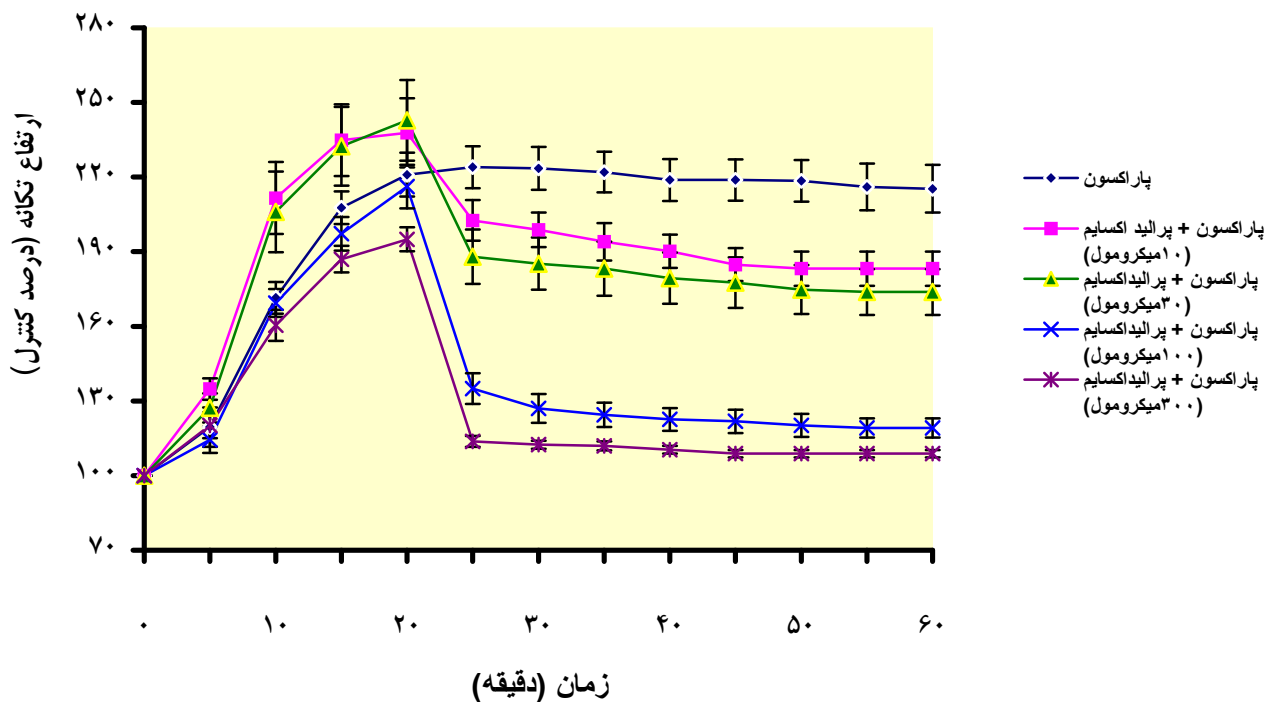


شکل ۲- اثرات غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم بر روی ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از تحریک الکتریکی عصب، نقاط نشانگر میانگین ۶ آزمایش است که به همراه خطای استاندارد نمایش داده شده است.

اکسایم‌های مختلف از جمله پرایدوکسایم تشخیص داده شد و در آزمایشات 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 در شرایط عدم افزودن پاراکسون (کنترل) و افزودن حلال پاراکسون (حلال) هیچ‌گونه تغییری پیدا نکرد. نقاط نماینده میانگین ۶ آزمایش می‌باشند که به همراه خطای استاندارد نشان داده شده است.



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم در برگرداندن اثر افزایشی ۰/۱ میکرومولار پاراکسون بر روی ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از تحریک الکتریکی عصب هنگامی که ۲۰ دقیقه بعد از به کارگیری پاراکسون به محیط اضافه می‌گردد. نقاط نشانگر میانگین ۶ آزمایش است که به همراه خطای استاندارد نمایش داده شده است.

۳- اثر پرایدوکسایم بر افزایش ارتفاع تکانه‌های عضلانی ناشی از پاراکسون

در این سری آزمایشات، پرایدوکسایم در غلظت‌های ۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار توانست افزایش پاسخ به پاراکسون را به صورت وابسته به غلظت کاهش دهد، به طوری که در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار تقریباً به طور کامل این اثر را برگرداند (شکل ۳). همانطور که از شکل ۳ برمی آید، عمده اثر غلظت‌های مختلف پرایدوکسایم که ۲۰ دقیقه پس از پاراکسون به محیط اضافه می‌گردید، 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 می‌ماند.

