

The role of muscarinic cholinergic receptor of the bed nucleus of stria terminalis on cardiovascular response and baroreflex modulation in rat.

Ali Nasimi¹, Alimohamad Moradi², Mardomak Ravari², Fathemeh Kharazmi², Masoumeh Hatam^{2*}

1. Dept. Physiology, Isfahan University Medical sciences, Isfahan, Iran

2. Dept. Physiology, Hormozgan University Medical sciences, Bandar Abbas, Iran

Received: 13 Jul 2008

Revised: 29 Oct 2008

Accepted: 12 Nov 2008

Abstract

Introduction: The bed nucleus of the stria terminalis (BST) is a limbic structure which is involved in cardiovascular regulation and baroreflex modulation. The presence of cholinergic synaptic terminalis with high level of muscarinic receptors in the BST has been demonstrated. This study was performed to find the role of the cholinergic muscarinic receptor in cardiovascular response and baroreflex activity in urethane anesthetized rat.

Methods: Acetylcholine (Ach, 3, 6 nmol in 50 nl) was microinjected unilaterally into the BST of 53 urethane anesthetized male rats. Femoral artery and vein were cannulated to record the blood pressure (AP) and heart rate (HR), respectively. The maximum average changes in the mean arterial pressure (MAP) and (HR), were compared with control group and before injection using t-test and paired t-test, respectively. To evaluate baroreflex activity, bradycardia values corresponding to progressive 20 mmHg increases in MAP were determined. The slope of the linear regression curves was calculated and compared to before injection using ANOVA repeated measure.

Results: Microinjection of Ach into the dorsal, lateral and ventral portion of the BST resulted in an increase of AP (20.69 ± 1.8 mmHg, $p < 0.01$) with no significant changes of the HR. The pressor response evoked by Ach was blocked by microinjection of atropine into the BST. However, atropine did not affect the bradycardia reflex evoked by increased blood pressure caused by intravenous phenylephrine injection. Microinjection of cobalt chloride into the BST did not affect the baseline AP and HR but significantly increased bradycardic response to lower pressure changes (less than 40 mm Hg) and decreased bradycardic response to higher pressure changes (more than 40 mm Hg) ($p > 0.05$) indicating that neuronal circuitry of BST is an essential part of the baroreflex..

Conclusion: The present study indicated that the BST muscarinic receptors are involved in the cardiovascular regulation but are not involved in the modulation of baroreflex activity, although synapses within the BST have influence on the bradycardia baroreflex component.

Keywords: bed nucleus of stria terminalis, baroreflex, blood pressure, heart rate, acetylcholine, atropine, and cobalt chloride.

* Corresponding author e- mail: mhatam@hums.ac.ir
hatam_m@yahoo.com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

نقش گیرنده موسکارینی سیستم کولینرژیک هسته بستر الیاف عصبی انتهایی بر پاسخ‌های قلبی عروقی و رفلکس بارورسپتوری در موش آزمایشگاهی بزرگ

علی نسیمی^۱، علی محمد مرادی^۲، مردمک راوری^۲، فاطمه خوارزمی^۲، معصومه حاتم^{۲*}

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، هرمزگان

دریافت: ۲۳ تیر ۸۷ بازبینی: ۸ آبان ۸۷ پذیرش: ۲۲ آبان ۸۷

چکیده

مقدمه: هسته بستر الیاف انتهایی (bed nucleus of stria terminalis, BST) بخشی از سیستم لیمبیک است که نقش آن در اعمال قلبی عروقی و رفلکس بارورسپتوری نشان داده شده است. پایانه‌های کولینرژیک و گیرنده‌های موسکارینی فراوانی در این هسته یافت شده است. این مطالعه به منظور بررسی دخالت نقش این گیرنده‌ها در اعمال قلبی عروقی و فعالیت بارورفلکس صورت گرفته است.

