مهارگیرنده‌های NMDA گلوتاماتی در هیپوکمپ پشتی پایداری رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا را در موش کوچک آزمایشگاهی کاهش می‌دهد

الهام سام خانیان [۱](M.Sc)، داوود نوده‌ئی [۲](Ph.D)، فاطمه سالم [۳](Ph.D)، محمدحسین ضرغامی [۲](Ph.D)، مریم خسروی [۱](Ph.D)، بشری هاتف [٤](Ph.D)، هدایت صحرایی [٤](Ph.D)، حسن قشونی [٤،٥*](Ph.D)

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲ - مرکز تحقیقات علوم رفتاری، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۳- دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۴- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۵- گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۳۱۱۵۰٤٦ ghoshooni287@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲۳

چکیده

هدف: در این تحقیق تاثیر مهار گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی موجود در هیپوکمپ پشتی بر پایداری رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMARI به وزن ۳۰ گرم به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول ۳۰ دقیقه پس از دریافت یکی از سه دوز ممانتین (۱ mg/kg و ۲/۵ و ۵) و یا سالین (۱ ml/kg) به‌صورت داخل صفاقی، شوک الکتریکی کف پا را دریافت کردند. گروه دوم به‌صورت دو طرفه در هیپوکمپ پشتی کانول‌گذاری شدند و پس از یک هفته ابتدا دوزهای مختلف ممانتین (۱ و ۵ و ۱۰ µg/mouse) را به صورت داخل هیپوکمپی دریافت و ۵ دقیقه بعد شوک دریافت کردند که به مدت ۴ روز تکرار شد. ۶ روز پس از خاتمه استرس، اضطراب القائی حیوانات با استفاده از ماز مرتفع به‌علاوه بررسی شد. ۲ روز بعد از تست اضطراب، آزمایش استرس شنای اجباری بر حیوانات انجام شد.

یافته‌ها: استرس باعث کاهش زمان ماندن در بازوی باز در ماز مرتفع و افزایش زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری شد و تجویز محیطی ممانتین در هر سه دوز توانست این اثرات را جلوگیری نماید. هم‌چنین، تجویز داخل هیپوکمپی ممانتین از القاء اضطراب و افسردگی ناشی از استرس جلوگیری کرد.

نتیجه‌گیری: استرس توانست باعث بروز رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی پایدار شود. مهار گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA هیپوکمپ این اثرات را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: رفتار شبه افسردگی، اضطراب، ممانتین، گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی

مقدمه

بازآرایی و سازمان‌بندی مجدد ارتباطات نورونی در هیپوکمپ پشتی و هم‌چنین آمیگدال از مهم‌ترین نشانگان استرس مزمن در مغز می‌باشد [۱-۶]. این بازآرایی در هیپوکمپ شامل کاهش تعداد تکمه‌های سیناپسی، کاهش اندازه تنه دندریتی و کاهش حجم سلول‌های پیرامیدی در هیپوکمپ پشتی می‌باشد. در آمیگدال و به خصوص در آمیگدال جانبی عکس این تغییرات اتفاق می‌افتد، یعنی افزایش در اندازه سلول‌ها، افزایش تنه دندریتی و تقویت سیناپسی بعد از القاء استرس مزمن در آن‌ها دیده می‌شود [۳،۵]. مطالعات انجام شده در این زمینه نشان داده‌اند که نقل و انتقالات عصبی گلوتاماتی در سلول‌های عصبی پیرامیدی هیپوکمپ پشتی و بخش قاعده‌ای-جانبی آمیگدال نقش اساسی در بروز تغییرات فوق دارد [۷-۹]. در همین راستا تحقیقات دیگر نشان می‌دهند که هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی آزاد شده در حین استرس با اثر بر گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی نوع II خود باعث افزایش فعالیت سیستم گلوتاماتی در ناحیه هیپوکمپ می‌شوند [۲]. همکاری این دو سیستم که با واسطه گیرنده‌های N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) گلوتاماتی صورت می‌گیرد، به کاهش ساخت و ساز پروتئین‌های اسکلتی سلولی،

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

کاهش ضخامت ناحیه پس‌سیناپسی، کاهش تعداد تکمه‌های سیناپسی و در نهایت کاهش نقل و انتقالات گلوتاماتی و سایر نورترانسمیترها منجر می‌گردد [۲،۷]. همان‌طور که در بالا ذکر شد، محققان تغییرات به‌وجود آمده در این مناطق را مرتبط با بروز بیماری‌های روانی می‌دانند [۱۰]. به این ترتیب که تغییرات به‌وجود آمده در هیپوکمپ را مهم‌ترین دلیل بروز افسردگی دانسته‌اند که با کاهش میزان انسولین و فاکتور محرک رشد عصبی مشتق از اعصاب (Brain-Derived-Neurotrophic-Factor [BDNF]) نیز همراه است [۱۱،۱۲]. از سوی دیگر، تغییرات افزایش‌یابنده در بخش قاعده‌ای–جانبی آمیگدال را مهم‌ترین دلیل بروز اضطراب معرفی می‌کنند [۴]. نکته مهم آن است که پس از استرس مزمن و یا استرس‌های شدید، تغییرات به جا مانده در هیپوکمپ و آمیگدال نسبتاً پایدار بوده و در آمیگدال این تغییرات برای چندین هفته پس از استرس باقی می‌مانند [۱۳،۱۴]. به همین دلیل معتقدند که حتی اگر استرس نتواند مستقیماً به افسردگی و یا اضطراب منجر شود، حتماً نقش پیش‌کنشگر را در این زمینه دارد و ممکن است در کنار عوامل دیگری مانند وراثت، به بروز این بیماری‌ها کمک کند [۱۵]. این مطالعات در کنار مطالعات دیگری که وجود ارتباطات آناتومیک و عملکردی را بین آمیگدال و هیپوکمپ مشخص می‌کنند، از سوی دیگر بیان می‌کنند که دست‌کاری یک بخش از این نقاط مغزی، ممکن است بر بروز اتفاقات گفته شده در بالا در بخش دیگر موثر بوده و آن را تحت تاثیر قرار دهد.

ممانتین (3,5-dimethyladamantan-1-amine)، آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی محسوب می‌شود که با بلوك جریان یونی از طریق کانال‌های گیرنده‌های NMDA عمل می‌کند [۱۶]. این دارو با مهار کانال مرکزی گیرنده NMDA گلوتاماتی باعث مهار ورود یون کلسیم به سلول از طریق این گیرنده شده و اثرات گلوتامات را مهار می‌کند [۱۷]. از سوی دیگر تحقیقات بر روی مدل‌های حیوانی و نیز در انسان، کارآیی این دارو را در بهبود برخی بیماری‌های روانی مانند اضطراب و افسردگی را نشان می‌دهد [۱۸،۱۹]. در مدل‌های حیوانی تاثیر مثبت این دارو در نرمالایز کردن غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون پس از استرس مزمن در موش‌های بزرگ [۲۰] و کوچک [۲۱،۲۲] آزمایشگاهی را نشان می‌دهد. هم‌چنین، تجویز داخل آمیگدالی این دارو اثرات متابولیکی استرس مزمن شوک الکتریکی کف پا را کاهش می‌دهد [۲۱]. در مدل‌های حیوانی، هم‌چنین، کاهش میزان BDNF در ناحیه قشر پیشانی پس از استرس مزمن مشاهده شده است که با تجویز ممانتین این کاهش جبران شده است [۲۰]. محققان معتقدند که با توجه به نقش ویژه کاهش BDNF در بروز افسردگی، این اثر می‌تواند شاهد خوبی برای استفاده از این دارو در درمان این بیماری باشد [۲۳]. از آن‌جا که نقش گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA موجود در هیپوکمپ پشتی در بروز اضطراب و افسردگی ناشی از استرس مشخص نیست، در تحقیق حاضر بر آن شدیم تا اثر مهار این گیرنده‌ها توسط داروی ممانتین قبل از القاء استرس بر بروز افسردگی و اضطراب در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر مورد بررسی قرار دهیم. لازم به توضیح است که نقش این گیرنده‌ها بر بروز اضطراب القاء شده در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر استرس ندیده قبلاً مطالعه شده است [۲۴] و هم‌چنین نقش این گیرنده‌ها بر بروز رفتار شبه افسردگی در موش‌ها مشخص شده است [۲۵]. اما نقش این گیرنده‌ها در هیپوکمپ پشتی در مهار پایداری رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی ناشی از استرس مزمن مطالعات قبلی بررسی نشده است. لازم به توضیح است که از استرس شوک الکتریکی کف پا برای القاء اثرات اضطرابی یا شبه افسردگی در موش‌ها کم‌تر استفاده شده است و یکی از اهداف ما این بود که مشخص شود آیا این روش القاء استرس هم می‌تواند باعث بروز رفتارهای شبه اضطرابی و یا شبه افسردگی در موش‌ها شود؟