بحث

اغلب مطالعات انجام شده برای بررسی اثرات ارگانوفسفره‌ها آنزیماتیک بوده و کمتر به صورت عملکردی (functional) می‌باشد [۳، ۸، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶]. آنچه مسلم است، به دست آوردن و معرفی یک روش (set up) ساده جهت بررسی اثرات سموم ارگانوفسفره و حتی سایر آنتی‌کولین استرازاها که به صورت روزافزونی به جمع آفت‌کش‌ها و حشره‌کش‌های فعلی اضافه می‌گردند، ضروری است. براساس مطالعات انجام شده، استفاده از روش به کار رفته در این مطالعه برای بررسی انتقال عصبی-عضلانی با توجه به ویژگی‌های بافتی عضله دو سر گردن جوجه مناسب و قابل اعتماد نشان داده است. نتایج به دست آمده از آزمایشات اخیر نیز نشان می‌دهد که پاسخ‌های عضلانی به دنبال اثر غلظت‌های مختلف پاراکسون و برگرداندن این اثرات به وسیله خواص آنتی‌دوتی پرایدوکسایم تکرار پذیر، معنی‌دار و قابل اعتماد است و روش به کار گرفته شده برای بررسی اثرات کولینرژیک-نیکوتینی مواد مختلف بر عملکرد عضلات مخطط بسیار مناسب می‌باشد. به علاوه این روش نه تنها اثرات خاص ارگانوفسفره را بر عضلات مخطط قابل ارزیابی می‌سازد، بلکه به همراه مطالعات آنزیماتیک می‌تواند کسب جزئیات بیشتری از اثرات آن‌ها را امکان‌پذیر سازد.

به کارگیری غلظت‌های مختلف پاراکسون نشان داد که غلظت ۱۰۰

نانومولار (۰/۱ میکرومولار) ضمن این که 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 آنتی‌دوتی مواد مختلف از جمله اکسایم‌ها قابل بررسی گردد. بنابراین، غلظت ۱۰۰ نانومولار برای بررسی اثرات پرایدوکسایم مورد استفاده قرار گرفت. در حقیقت هدف از به کارگیری غلظت‌های مختلف پاراکسون، یافتن غلظت مناسبی از آن بود که ضمن افزایش پاسخ به تحریک الکتریکی و افزایش ارتفاع تکانه‌ها موجب انقباض پایدار (contracture) عضله نگردد که این امر با به کارگیری غلظت ۰/۱ میکرومولار امکان‌پذیر گردید، در حالی که غلظت‌های پایین‌تر در مدت زمان مناسب افزایش لازم در ارتفاع تکانه‌ها را سبب نگردیدند و غلظت بالاتر سبب انقباض پایدار کامل یا نسبی گردیده و ارتفاع تکانه‌ها را به نحو نامطلوبی تحت تأثیر قرار دادند. البته به کاربردن غلظت‌هایی که انقباض پایدار و طولانی مدت ایجاد می‌کنند و مطالعه اثرات اکسایم در آن شرایط نیز نتایج دیگری را به دست خواهد داد.

پرایدوکسایم به دلیل اثرات اثبات شده احیاء‌کنندگی آنزیمی انتخاب مناسبی برای ارزیابی روش به کار برده شده جهت بررسی احیاء‌کننده‌های احتمالی آنزیم استیل‌کولین استراز مهار شده با انواع آنتی‌کولین استرازاها (۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰). پرایدوکسایم هنگامی که 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 در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار نشان داد که پرایدوکسایم در این غلظت‌ها اثرات ناشی از پاراکسون ۰/۱ میکرومولار را تقریباً به طور کامل بازگرداند. ولی در غلظت‌های پایین‌تر این اثرات آنتی‌دوتی به صورت وابسته به غلظت کمتر بود. لذا، پرایدوکسایم احتمالاً با غلظت ۱۰۰۰ برابر قادر خواهد بود، اثرات آنتی‌دوتی قابل قبولی را ایجاد نماید. به علاوه نتایج این آزمایشات نشان داد که بررسی

طرف دیگر پاراکسون که یک آنتی کولین استراز ارگانوفسفره قوی و در عین حال در دسترس بود مورد مطالعه قرار گرفت و غلظت مناسب برای این قبیل آزمایشات مشخص گردید و در نهایت نشان داد که اثرات اکسایم‌های مختلف نیز در برگرداندن اثرات پاراکسون و سایر آنتی کولین استرازهای ارگانوفسفره نیز با به کارگیری این روش به خوبی قابل مطالعه است.