روش‌ها: استیل کولین با دوز ۳ و ۶ نانومول با حجم ۵۰ نانولتر بصورت یکطرفه توسط میکروپیپت در BST ۵۳ سر موش صحرایی نر بیهوش با یورتان تزریق شد. شریان و ورید رانی به منظور ثبت فشار خون و ضربان قلب و تزریق داروها کانول گذاری شد. میانگین حداکثر فشار متوسط شریانی و ضربان قلب در هر گروه با قبل از آزمایش و با گروه کنترل با آزمون‌های t زوج و t مستقل مقایسه گردید. به منظور ارزیابی بارورفلکس، میزان برادی کاردی به ازاء هر ۲۰ میلی‌متر جیوه افزایش فشار محاسبه گردید و شیب خطوط رگرسیون با قبل از تزریق با آزمون آنالیز واریانس با اندازه گیری مکرر مقایسه شد.

یافته‌ها: تزریق استیل کولین (۶ نانومول) به بخش‌های پستی، جانبی و شکمی BST باعث افزایش فشار خون به میزان $1/8 \pm 20/69$ میلی‌متر جیوه ($p < 0.01$) بدون تغییر در ضربان قلب شد. تزریق آتروپین، پاسخ‌های افزایش فشار ناشی از تزریق استیل کولین را از بین برد، در حالیکه بر میزان برادی کاردی رفلکسی بدنبال افزایش فشار ناشی از تزریق داخل وریدی فنیل افرین اثری نگذاشت. تزریق کلرور کبالت به درون BST خود تأثیری بر فشار خون و ضربان قلب نگذاشت ولی برادی کاردی را در افزایش فشارهای کمتر از ۴۰ میلی‌متر جیوه با تزریق داخل وریدی فنیل افرین افزایش و در افزایش فشارهای بالاتر از ۴۰ میلی‌متر جیوه کاهش داد. ($p > 0.05$) نشان می‌دهد که BST نقش مهمی در عمل بارورفلکس دارد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که گیرنده‌های موسکارینی در کنترل فشار خون و ضربان قلب نقش دارد اما تأثیری بر فعالیت بارورفلکسی ندارد در حالیکه سیناپس‌های موجود در BST بر بخش برادیکاردی رفلکس بارورسپتوری موثر است.

واژه‌های کلیدی: هسته بستر الیاف عصبی انتهایی، بارورفلکس، فشارخون و ضربان قلب، استیل کولین، آتروپین و کلرور کبالت.

مقدمه

مرکزی قلب و گردش خون وجود دارد [۱۰، ۴]. ارتباطات این هسته با مناطق مهم قلب و گردش خون از جمله هسته پارا و نتریکولار هیپوتالاموس [۲۱] هسته‌های و نترولترال مدولا [۱۲، ۷] هسته آمیگوس [۲۵] و هسته مسیر منزوی [۱۲] و آمیگدال [۱۹] نشان داده شده است. تحریک شیمیایی BST با آل-گلوتامات یا دی-آل همو سیستمیک اسید آنالوگ گلوتامات

مدارک متعددی مبنی بر نقش هسته‌های بستر الیاف عصبی انتهایی (BST) bed nucleus stria terminalis در کنترل

mhatam@hums.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

ضربان قلب بررسی نماییم و در بخش دیگری نقش این هسته را بر پاسخ‌های بارو رفلکسی باتزریق داخل وریدی فنیل افرین قبل و بعد از تزریق داخل هسته‌ای آتروپین و یا کلرور کبالت بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها

آزمایشات بر روی ۵۳ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. حیوانات بصورت دوتایی در قفس‌های مجزا و در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند و نمونه‌گیری بصورت تصادفی بوده است.

حیوانات با یوروتان؛ 4 g/kg (Merck) و دوز تکمیلی 3 g/kg در صورت لزوم، بصورت داخل صفاقی بیهوش گردیدند. عمق بیهوشی از طریق فشردن نوک انگشتان پای سالم با رفلکس Withdrawal کنترل می‌شد. دمای بدن حیوان توسط کنترل کننده دما (Narco-Bio System, U.S.A) در محدوده 1 ± 37 درجه سانتی‌گراد حفظ می‌گردید. نای حیوان به منظور تسهیل در تنفس کانول گذاری شد. برای ثبت فشار خون و ضربان قلب و تزریق داخل وریدی داروها، لوله پلی اتیلن PE50 حاوی سالی‌ن هپارین به ترتیب در شریان و ورید رانی قرار گرفت، سپس حیوان در دستگاه استریوتاکس (Stoelting, U.S.A.) داده شد و دو سوراخ کوچک توسط دریل در محل هسته ایجاد گردید.