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI به وزن ۳۰ گرم که از انستیتوپاستور ایران تهیه و در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله نگهداری شدند، استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۶ تایی با دوره شبانه‌روزی طبیعی در دمای ۲۰–۲۳ درجه سانتی‌گراد، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. در هر گروه آزمایش ۷ سر حیوان مورد آزمایش قرار گرفت. تا ۷۲ ساعت پس از استقرار حیوان در این محیط هیچ آزمایشی روی آن‌ها انجام نمی‌گرفت تا به شرایط جدید عادت کنند. تمامی آزمایشات با توجه به دستورالعمل کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله در مورد کار با حیوانات انجام شد.

گروه‌بندی حیوانات

حیوانات به صورت تصادفی به ۸ گروه ۷ تایی تقسیم شدند (جمعاً ۵۶ سر موش).

۱. دو گروه کنترل مثبت که یک گروه جراحی شده و کانول‌ها در داخل هیپوکمپ پشتی قرار گرفت و سالین به آن‌ها تزریق شد و پس از ۵ دقیقه به آن‌ها استرس شوک الکتریکی کف پا وارد شده (به مدت ۴ روز و هر روز ۱ ساعت) و در روز نهم و دهم آزمایش‌های اضطراب و افسردگی (به ترتیب) در مورد آن‌ها انجام شد. گروه دوم جراحی نشده و سالین به صورت داخل صفاقی به آن‌ها تزریق شد و پس از ۳۰ دقیقه به آن‌ها استرس

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

شوک الکتریکی کف پا وارد شده (به مدت ۴ روز و هر روز ۱ ساعت) و در روز نهم و دهم آزمایش‌های اضطراب و افسردگی (به ترتیب) در مورد آن‌ها انجام شد.

۲. گروه آزمایشی که جراحی شده و کانول‌ها در داخل هیپوکمپ پشتی آن‌ها قرار گرفت و به آن‌ها دوزهای مختلف ممانتین (۱۰µg/mouse و ۵ و ۱) ۵ دقیقه قبل از استرس به‌صورت داخل هیپوکمپ پشتی به آن‌ها تزریق شد (این کار به مدت چهار روز متوالی تکرار شد) و در روزهای نهم و دهم آزمایش اضطراب و افسردگی (به ترتیب) در مورد آن‌ها انجام شد.

۳. گروه آزمایشی که جراحی نشده و به آن‌ها دوزهای مختلف ممانتین (۱۰mg/kg و ۵ و ۱) ۳۰ دقیقه قبل از القاء استرس به‌صورت داخل صفاقی به آن‌ها تزریق شد (این کار به مدت چهار روز متوالی تکرار شد) و در روزهای نهم و دهم آزمایش اضطراب و افسردگی (به ترتیب) در مورد آن‌ها انجام شد.

داروها

داروهای مورد استفاده در این تحقیق شامل: کتامین هیدروکلراید (آلفاسان–هلند)، دیازپام هیدروکلراید (سیگما–آمریکا) و ممانتین هیدروکلراید (تاکریس–انگلیس) بودند. تمامی داروها در سالین استریل حل شده و در حجم ml/kg ۱۰ (در صورت تجویز داخل صفاقی) و یا µl/mouse ۵/ ۰(در صورت تجویز داخل هیپوکمپی) مورد استفاده قرار می‌گرفتند. کتامین هیدروکلراید (۷۰mg/kg) و دیازپام هیدرو کلراید (۵mg/kg) برای القاء بی‌هوشی قبل از جراحی به‌صورت داخل صفاقی تزریق شدند. ممانتین هیدروکلراید برای تزریق در نرمال سالین حل می‌شد و با دوزهای (۱۰mg/kg و ۵ و ۱) به‌صورت داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه قبل از القاء استرس و یا دوزهای (۱۰µg/mouse و ۵ و ۱) به‌صورت داخل هیپوکمپ پشتی، ۵ دقیقه قبل از القاء استرس به حیوانات تجویز می‌شد.

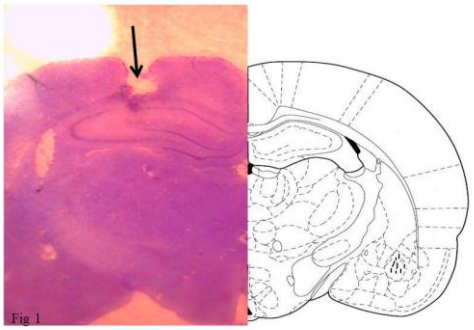
جراحی حیوانات و تعبیه کانول راهنما

برای انجام عمل جراحی ابتدا قبل از جراحی هر حیوان را با ترازو توزین کرده و برای بی‌هوش نمودن حیوان از دیازپام و کتامین به روش درون صفاقی استفاده شد. بعد از بی‌هوشی و برداشتن موهای پشت سر به وسیله دستگاه اصلاح، حیوان درون دستگاه استریوتاکس (Stolting Co.) قرار داده شد. با استفاده از مختصات موجود در اطلس پاکسینوس [۲۶]، و تعیین نقطه برگما محل قرار گرفتن کانول‌های راهنما (سر سوزن شماره ۲۳) محاسبه و ناحیه مورد نظر بر روی جمجمه علامت‌گذاری می‌شد و سپس به وسیله مته دندان‌پزشکی سوراخ‌هایی به قطر ۱ میلی‌متر بر روی جمجمه ایجاد می‌شد. سپس کانول‌ها به آهستگی و به‌وسیله بازوی دستگاه استریوتاکس در داخل سوراخ‌ها قرار داده می‌شدند. قبل از قرار دادن کانول‌های راهنما، دو عدد پیچ عینک در حد فاصل ۲mm محل قرارگیری کانول بر روی سطح جمجمه جهت محکم نگه داشتن کانول راهنما پیچ می‌شد. مختصات محل قرارگیری کانول راهنما در ناحیه هیپوکمپ پشتی در موش کوچک آزمایشگاهی با وزن ۲۵ گرم به قرار زیر بود: DV=۳ میلی‌متر از سطح جمجمه، ML=±۳ میلی‌متر از خط وسط و ۲/۷= APمیلی‌متر بود. کانول تزریق که از سرسوزن دندان‌پزشکی ۳۰ Gage تهیه شده ۰/۵ mm بلندتر از کانول راهنما در نظر گرفته شد. بعد از کانول‌گذاری، اطراف کانول و پیچ‌های عینک با آکریل دندان‌پزشکی پوشیده شده و بعد از سفت شدن سیمان دندان‌پزشکی به آرامی بازوی دستگاه استریوتاکس از درون کانول خارج کرده و یک قطعه سیم از جنس فولاد زنگ نزن که به اندازه ارتفاع کانول بود را درون آن قرار می‌دادیم. بعد از پایان جراحی حیوان به مدت یک هفته استراحت می‌کرد تا استرس ناشی از جراحی منتفی شده و نیز اثرات داروهای بی‌هوشی از بین برود.