اثرات غلظت‌های مختلف یک آنتی دوت و مقایسه آنتی دوت‌های مختلف با این روش به صورت قابل اعتمادی مقدور می‌باشد. در مجموع هدف از انجام این سری از آزمایشات رسیدن به یک روش ساده و در عین حال مناسب جهت بررسی اثرات مواد مختلف بر روی عملکرد عضلات مخطط که با تحریک گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین منقبض می‌گردند و نیز بررسی اثرات آنتی دوتی مواد مختلف در برگرداندن این اثرات بوده است. از

منابع

- 1- Moore DH. Long term health effects of low dose exposure to nerve agent. *J Physiol Paris*. 1998; 92: 325 – 28.
- 2- Balali-Mood M, Shariat M. Treatment of organophosphate poisoning. Experience of nerve agents and acute pesticide poisoning on the effects of oximes. *J Physiol Paris*. 1998; 92: 375 - 78 C.
- 3- Peter JV, Cherian AM. Review Of Insecticides. *Anaesth Intensive care, Health & Medical Complete*. 2000; 28: 11 – 21.
- 4- Weng-Keong Loke, Meng-Kwoon Sim, Mei-Lin Goc. O-Substituted derivatives of pralidoxime: muscarinic properties and protection against soman effects in rats. *Eur J Pharmacol*. 2002; 442: 279 – 87.
- 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, Narciso ES, Pelegrino JR and Calore EE. Protective Effect of Early and Late Administration of Pralidoxime against Organophosphate Muscle Necrosis. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2002; 58: 48 - 51.
- 7- Singh G, Avasthi G, Khurana D, Whig J, Mahajan R. Neurophysiological monitoring of pharmacological manipulation in acute organophosphate (OP) poisoning. The effects of pralidoxime, magnesiumsulphate and pancuronium. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1998; 107: 140 - 48.
- 8- Luo C, Leader H, Radic Z, Maxwell DM, Taylor P, Doctor BP, Saxena A. 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 BL, Warriner J. The isolated chick biventer cervicis nerve-muscle preparation. *Br J Pharmacol*. 1960; 15: 410.
- 11- Poorheidari Gh. Potassium channel blockers: purification, pharmacological characterisation and effects on learning and memory, pp:43-50. Strathclyde University. Master's Thesis. Glasgow. UK. 1996.
- 12- Barril J, Tormo N, Diaz-Alejo N, Vilanova E. 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, Lenz DE. Specific soman-hydrolyzing enzyme activity in a clonal neuronal cell culture. *Biochim Biophys Acta*. 1998; 967: 373 - 81.
- 14- Cowan FM, Broomfield CA, Lenz DE, Shih TM. 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, Baubichon D, Galonnier M, Clarencon D, Dorandeu F. Subchronic administration of pyridostigmine or huperzine to primates: compared efficacy against soman toxicity. *Drug Chem Toxicol*. 2002; 25: 309 - 20.
- 16- Helen M Thompson. Esterases as Markers of Exposure to Organophosphates and Carbamates. *Ecotoxicol*. 1999; 8: 369 - 84.
- 17- Johnson S, Peter JV, Thomas K, Jeyaseelan L, Cherian AM . Evaluation of two treatment regimens of pralidoxime (1 gm single bolus dose vs 12 gm infusion) in the management of organophosphorus poisoning. *J Assoc Physicians Ind*. 1996; 44: 529 - 31.
- 18- Patial RK, Kapoor D. Pralidoxime for reducing nicotinic cholinergic morbidity in organophosphate poisoning. *J Assoc Physicians India*. 1998 Jul; 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, Das Gupta S. Pharmacokinetics of pralidoxime chloride and its correlation to therapeutic efficacy against diisopropyl fluorophosphate intoxication in rats. *Pharmazie*. 1988; 43: 114 - 5.