فشار خون توسط ترانس‌دیوسر فشار اوسیلوگراف یونیورسال هاروارد و ضربان قلب توسط کاردیوتاکوگراف بطور پیوسته و در تمام مدت آزمایش ثبت گردید همچنین توسط یک برنامه کامپیوتری که در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی هرمزگان تهیه و نصب گردید فشار خون و ضربان قلب از اوسیلوگراف در کامپیوتر ذخیره می‌شد.

تحریک شیمیایی BST توسط یک میکروپیت شیشه‌ای حاوی استیل کولین که به کمک میکروالکتروپولر (Stoelting, U.S.A.) با قطر داخلی ۴۵-۳۵ میکرومتر تهیه شده بود انجام گرفت. میکروپیت توسط یک لوله پلاستیکی به سرنگ انسولین وصل شد و تزریق مواد با فشار هوای داخل

باعث کاهش فشار خون و ضربان قلب شد [۱۹،۱۰،۴] بیشترین پاسخ در فشار خون و ضربان قلب در یک محدوده هلالی شکل از هسته در اطراف سطوح جانبی، خلفی و شکمی رابط قدامی بوده است [۱۰،۴] تزریق داخل وریدی مهار کننده گیرنده موسکارینی، آتروپین متیل برومید تغییر معنی‌داری بر میزان کاهش فشار خون و ضربان قلب پس از تزریق داخل هسته‌ای گلوتامات ایجاد نکرد و این در حالی است که تزریق داخل هسته‌ای هگزامتونیوم مهار کننده گیرنده‌های نیکوتینی در گانگلیون‌های سیستم سمپاتیک پاسخ‌های کاهنده فشار خون و ضربان قلب را پس از تحریک BST با گلوتامات از بین برد [۴] این یافته‌ها نشان داده است که پاسخ‌های دپرسوری و برادی کاردی ناشی از تحریک نورون‌های BST با مهار فیبرهای منقبض کننده سمپاتیک عروقی و فیبرهای افزایش دهنده ضربان قلب بطور انتخابی میانجی‌گری می‌شود [۴].

در این هسته پایانه‌های کولینرژیک مشاهده شده است [۲۰] مطالعات دیگر وجود گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی را در این هسته مشخص نموده است [۲۳] بعلاوه نشان داده شده که تزریق استیل کولین به BST موجب فعال شدن گیرنده‌های موسکارینی شده است [۲] اما تا کنون مدارکی مبنی بر نقش نورون‌های کولینرژیک BST با تزریق استیل کولین بر فشار خون و ضربان قلب منتشر نشده است.

ارتباط BST با هسته‌های ساقه مغز مرتبط با بارورسپتورها و رفلکس بارو رسپتوری منجمله هسته شکمی جانبی بصل النخاع [۲۴]، هسته منزوی [۱۲] و هسته آمیگوس [۱۱] نشان داده شده و لذا دخالت BST را در فعال نمودن رفلکس بارورسپتوری پیشنهاد می‌کند. در یک مطالعه قطع اعصاب بارورسپتوری منجر به کاهش بیان پروتئین c-fos در BST شد، اما متعاقب تزریق داخل وریدی تزریق نیترو پروساید سدیم و ایجاد هیپوتانسیون بیان پروتئین افزایش یافت [۱۵]. در مطالعه دیگری تزریق داخل هسته‌ای کلرور کبالت مهار کننده انتقال سیناپسی به BST پاسخ‌های برادی کاردی بارو رفلکسی را بدنال تزریق داخل وریدی فنیل افرین را افزایش داد [۵] با وجود ارتباط BST با هسته‌های مرتبط با بارو رفلکس و وجود پایانه‌های کولینرژیک در مطالعه حاضر بر آن شدیم ابتدا نقش سیستم کولینرژیک را با تزریق داخل هسته‌ای استیل کولین به تنهایی و پس از تزریق داخل هسته‌ای آتروپین، بر فشار خون و