روش تزریق درون مغزی

تزریق دارو به داخل نواحی کانول‌گذاری شده از طریق یک کانول تزریق ۳۰ Gage که توسط یک رابط پلی‌اتیلنی به سرنگ هامیلتون با حجم ۰/۵ میکرولیتر وصل شده بود، صورت گرفت. در ابتدا لوله پلی‌اتیلنی و کانول تزریق از محلول ممانتین و یا سالین پر شد. هنگام تزریق حیوانات به آرامی با دست مهار می‌شدند، سیم فولادی از داخل کانول راهنما خارج شده، و سپس کانول تزریق در کانول راهنما تعبیه و دارو به آرامی (۰/۲۵ µl در هر طرف به صورت دو طرفه) به مدت ۳۰ ثانیه تزریق شد. در طول تزریق حیوانات حرکت آزادانه داشتند پس از اتمام تزریق کانول تزریق به مدت ۳۰ ثانیه جهت انتشار دارو در محل باقی ماند سپس به آرامی خارج شد و حیوانات جهت القاء استرس به communication Boxانتقال داده شدند. پس از پایان آزمایش‌ها، حیوانات با تزریق کتامین هیدروکلراید (۱۰۰mg/kg) بی‌هوش شده و با تزریق فرمالین ۴٪ به‌صورت ترانس کاردیاک مغز حیوانات فیکس شده و پس از خارج ساختن آن، برش‌هایی از محل کانول تهیه و توسط یک کارشناس صحت محل تزریق تایید می‌شد (شکل ۱).

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]



شکل ۱: محل قرار گرفتن کانول راهنما در ناحیه هیپوکمپ پشتی موشهای کوچک آزمایشگاهی. شکل A ۲ و B ۲: تاثیر تجویز داخل هیپوکمپی ممانتین بر پایداری بروز رفتار شبه اضطرابی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا در موشهای آزمایشگاهی. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. A ۲: درصد زمان ماندن در بازوی باز، و B ۲ درصد دفعات ورود به بازوی باز. ۰/۰۵ >P* و ۰/۰۰۱ >P*** اختلاف نسبت به گروه کنترل منفی و ۰/۰۵ >P+ و ۰/۰۰۱ >P++ اختلاف نسبت به گروه کنترل مثبت است.

روش القاء استرس

دستگاه القاء استرس شوک الکتریکی کف پا متشکل از ۹ قسمت مجزا به ابعاد ۱۶×۱۶×۵۰ سانتی‌متر (طول، عرض، ارتفاع –به ترتیب) از جنس پلکسی‌گلاس است که دیواره‌های آن دارای سوراخ‌های ریزی جهت ارتباط دیداری، بویایی و شنیداری است. کف دستگاه دارای میله‌های استیل به قطر ۴ میلی‌متر و با فواصل ۱/۳ سانتی‌متری است که از طریق این میله‌ها شوک الکتریکی به کف پای حیوان منتقل می‌شود. شدت و مدت القای شوک توسط رایانه متصل به این دستگاه کنترل می‌شود (در این تحقیق از ولتاژ ۶۰ میلی‌ولت و فرکانس ۱۰ هرتز و به مدت ۱۰۰ ثانیه استفاده شد). برای القاء استرس، ابتدا حیوانات به محل آزمایش منتقل شده، ۶۰ دقیقه بعد در دستگاه القاء استرس قرار می‌گرفتند، و پس از ۳۰ دقیقه القاء شوک شروع شده و تا ۱۰۰ ثانیه ادامه می‌یافت. پس از خاتمه شوک، حیوانات به مدت ۲۸ دقیقه و ۲۰ ثانیه دیگر در دستگاه باقی می‌ماندند (مجموع ماندن در دستگاه ۶۰ دقیقه بود). سپس حیوانات را به آرامی از دستگاه خارج کرده و به قفس محل زندگی برگشت داده می‌شدند. القا استرس به مدت ۴ روز متوالی ادامه داشت. زمان القاء بین ساعت ۹ صبح و ۱۶ عصر بود که هر روز به‌صورت تصادفی تعیین می‌شد. این‌کار برای ممانعت از بروز پدیده عادت کردن حیوانات نسبت به زمان القاء استرس بود.

ماز به‌علاوه مرتفع به‌علاوه

این آزمایش برای تعیین میزان اضطراب در موش‌های کوچک آزمایشگاهی انجام شد. برای آزمایش از یک ماز چوبی که در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین قرار دارد استفاده شد. این ماز از دو بازوی باز (Open Arm) و دو بازوی بسته (Closed Arm) تشکیل شده است. عرض بازوها ۵ سانتی‌متر و طول بازوها ۱۵ سانتی‌متر است. بازوها در قسمت وسط با یک چهار راه ۵×۵ سانتی‌متری به هم می‌رسند. در اطراف بازوی بسته، صفحاتی به طول ۱۵ و عرض ۷/۵ سانتی‌متر قرار دارند. کل آزمون ماز مرتفع ۵ دقیقه است. حیوان به طریقی بر روی ماز قرار داده می‌شود که به طرف بازوی بسته باشد. چهار پارامتر زمان سپری شده در بازوی بسته، زمان سپری شده در بازوی باز، تعداد ورود به بازوی بسته و تعداد ورود به بازوی باز در این تست ثبت می‌شود. ملاک ورود در یک بازو قرار گرفتن اندام‌های جلوئی و عقبی در آن قسمت است. در این روش دو متغییر گزارش می‌شود: درصد ورود به بازوی باز و درصد ماندن در بازوی باز [۲۷] که به روش ذیل محاسبه می‌شوند:

$$\text{درصد ورود به بازوی باز} = \left(\frac{NEOA}{NEOA+NECA}\right) \times 100$$

وتعداد ورود به بازوی باز=NEOA

تعداد ورود به بازوی بسته=NECA

$$\text{درصد ماندن در بازوی باز} = \left(\frac{TOA}{TOA=TCA}\right) \times 100$$

مدت ماندن در بازوی باز=TOA

مدت ماندن در بازوی بسته=TCA

زمان ماندن و تعداد ورود به هر بازو با استفاده از دوربین فیلم‌برداری ثبت شد و توسط سیستم اتوویژن مورد بررسی قرار گرفت.

تست شنای اجباری

این آزمایش برای بررسی میزان افسردگی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی انجام می‌شود. برای آزمایش از یک ظرف شیشه‌ای به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر ۱۲ سانتی‌متر که تا ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر از آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد پر شده استفاده شد. جانور از ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری سطح آب به ملایمت درون آب رها می‌شود. انجام حرکت به معنای تلاش و قطع حرکات دست و پای موش به عنوان ناامیدی (بی‌حرکت شدن) در نظر گرفته می‌شود. کل آزمون شنای اجباری ۶ دقیقه است. در دو دقیقه نخست که برای تطابق حیوان با شرایط موجود در نظر گرفته شده است، زمان بی‌حرکتی ثبت نمی‌شود. زمان بی‌حرکتی برای ۴ دقیقه بعدی اندازه‌گیری می‌شود [۲۸]. حرکات حیوانات در حین آزمایش فیلم‌برداری شده و سپس میزان بی‌حرکتی و یا حرکت

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

حیوانات توسط یک ناظر ناآشنا به گروه موش‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار استاندارد (mean±SEM) بیان شدند. به منظور تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات از آزمون آنالیز–واریانس دوطرفه با در نظر گرفتن دو فاکتور استرس و دارو و در صورت معنی‌دار بودن نتایج از تست پشتیبان توکی به منظور تعیین میزان تفاوت استفاده شد. در تمام موارد P<۰/۰۵ به عنوان مرز معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

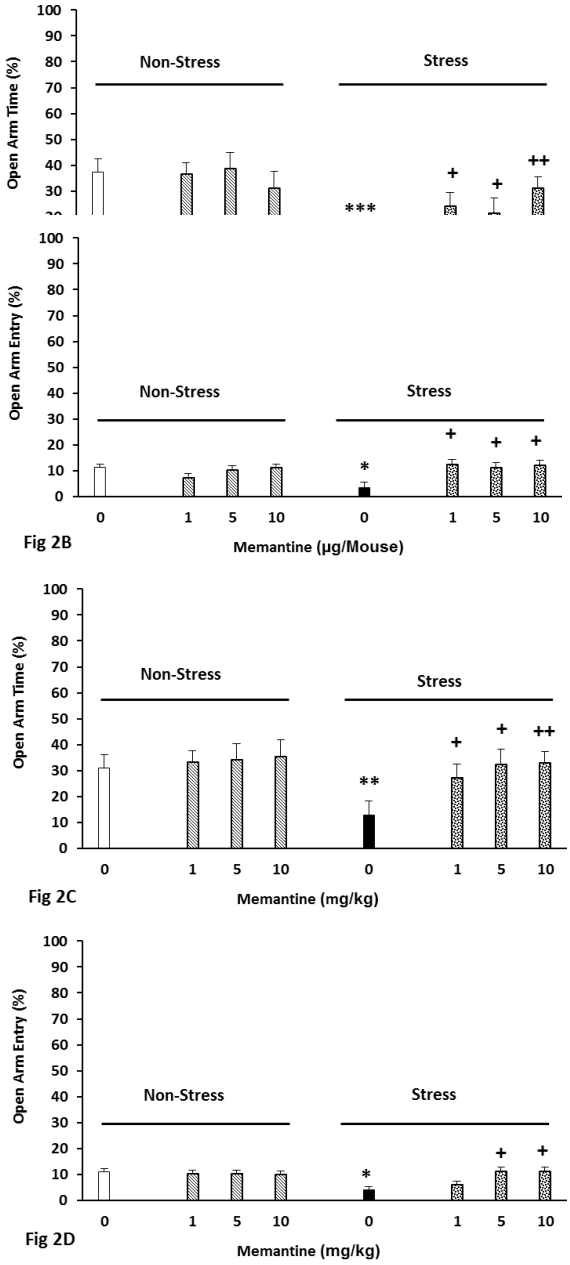
نتایج

تاثیر تجویز ممانتین به داخل هیپوکمپ پشتی بر پایداری اضطراب ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا

در این بخش تحقیق ۴ گروه حیوان (هر گروه ۷سر) انتخاب شد. ابتدا دو عدد کانول در هیپوکمپ پشتی چپ و راست حیوان کار گذاشته شد. ۷روز حیوانات در دوره استراحت قرار گرفتند. سپس دوزهای مختلف ممانتین (۱µg/mouse، ۵، و ۱۰) و یا سالین (۰/۵µl /mouse) به‌صورت داخل هیپوکمپی دریافت کردند. ۵ دقیقه بعد حیوانات گروه تست در داخل دستگاه القاء استرس تحت تاثیر شوک الکتریکی قرار گرفتند. اما موش‌های گروه کنترل هیچ‌گونه شوکی را دریافت نکردند. نتایج ما در این بخش نشان داد، تجویز دوزهای مختلف ممانتین به داخل هیپوکمپ پشتی نیز باعث کاهش پایداری اضطراب ناشی از استرس در گروه تست شد، در صورتی‌که تجویز این دارو به تنهایی در حیوانات گروه کنترل اثری از خود نشان نداد [Two-way ANOVA, intra-group comparison: Memantine effect: F (6,35) = 2.1, P <0.01, Stress effect: F (1,35) = 1.47, P <0.05, Memantine × Stress effect: F (6,35) = 3.1, P <0.01]، (شکل ۲ A و B).

تاثیر تجویز ممانتین محیطی بر پایداری اضطراب ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا

در این مرحله از تحقیق ۴ گروه حیوان (۷ سر در هر گروه) انتخاب شدند. چهار گروه اول در چهار روز متوالی، ۳۰ دقیقه قبل از استرس حیوانات دوزهای مختلف ممانتین (۱mg/kg و۵ و۱۰) و یا سالین (۱۰ml/kg) به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. پس از ختم دوره استرس و پس از ۵ روز استراحت، در روز نهم بررسی پایداری اضطراب در حیوانات بررسی شد. گروه‌های کنترل همان دوزهای ممانتین و یا سالین را دریافت کردند ولی استرس در آن‌ها القاء نشد. نتایج ما نشان داد که تزریق دوزهای مختلف ممانتین سبب کاهش پایداری اضطراب در حیوانات استرس دیده شد [Two-way ANOVA, intra-group comparison: Memantine effect: F (6,35) = 2.71, P <0.01, Stress effect: F (1,35) = 2.01, P <0.01, Memantine × Stress effect: F (6,35) = 2.8, P <0.01، (شکل ۲ C و D).

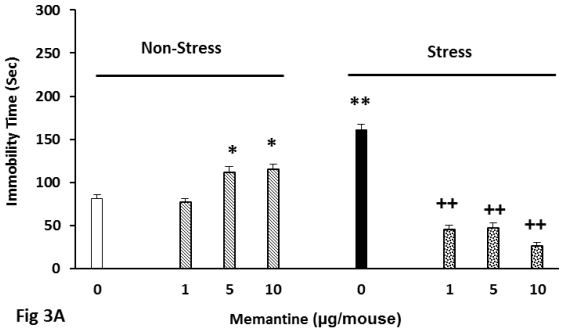


شکل ۲. تاثیر تجویز داخل هیپوکمپی ممانتین بر پایداری بروز رفتار شبه اضطرابی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا در موشهای آزمایشگاهی. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. A ۲: درصد زمان ماندن در بازوی باز، و B ۲ درصد دفعات ورود به بازوی باز. ۰/۰۵ >P* و ۰/۰۰۱ >P*** اختلاف نسبت به گروه کنترل منفی و ۰/۰۵ >P+ و ۰/۰۰۱ >P++ اختلاف نسبت به گروه کنترل مثبت است. C ۲ و D ۲. تاثیر تجویز داخل صفاقی ممانتین بر پایداری بروز رفتار شبه اضطرابی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. C ۲: درصد زمان ماندن در بازوی باز، و D ۲ درصد دفعات ورود به بازوی باز. ۰/۰۵ >P* و ۰/۰۰۱ >P** اختلاف نسبت به گروه کنترل منفی و ۰/۰۵ >P+ و ۰/۰۰۱ >P++ اختلاف نسبت به گروه کنترل مثبت است.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

تاثیر تجویز ممانتین به داخل هیپوکمپ پشتی بر پایداری افسردگی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا

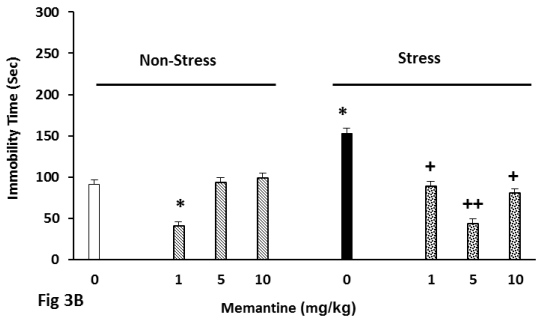
در روز دهم تحقیق، ۴ گروه حیوانی که در مرحله قبل در چهار روز متوالی ۵ دقیقه قبل از استرس دوزهای مختلف ممانتین (۱µg/mouse، ۵ و ۱۰) و یا سالین (۰/۵µl/mouse) به‌صورت داخل هیپوکمپی دریافت کرده بودند و در روز نهم پایداری اضطراب در آن‌ها بررسی شده بود، از نظر پایداری افسردگی مورد تست شنای اجباری قرار گرفتند. نتایج ما نشان داد که تزریق دوزهای مختلف ممانتین سبب کاهش پایداری افسردگی در حیوانات استرس دیده شد [Two-way ANOVA, intra-group comparison: Memantine effect: F (6,35) = 2.7, P <0.01, Stress effect: F (1,35) = 2.28, P <0.01, Memantine × Stress Interaction: F (6,35) = 2.16, P <0.01، (شکل A 3).