محلول سالین فرمالین ۱۰ درصد تزریق شد و مغز حیوان درون مجسمه فیکس گردید، پس از چند ساعت مغز خارج شده و پس از بریدن قسمت‌های اضافی، منطقه مورد نظر حداقل به مدت ۲۴ ساعت در سالین فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و برش‌های پشت سر هم توسط میکروتوم انجمادی (Crayo cut 1800) با ضخامت ۶۰ میکرون تهیه و به کمک رنگ Cresyl violet (Sigma) رنگ آمیزی شد. نمونه‌ها به کمک میکروسکوپ مشاهده و محل تزریق با اطلس پاکسینوز مطابقت داده می‌شد. مواردی که تزریق در خارج BST بود از آنالیز آماری حذف می‌گردید.

برای آنالیز داده‌ها ابتدا در تمام گروه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه، فشار خون و ضربان قلب بدون هیچ تزریقی ثبت شد تا از ثابت ماندن آنها اطمینان حاصل گردد سپس ثبت تا پایان هر آزمایش ادامه داشت. پس از هر آزمایش مقادیر فشار سیستول، فشار دیاستول و فشار متوسط شریانی و ضربان قلب، از برنامه ثبت کامپیوتر استخراج و جهت آنالیز به Excel انتقال داده شد و میانگین و خطای معیار داده‌ها در هر گروه محاسبه شد و مورد آنالیز آماری قرار گرفت. تغییر به میزان ۵ میلی‌متر جیوه برای فشارخون و ۵ ضربه در دقیقه برای ضربان قلب پاسخ منظور گردید و مورد آزمون آماری قرار گرفت [۳]. میانگین حداکثر تغییرات فشار متوسط شریانی و ضربان قلب به همراه انحراف معیار $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ با میانگین قبل از تزریق، با استفاده از آزمون t زوج و با گروه کنترل با آزمون t مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور ارزیابی فعالیت بارو رفلکس، حساسیت بارو رفلکس قبل از تزریق آتروپین و یا کلرور کبالت بعنوان کنترل و در دقایق ۰/۵، ۲/۵، ۵، ۱۵ و ۶۰ بعد از تزریق آتروپین و یا کلرور کبالت محاسبه گردید. بدین منظور به ازاء هر ۲۰ میلی متر جیوه افزایش حاد و پیشرونده فشار بعلت تزریق فنیل افرین، میزان کاهش ضربان قلب که به علت عملکرد جبرانی ناشی از فعالیت بارو رفلکس‌ها است، محاسبه گردید [۸، ۷، ۵]. شیب خط رگراسیون که عبارت است از میانگین تغییرات کاهش ضربان قلب تقسیم بر میانگین تغییرات افزایش فشار خون ($\Delta \text{HR} / \Delta \text{MAP}$) در دقایق قبل و دقایق ۰/۵، ۲/۵، ۵، ۱۵ و ۶۰ بعد از تزریق آتروپین و یا کلرور کبالت رسم گردید و با آنالیز واریانس با اندازه گیری مکرر