شکل A ۳: تاثیر تجویز داخل هیپوکمپی ممانتین بر پایداری بروز رفتار شبه افسردگی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. همچنان که در شکل مشخص است، تجویز داخل هیپوکمپ پشتی ممانتین توانسته است که باعث کاهش زمان بی حرکتی حیوانات استرس دیده (که در تست شنای اجباری نشانه ای از کاهش رفتار شبه افسردگی است) شود. جالب است که تجویز داخل هیپوکمپی ممانتین در حیوانات استرس ندیده باعث بروز بی حرکتی بیشتری نسبت به گروه کنترل منفی شده است. ۰/۰۵ >P* و ۰/۰۰۱ >P** اختلاف نسبت به گروه کنترل منفی و ۰/۰۰۱ >P++ اختلاف نسبت به گروه کنترل مثبت است.

تاثیر تجویز ممانتین محیطی بر پایداری افسردگی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا

در روز دهم تحقیق، ۴ گروه حیوانی که در مرحله قبل در چهار روز متوالی، ۳۰ دقیقه قبل از استرس دوزهای مختلف ممانتین (۱mg/kg و ۵ و ۱۰) و یا سالین (۱۰ml/kg) به‌صورت داخل صفاقی دریافت کرده بودند و در روز نهم پایداری اضطراب در آن‌ها بررسی شده بود، از نظر پایداری افسردگی مورد تست شنای اجباری قرار گرفتند. نتایج ما نشان داد که تزریق دوزهای مختلف ممانتین سبب کاهش پایداری افسردگی در حیوانات استرس دیده شد [Two-way ANOVA, intra-group comparison: Memantine effect: F (6,35) = 1.98, P <0.05, Stress effect: F (1,35) = 2.19, P <0.01, Memantine × Stress Interaction: F (6,35) = 2.12, P <0.01، (شکل B 3).



شکل B ۳: تاثیر تجویز داخل صفاقی ممانتین بر پایداری بروز رفتار شبه افسردگی ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. همچنان که در شکل مشخص است، تجویز داخل صفاقی ممانتین توانسته است که باعث کاهش زمان بی حرکتی حیوانات استرس دیده (که در تست شنای اجباری نشانه ای از کاهش رفترا شبه افسردگی است) شود. دقت کنید که تجویز محیطی ممانتین در حیوانات استرس ندیده باعث کاهش زمان بی حرکتی نسبت به گروه کنترل منفی شود. ۰/۰۵ >P* اختلاف نسبت به گروه کنترل منفی و ۰/۰۵ >P+ و ۰/۰۰۱ >P++ اختلاف نسبت به گروه کنترل مثبت است.

بحث و نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر تجویز ممانتین به ناحیه هیپوکمپ پشتی بر پایداری رفتارهای شبه اضطراب و شبه افسردگی در موش‌های استرس دیده انجام شد. یافته‌ها در این مطالعه نشان دادند که استرس شوک الکتریکی کف پا هم مانند روش استرس بی‌حرکتی باعث بروز رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی در موش‌ها می‌شود به نحوی که چندین روز پس از پایان استرس هنوز این اثر وجود دارد. اما نکته مهم کوتاه بودن زمان مورد نظر برای رسیدن به نتیجه در این تحقیق در مقایسه با روش استرس بی‌حرکتی بود. هم‌چنین، تجویز ممانتین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی هم به‌صورت داخل صفاقی و هم داخل هیپوکمپ پشتی باعث کاهش رفتارهای شبه اضطرابی (افزایش زمان ماندن در بازوی باز و افزایش تعداد ورود به بازوی باز) و شبه افسردگی (کاهش زمان بی‌حرکتی) در حیوانات استرس دیده شد. جالب بود که تجویز محیطی ممانتین در حیوانات استرس ندیده باعث کاهش زمان بی‌حرکتی (کاهش رفتار شبه افسردگی) در حیوانات شد، در حالی‌که تجویز ممانتین به ناحیه هیپوکمپ پشتی دارای اثر القاء رفتار شبه افسردگی در حیوانات استرس ندیده بود. به عبارت دیگر، ممانتین یک اثر کاهنده و تا حدودی وابسته به دوز در تداخل با اثر استرس در القاء پایداری رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی از خود نشان داد. هم‌چنین یک اثر القاء رفتار شبه افسردگی در حیوانات استرس ندیده از این دارو مشاهده شد. این‌که اثرات دیده شده تا چه حد می‌تواند به نقش کلیدی گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA موجود در ناحیه هیپوکمپ پشتی در بروز پایداری این رفتارهای

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

ناشی از استرس اشاره داشته باشد، حتماً نیازمند تحقیقات بیش‌تری در این زمینه است، چرا که در ناحیه هیپوکمپ پشتی طیف گسترده‌ای از نوروترانسمیترها و گیرنده‌های آن‌ها وجود دارد که برهم کنش بین آن‌ها در نهایت اثربخشی استرس را تعیین می‌کند [۲۹]. از سوی دیگر، ارتباطات وسیعی بین این بخش از مغز با نواحی درگیر در اضطراب و افسردگی نظیر هسته آکومبانس و آمیگدال وجود دارد و هم‌چنین ارتباطات مستقیم این ناحیه با قشر جلوپیشانی مغز [۳۰،۳۱] در تعیین نقش این ناحیه در بروز اثرات استرس موثر هستند.

تحقیقات نشان می‌دهند که بدن در مواجه با هر عامل استرس‌زا مکانیسم‌های جبرانی را برای کاهش اثرات زیان‌بار آن فعال می‌کند. مهم‌ترین مکانیسم بدن برای مقابله با استرس‌های مختلف، فعال شدن دو محور سمپاتوآدرنال و هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال (HPA) می‌باشد [۳۲]. هنگامی که مغز یک پدیده را تهدید (استرس‌زا) تفسیر کند، بخش مرکزی آمیگدال پیام‌هایی را به هسته پاراونتریکوالر هیپوتالاموس می‌فرستد که باعث تحریک نورون‌های این هسته می‌شود. دو گروه اصلی نورونی در این هسته وجود دارند که به نام‌های درشت سلول (ماگنوسلولار) و ریز سلول (پاروسلولار) معروف هستند. سلول‌های ریز یا کوچک پپتیدی به نام فاکتور محرک ترشح کورتیکوتروپین (CRF) را به درون سیستم عروقی باب هیپوتالاموس- هیپوفیز ترشح می‌کنند که با اثر بر سلول‌های قسمت قدامی هیپوفیز تولید و ترشح هورمون ACTH را افزایش می‌دهند. هورمون ACTH به خون ترشح شده و به قسمت خارجی قشر غده فوق کلیه (ناحیه فاسیکولاتا) می‌رسد [۳۳]. در این ناحیه این هورمون با تحریک گیرنده‌های خود باعث افزایش تولید گلوکوکورتیکوئیدهای مختلف مانند کورتیزول (در انسان) و کورتیکوسترون (در جوندگان) می‌شود [۳۳]. این امر باعث افزایش این هورمون‌ها در خون شده و به دنبال آن اثرات این هورمون‌ها ظاهر می‌شود. البته در تحقیق ما میزان کورتیکوسترون پلاسما اندازه‌گیری نشد، اما در تحقیق قبلی این گروه [۲۱]، نیز افزایش غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون در اثر القاء استرس شوک الکتریکی کف پا در موش کوچک آزمایشگاهی توسط صادقی و همکاران نشان داده شده است. روش القاء استرس در تحقیق حاضر دقیقاً مشابه روش مورد استفاده صادقی و همکاران است و به همین دلیل می‌توان اظهار کرد که در تحقیق حاضر هم القاء شوک الکتریکی کف پا یک عامل استرس‌زا بوده که باعث بروز اثرات استرس شده است. هم‌چنین، این افزایش در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر و ماده باردار به همین روش [۳۴] و نیز با روش استرس صوتی [۳۵] دیده شده است.

همان‌طور که انتظار می‌رفت، چندین روز پس از اتمام دوره القاء استرس شوک الکتریکی کف پا، حیوانات استرس دیده هنوز رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی زیادتری نسبت به حیوانات استرس ندیده داشتند. این نتیجه با تحقیقات قبلی در این زمینه هم‌خوان است و نشان می‌دهد که اثر استرس بر عملکرد و ساختار نورون‌ها تا چندین روز پس از ختم استرس باقی می‌ماند [۱]. در توضیح این پدیده می‌توان گفت که تحقیقات نشان داده‌اند که استرس باعث رها شدن گلوکوکورتیکوئیدها در خون می‌شوند و این هورمون‌ها پس از عبور از سد خونی-مغزی و اثر بر گیرنده‌های خود که در سیتوپلاسم سلول‌های هدف در ناحیه آمیگدال و هیپوکمپ قرار دارند، باعث بروز تغییرات موفولوژیکی و عملکردی در نورون‌های این بخش‌ها می‌شوند [۳۶،۳۷]. این تغییر عملکرد را بازآرائی عصبی می‌نامند و علت بروز اضطراب (آمیگدال) و افسردگی (هیپوکمپ) را همین بازآرایی عصبی می‌دانند. این بازآرائی عصبی امری پایدار است و در هیپوکمپ تا چندین روز و در آمیگدال تا سه هفته قابل ردیابی است [۳۸]. پایه سلولی-مولکولی این بازآرائی عصبی را تاثیر گلوکوکورتیکوئیدها بر نقل و انتقالات عصبی گلوتامات و تغییر بیان زیرواحدهای گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی می‌دانند [۳۹،۴۰]. در تحقیق ما هم نتایج بررسی‌های رفتاری نشان داد که استرس شوک الکتریکی کف پا می‌تواند باعث بروز پایداری در بروز رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی در حیوانات شود. تحقیقات قبلی در موارد متعدد هم‌خوان با تحقیق ما بوده‌اند اما، در تحقیقات قبلی، استرس مورد استفاده، استرس بی‌حرکتی بوده است که هر روز سه ساعت و به مدت بیست و یک روز به حیوانات القاء می‌شده است [۳۸]. این مدت طولانی استرس یکی از نکاتی است که ممکن است سئوال برانگیز باشد. چرا که ممکن است گفته شود محققان آن‌قدر به حیوان استرس وارد کرده‌اند که بالاخره نتیجه مورد نظر خود را گرفته‌اند. در کنار آن، استرس طولانی‌مدت ممکن است به بروز بازآرائی و یا حتی تخریب‌های گسترده سایر نواحی دستگاه عصبی مانند قشر جلوپیشانی و هیپوتالاموس [۳۸] هم، منجر شود. در حالی‌که تحقیقات قبلی ما نشان داده است که استرس اعمال شده در تحقیق حاضر به دلیل دوره اعمال کوتاه‌تر اثرات تغییردهنده مورفولوژیک کم‌تری دارد. در هر حال، تحقیق ما نشان داد که از روش استرس شوک الکتریکی کف با دوره زمانی محدود برای ایجاد مدل بروز رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی می‌توان استفاده کرد.

از طرف دیگر، تحقیق ما نشان داد که تجویز ممانتین چه به‌صورت محیطی و چه به‌صورت مرکزی (داخل هیپوکمپ پشتی) باعث کاهش و یا افزایش اثرات استرس در القاء پایداری در بروز رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی در حیوانات

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

می‌شود. در نگاه اول نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی به‌خصوص آن‌هایی که در هیپوکمپ پشتی قرار دارند، اثر مهمی در میانجیگری اثرات استرس در القاء پایداری بروز رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی دارند، چرا که ممانتین با مهار این گیرنده‌ها توانسته است که در اثرات استرس مداخله کند. البته بایستی بیان شود که در زمینه اثربخشی ممانتین در میانجیگری اثرات پایدار استرس در القاء پایداری بروز رفتارهای شبه اضطرابی و شبه افسردگی تحقیقی انجام نشده است و در تحقیقات قبلی بلافاصله پس از ختم دوره استرس، این رفتارها در حیوانات تست شده است [۲۰]. در آن تحقیقات ممانتین قادر به مهار اثرات استرس در القاء اضطراب و افسردگی بوده است [۲۰]، و به همین دلیل محققان پیشنهاد داده‌اند که ممانتین به عنوان یک داروی کمکی در کنار درمان‌های اصلی برای درمان اضطراب مورد استفاده قرار گیرد [۱۸]. البته کارآمدی استفاده از ممانتین برای کاهش اثرات متابولیکی استرس در تحقیقات قبلی که از روش استرس شوک الکتریکی کف پا در موش کوچک آزمایشگاهی استفاده شده است نشان داده شده است و نتایج حاکی از آن است که تجویز محیطی و داخل آمیگدالی ممانتین باعث کاهش اثرات متابولیکی استرس می‌شود. هر چند، همان‌طور که قبلاً گفته شد، در آن تحقیقات نیز اثر ممانتین در کاهش عوارض متابولیکی استرس شوک الکتریکی کف پا بلافاصله بعد از اتمام دوره القاء استرس بررسی شده است [۲۱،۲۲]. تحقیقات قبلی نشان داده است که ممانتین می‌تواند باعث مهار افزایش کورتیکوسترون پلاسما در اثر استرس شود [۲۰،۲۱]. از آن‌جا که افزایش شدید کورتیکوسترون پلاسمائی ناشی از استرس را عامل اصلی بروز بازآرائی عصبی در مناطق حساس به استرس مغز از جمله آمیگدال و هیپوکمپ می‌دانند [۳۶،۳۷]، اعتقاد بر این است که اگر به روشی بتوان از این افزایش پیشگیری کرد، می‌توان انتظار داشت که عوارض ناشی از استرس مانند احتمال بروز افسردگی و اضطراب نیز، کاهش یابد [۴۰]. در همین زمینه، محققان دریافته‌اند که سیستم گلوتاماتی مغز تحت تاثیر هورمون‌های استرسی (کورتیکوسترون و کورتیزول) دست‌خوش تغییرات زیادی در ساختار و عملکرد گیرنده‌های خود می‌شود [۴۱]. همین تغییرات را پایه اصلی بروز بیماری‌های عصبی–روانی دانسته‌اند [۴۱]. تحقیقات متعددی نیز بر نقش آنتاگونیست گیرنده‌های گلوتاماتی از جمله کتامین و ممانتین در درمان بیماری‌های عصبی–روانی مانند اضطراب و افسردگی تاکید دارند [۴۲،۴۳]. تمامی این تحقیقات نشان‌دهنده اثرات مفید آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتاماتی در کاهش بیماری‌هایی مانند افسردگی و اضطراب از یک سو و تاثیر ممانتین در کاهش اثرات متابولیکی و ساختاری استرس از سوی دیگر می‌باشند.