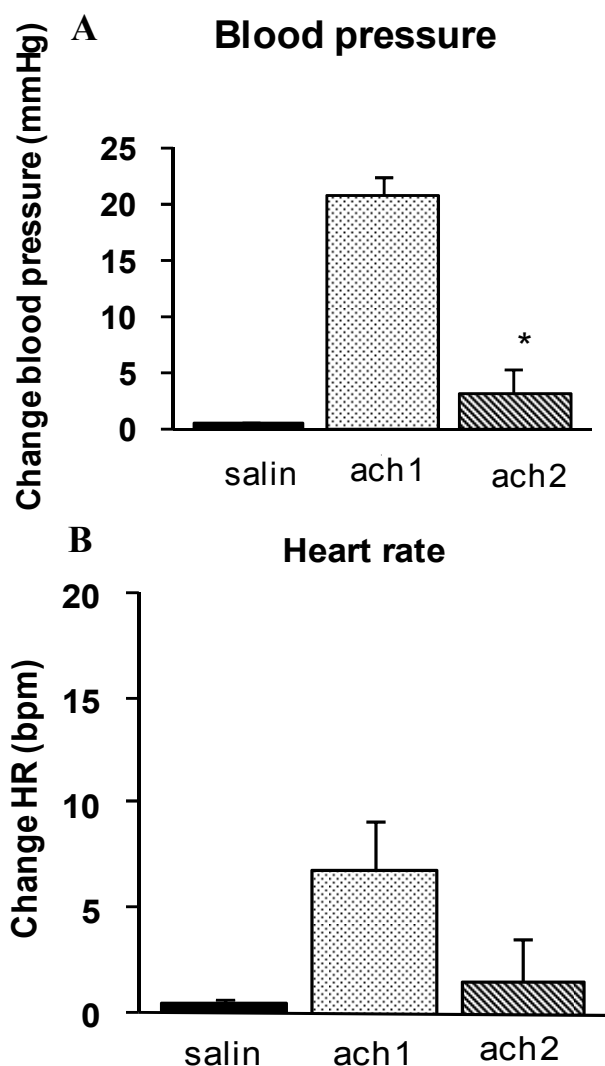
سرنگ انجام گرفت. حجم تمام محلول‌های تزریقی بین ۴۰-۵۰ نانولتر بود که با مشاهده مستقیم حباب مایع و هوا، توسط یک میکروسکوپ مخصوص با عدسی چشمی مدرج با دقت ۲ نانولتر (ساخت دانشگاه U.W.O کانادا) کنترل می‌گردید. مختصات هسته BST بکمک اطلس استریوتاکیسی پاکسینوز [۱۷] در محدوده ۸/۸۸ تا ۸/۵۲ میلی‌متر جلو خط Interaural، جانبی یک تا دو میلی‌متر از خط میانی و عمق ۶ تا ۷/۳ میلی‌متر از سطح مجسمه تعیین گردید. به منظور مطالعه همه بخش‌های هسته و پیدا نمودن منطقه کاردیوواسکولار، میکروپیت بتدریج و در فواصل ۱۰۰ میکرومتر و با فاصله زمانی نیم ساعت پس از هر تزریق به پایین و اطراف برده می‌شد و هسته در محدوده جانبی، جلویی عقبی و عمقی مورد کاوش قرار می‌گرفت پس از پیدا نمودن منطقه در هر حیوان یک مجموعه آزمایش انجام می‌گرفت لذا n تعداد حیوانات می‌باشد.

کلیه داروها در نرمال سالین حل می‌شدند در چهار حیوان نرمال سالین بعنوان حلال داروها تزریق شد. آزمایشات در دو بخش جداگانه در چهار گروه انجام گرفت.

در بخش اول به منظور شناسایی محل‌های کاردیوواسکولار در گروه اول، استیل کولین در دوزهای ۳ نانومول در چهار حیوان و ۶ نانومول در ۱۳ حیوان در درون BST تزریق شد سپس دوز ۶ نانومول انتخاب گردید در گروه دوم در ۱۵ حیوان ابتدا استیل کولین با دوز ۶ نانومول به درون BST تزریق شد پس از بازگشت فشار به سطح اولیه آتروپین مهار کننده گیرنده موسکارینی استیل کولین با دوز ۱۰ نانو مول به همان منطقه BST تزریق شد ۵ دقیقه بعد مجدداً استیل کولین به درون BST تزریق گردید.