از سوی دیگر، تحقیق ما نشان داد که تجویز ممانتین به داخل هیپوکمپ پشتی باعث افزایش زمان بی‌حرکتی (رفتار شبه افسردگی) در حیوانات استرس ندیده، پس از گذشت یک هفته از ختم تزریق دارو شد. این اثر ممانتین تاکنون گزارش نشده است و این موضوع برای ما هم جالب بود. القاء رفتار شبه اضطرابی در اثر تزریق داخل هیپوکمپ پشتی آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA یعنی MK-801 دیده شده است [۴۴]، اما تاثیر این آنتاگونیست‌ها بر بروز افسردگی در این ناحیه گزارش نشده است. از طرف دیگر، باید توجه داشت که تزریق دارو در این حیوانات چندین روز قبل خاتمه یافته بود و این حیوانات در حالت بدون دارو تست شده‌اند و این نکته مهمی در یافته ماست که فعلاً پاسخی برای آن نیست. از طرف دیگر، ممکن است در طی چند روز تزریق آنتاگونیست به داخل هیپوکمپ پشتی، نوعی حساسیت در گیرنده‌های NMDA موجود در این ناحیه ایجاد شده باشد که باعث بروز این وضعیت شده باشد. در تحقیقات قبلی در مورد گیرنده‌های دوپامینی و نیز گیرنده‌های اوپیوئیدی دیده شده است که مهار دائم این گیرنده‌ها پس از مدتی باعث بروز پدیده حساسیت در نورون‌های بیان‌کننده این گیرنده‌ها شده است که با افزایش تعداد و تمایل این گیرنده‌ها به لیگاند آن‌ها همراه بوده است [۴۵،۴۶]. این‌که در مورد سیستم گلوتاماتی مغز به‌خصوص در هیپوکمپ پشتی هم همین مکانیسم صادق است؟ سئوالی است که بایستی در تحقیقاتی بعدی روشن شود. نکته دیگری که در تحقیق حاضر دیده شد، کاهش زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری در موش‌های استرس ندیده دریافت‌کننده دوز کم ممانتین محیطی بود. در این‌جا نیز توضیحی در منابع دیده نشده است، اما در تحقیقات قبلی مشخص شده است که مهار گیرنده‌های گلوتاماتی باعث بهبود افسردگی شده است [۱۹] و حتی برخی محققان ممانتین را به عنوان یک داروی کارآمد در درمان اضطراب نام برده‌اند [۱۸]. اما این‌که تجویز ممانتین باعث کاهش افسردگی می‌شود را با آزمایش حاضر نمی‌توان به‌طور دقیق اثبات کرد. بایستی در نظر داشت که روش استرس شنای اجباری که یک مدل حیوانی پذیرفته شده در بررسی افسردگی است، همواره به عنوان یک مدل قطعی در القاء رفتار شبه افسردگی در حیوانات مد نظر محققان نبوده است و محققان روش‌های دیگری را هم برای القاء رفتار شبه افسردگی در حیوانات مد نظر داشته‌اند که از آن جمله می‌توان به مدل رانده شدن اجتماعی اشاره کرد [۲۸]. به همین دلیل، تحقیقات دیگری را با مدل استرس رانده شدن اجتماعی پیشنهاد می‌کنیم تا عملکرد ممانتین در کاهش افسردگی ناشی از استرس را بهتر درک کنیم.

با توجه به این‌که استرس‌های شدید مانند سوانح و حوادث و یا طولانی‌مدت مانند استرس‌هایی که به دلیل سبک زندگی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

موجود در افراد ایجاد می‌شوند، ممکن است به بروز بیماری‌های شدید روانی و حتی خودکشی منجر شوند [۱]، و از سوی دیگر، ممانتین یک داروی موجود در فارماکوپه جهانی است و هم اکنون در مواردی مثل بیماری آلزایمر تجویز می‌شود [۴۷]، تحقیق ما می‌تواند راه‌گشای این نکته باشد که ممکن است با پیش درمانی توسط ممانتین بتوان از بروز این بیماری‌ها به دلیل استرس شدید و یا مزمن جلوگیری کرد. انجام تحقیقات بالینی و هم‌چنین مطالعاتی که در آن‌ها از این دارو پس از القاء استرس استفاده شود، یقیناً به بهبود فهم و درک ما هم از مکانیسم استرس و هم به تبع آن از نحوه برخورد با استرس کمک خواهد کرد.

تشکر و قدردانی

این کار با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله انجام گرفت.

منابع

[1] Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Richards MC, Wakabayashi C, Kunugi H. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, down regulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. Prog Neuro-Psychoph 2012; 39: 112-119.

[2] Nasca C, Zelli D, Bigio B, Piccinin S, Scaccianoce S, Nisticò R, McEwen BS. Stress dynamically regulates behavior and glutamatergic gene expression in hippocampus by opening a window of epigenetic plasticity. Nat Acad Sci 2015; 112: 14960-14965.

[3] Li M, Li X, Zhang X, Ren J, Jiang H, Wang Y, et al. Effects of prenatal chronic mild stress exposure on hippocampal cell proliferation, expression of GSK-3α, β and NR2B in adult offspring during fear extinction in rats. Int J Dev Neur 2014; 35: 16-24.

[4] Boyle LM. A neuroplasticity hypothesis of chronic stress in the basolateral amygdala. Yale J Biol Med 2013; 86: 117-125.

[5] Christian KM, Miracle AD, Wellman CL, Nakazawa K. Chronic stress-induced hippocampal dendritic retraction requires CA3 NMDA receptors. Neuroscience 2011; 174: 26-36.

[6] Shekhar A, Truitt W, Rainnie D, Sajdyk T. Role of stress, corticotrophin releasing factor (CRF) and amygdala plasticity in chronic anxiety. Stress 2005; 8: 209-219.

[7] Calabrese F, Guidotti G, Molteni R, Racagni G, Mancini M, Riva MA. Stress-induced changes of hippocampal NMDA receptors: modulation by duloxetine treatment. PloS One 2012; 7: e37916.

[8] Mathew SJ, Coplan JD, Smith EL, Schoepp DD, Rosenblum LA, Gorman JM. Glutamate—hypothalamic-pituitary-adrenal axis interactions: implications for mood and anxiety disorders. CNS Spectrums 2001; 6: 555-564.

[9] Roberto M, Gilpin NW, Siggins GR. The central amygdala and alcohol: role of γ-aminobutyric acid, glutamate, and neuropeptides. Cold Spring Harb Perspect Med 2012; 2: a012195.

[10] Meng FT, Zhao J, Fang H, Liu YJ. The influence of chronic stress on anxiety-like behavior and cognitive function in different human GFAP-ApoE transgenic adult male mice. Stress 2015; 18: 419-426.

[11] Zhu S, Wang J, Zhang Y, Li V, Kong J, He J, Li XM. Unpredictable chronic mild stress induces anxiety and depression-like behaviors and inactivates AMP-activated protein kinase in mice. Brain Res 2014; 1576: 81-90.

[12] Zhu S, Shi R, Wang J, Wang JF, Li XM. Unpredictable chronic mild stress not chronic restraint stress induces depressive behaviours in mice. Neuroreport 2014; 25: 1151-1155.

[13] Kavushansky A, Richter-Levin G. Effects of stress and corticosterone on activity and plasticity in the amygdala. J Neurosci Res 2006; 84: 1580-1587.

[14] Maroun M, Ioannides PJ, Bergman KL, Kavushansky A, Holmes A, Wellman CL. Fear extinction deficits following acute stress associate with increased spine density and dendritic retraction in basolateral amygdala neurons. Eur J Neurosci 2013; 38: 2611-2620.

[15] Masneuf S, Lowery-Gionta E, Colacicco G, Pleil KE, Li C, Crowley N, et al. Glutamatergic mechanisms associated with stress-induced amygdala excitability and anxiety-related behavior. Neuropharmacology 2014; 85: 190-197.

[16] Chen H, Pellegrini J, Aggarwal S, Lei SZ, Warach S, Jensen FE, et al. Open-channel block of N-methyl-D-aspartate (NMDA) responses by memantine: therapeutic advantage against NMDA receptor-mediated neurotoxicity. J Neuroscience 1992; 12: 4427-4436.

[17] Johnson JW, Kotermanski SE. Mechanism of action of memantine. Curr Opin Pharmacol 2006; 6: 61-67.

[18] Schwartz TL, Siddiqui UA, Raza S. Memantine as an augmentation therapy for anxiety disorders. Case Rep Psychiatry 2012; 2012: 749796.

[19] Maeng S, Zarate CA. The role of glutamate in mood disorders: results from the ketamine in major depression study and the presumed cellular mechanism underlying its antidepressant effects. Curr Psychiatr Rep 2007; 9: 467-474.

[20] Réus GZ, Abelaira HM, Stringari RB, Fries GR, Kapczinski F, Quevedo J. Memantine treatment reverses anhedonia, normalizes corticosterone levels and increases BDNF levels in the prefrontal cortex induced by chronic mild stress in rats. Metab Brain Dis 22012; 7: 175-182.

[21] Sadeghi BA, Sahraei HE, Zardooz H, Alibeik HE, Sarahian N. Effects of intra-amygdala memantine infusion on metabolic symptoms induced by chronic stress in male NMRI mice. Koomesh 2015; 16: 376-383. (Persian).

[22] Osanloo N, Sarahian N, Zardooz H, Sahraei H, Sahraei M, Sadeghi B. Effects of memantine, an NMDA antagonist, on metabolic syndromes in female NMRI mice. Basic Clin Neurosci 2015; 6: 239-252.

[23] Réus GZ, Stringari RB, Kirsch TR, Fries GR, Kapczinski F, Roesler R, et al. Neurochemical and behavioural effects of acute and chronic memantine administration in rats: Further support for NMDA as a new pharmacological target for the treatment of depression? Brain Res Bull 2012; 81: 585-589.

[24] Zarrindast MR, Nasehi M, Piri M, Heidari N. Effects of cholinergic system of dorsal hippocampus of rats on MK-801 induced anxiolytic-like behavior. Neurosci Lett 2011; 505: 65-70.

[25] Musazzi L, Racagni G, Popoli M. Stress, glucocorticoids and glutamate release: effects of antidepressant drugs. Neurochem Int 2011; 59: 138-149.

[26] Paxinos G, Franklin kBJ. The mouse brain in stereotaxic coordinates. California: Elsevier Science 2001.

[27] Komada M, Takao K, Miyakawa T. Elevated plus maze for mice. JoVE 2008; 22.

[28] Can A, Dao DT, Arad M, Terrillion CE, Piantadosi SC, Gould TD. The mouse forced swim test. Journal of visualized experiments: JoVE 2012; 59.

[29] Gulyaeva NV. Functional neurochemistry of the ventral and dorsal hippocampus: Stress, depression, dementia and remote hippocampal damage. Neurochem Res 2018; 44: 1-17.

[30] Barbas H, Blatt GJ. Topographically specific hippocampal projections target functionally distinct prefrontal areas in the rhesus monkey. Hippocampus 1995; 5: 511-533.

[31] Verwer RW, Meijer RJ, Van Uum HF, Witter MP. Collateral projections from the rat hippocampal formation to the lateral and medial prefrontal cortex. Hippocampus 1997; 7: 397-402.

[32] Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. Eur J Pharmacol 2003; 463: 235-272.

[33] Miller DB, O'Callaghan JP. Neuroendocrine aspects of the response to stress. Metab-Clin Experiment 2002; 51: 5-10.

[34] Maghami S, Sadeghimahalli F, Zardooz H. Effects of maternal separation stress on glucose homeostasis in pubertal male rats. Koomesh 2017; 19: 887-893. (Persian).

[35] Bijani S, Najafi Abedi A, Ranjbaran M, Sadeghi Gharajeh Daghi S, Ghoshooni H, Zardooz H, et al. Effects of noise pollution stress during pregnancy on anatomical and functional brain cortex development of the off springs of NMRI mice. Koomesh 2013; 14: 192-199. (Persian).

[36] Duvarci S, Pare D. Glucocorticoids enhance the excitability of principal basolateral amygdala neurons. J Neurosci 2007; 27: 4482-4491.

[37] Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LA, Fuchs E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

by psychosocial stress and NMDA receptor activation. J Neurosci 1997; 17: 2492-2498.

[38] McEwen BS. Stress and hippocampal plasticity. Ann Rev Neurosci 1999; 22: 105-122.

[39] Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. Nat Rev Neurosci 2012; 13: 22-37.

[40] Lau CG, Zukin RS. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. Nat Rev Neurosci 2007; 8: 413-426.

[41] Nasca C, Bigio B, Zelli D, Nicoletti F, McEwen BS. Mind the gap: Glucocorticoids modulate hippocampal glutamate tone underlying individual differences in stress susceptibility. Mol Psychiatry 2015; 20: 755-763.

[42] Lehner M, Wisłowska-Stanek A, Gryz M, Sobolewska A, Turzyńska D, Chmielewska N, et al. The co-expression of GluN2B subunits of the NMDA receptors and glucocorticoid receptors after chronic restraint stress in low and high anxiety rats. Behav Brain Res 2017; 319: 124-134.

[43] Li N, Liu RJ, Dwyer JM, Banasr M, Lee B, Son H, et al. Glutamate N-methyl-Daspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure. Biol Psychiatry 2011; 69: 754-761.

[44] Liu L, Zhang L, Wang T, Chen L. Dopamine D1 receptor in the medial prefrontal cortex mediates anxiety-like behaviors induced by blocking glutamatergic activity of the ventral hippocampus in rats. Brain Res 2019; 1704: 59-67.

[45] Grecksch G, Bartzsch K, Widera A, Becker A, Höllt V, Koch T. Development of tolerance and sensitization to different opioid agonists in rats. Psychopharmacology 2006; 186: 177-184.

[46] Vezina P. Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. Neurosci Biobehav Rev 2004; 27: 827-839.

[47] Diazgranados N, Ibrahim L, Brutsche NE, Newberg A, Kronstein P, Khalife S, et al. A randomized add-on trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment resistant bipolar depression. Arch Gen Psychiatry 2010; 67: 793-802.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

Volume 21, Issue 4 (Autumn 2019), 716-725

NMDA glutamate receptor inhibition in the dorsal hippocampus reduced the maintenance of electric foot shock stress -induced anxiety and depression like behaviors in mice

Elham Samkhanian (M.Sc)[1], Davud Nodehei (Ph.D)[2], Fatemeh Salem (Ph.D)[3], Mohammad Hossein Zarghami (Ph.D)[2], Maryam Khosravi (Ph.D) [1], Boshra Hatef (Ph.D) [4], Hedayat Sahraei (Ph.D) [4], Hassan Ghoshooni (Ph.D)[*4,5]

1- Department of Biology, School of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
2-Behavioral Science Research Center, Life Style Institute, Baqyiatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3-Depratment of Pharmacology, School of Pharmacy, Baqyiatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Neuroscience Research Center, Baqyiatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Department of Physiology and Biophysics, School of Medicine, Baqyiatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 9123115046 ghoshooni287@gmail.com
Received: 15 Oct 2018; Accepted: 13 May 2019

Introduction: In the present study, the effect of inhibition of glutamate NMDA receptors located in the dorsal hippocampus on the maintenance of anxiety and depression like behaviors induced by electric foot shock stress was investigated.

Materials and Methods: NMARI male mice were divided into two categories. The first category received electro foot shock for 30 minutes after injection of memantine (1, 5 and 10 mg/kg) or saline (1ml/kg) intraperitoneally. The second category was bilaterally cannulated in the dorsal hippocampus and one week later, the animals first received different doses of memantine (1, 5 and 10 µg /mouse) intra-hippocampally and five min before stress. Remarkably, this procedure was repeated for 4 consecutive days. Six days after stress termination, maintenance of anxiety in animals was examined using the elevated plus maze. Two days after the anxiety test, forced swimming test was conducted for depression like behavior maintenance evaluation.

Results: Stress reduced the open arm time in the elevated plus maze. Intraperitoneal administration of memantine prevented the stress effect. Also, intra-dorsal hippocampus administration of memantine preventd the maintenance of anxiety induced by stress. Stress also increased the immobility time in the forced swimming test. Both intraperitoneal and intra-dorsal hippocampus administration of memantine inhibited the maintenance of depression induced by stress.

Conclusion: Electric foot shock can lead to persistence anxiety and depression like behavior in mice. Inhibition of NMDA glutamate receptors in the dorsal hippocampus reduced the stress response.

Keywords: Anxiety, Depression, Glutamate NMDA Receptors, Memantine

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]