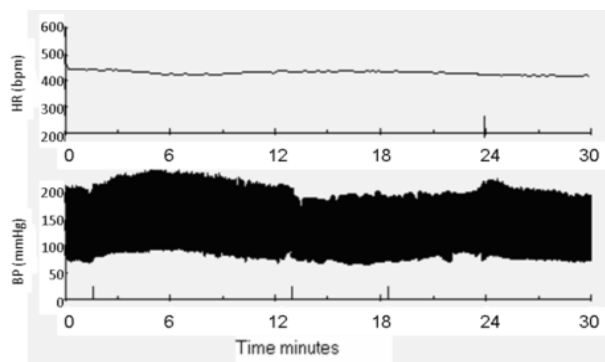
در بخش دوم در ۱۷ حیوان به منظور فعال نمودن سیستم بارو رفلکس فنیل افرین به صورت داخل وریدی با دوز ۲۰ میکرو گرم در کیلو گرم در ۵۰ الی ۱۰۰ میکرولیتر سالین تزریق شد ($20 \mu\text{g/kg}/0.1-0.05\text{ml}$) و پس از ۵ دقیقه در گروه سوم آتروپین با دوز ۱۰ نانومول ($n=9$) و در گروه چهارم کلرور کبالت با دوز ۵ میلی مول ($n=8$) به درون BST تزریق شد و مجدداً فنیل افرین در دقایق ۰/۵، ۲/۵، ۵، ۱۵ و ۶۰ پس از تزریق آتروپین و یا کلرور کبالت تزریق گردید.

پس از پایان هر آزمایش، از طریق پرفیوزن درون قلبی ۱۰۰ میلی لیتر محلول نرمال سالین هپارینه و سپس ۱۰۰ میلی لیتر



شکل ۲- مقایسه میانگین حداکثر تغییرات فشار متوسط شریانی (A) و ضربان قلب (B) بین گروه استیل کولین قبل از تزریق آتروپین (ach1) و بعد از تزریق آتروپین (ach2) با گروه سالین نشان داده شده است. ستاره‌ها معنی‌دار بودن میانگین را نسبت به کنترل نشان می‌دهد $P < 0.01$, BP, t-test

متوسط شریانی و ضربان قلب قبل از تزریق به ترتیب برابر $116/6 \pm 16/7$ و $409/6 \pm 12/5$ بود تزریق استیل کولین موجب افزایش فشار به میزان $22/8 \pm 4/19$ گردید، تغییرات در ضربان قلب برابر $(-2/8 \pm 2/46)$ بود سپس آتروپین با دوز ۱۰ نانومول به همان منطقه BST تزریق شد. میانگین فشار متوسط شریانی و ضربان قلب قبل از تزریق آتروپین به ترتیب برابر $116/9 \pm 17/1$ و $416/1 \pm 12/9$ بود که بعد از تزریق به مقادیر $116/1 \pm 14/4$ و $417/9 \pm 11/7$ تغییر یافت که معنی‌داری نمی‌باشد پس از ۵ دقیقه مجدداً استیل کولین ۶ نانومول تزریق گردید، میانگین حداکثر تغییرات فشار خون و ضربان قلب به ترتیب $1/38 \pm 2/95$ و $1/3 \pm 3/12$ میلی‌متر جیوه و ضربه در

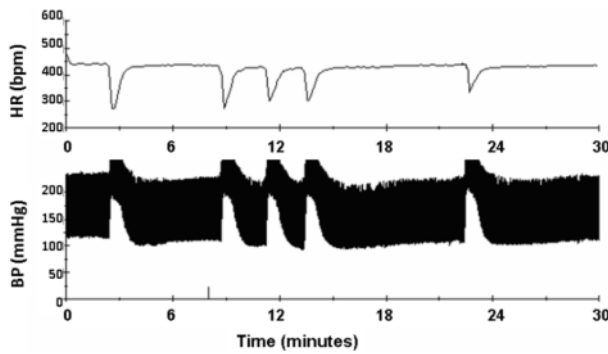


شکل ۳- یک نمونه از ثبت فشار خون و ضربان قلب پس از تزریق ۵۰ نانولیتتر محلول‌های ۶۰ نانومول استیل کولین، ۱۰ نانومول آتروپین و استیل کولین مجدداً. خطوط عمودی نشانگر زمان‌های تزریق است.

(ANOVA repeated measure) مورد آزمون قرار گرفت زمان تاخیر شروع رفلکس برادی کاردی حداکثر تا ۱/۵ ثانیه از شروع پاسخ افزایش فشار در نظر گرفته شد که ۷۰۰ میلی ثانیه برای وقایع درون سیناپس‌ها و مابقی مربوط دستگاه ثبت کننده است [۸]. برای انجام آزمون‌های آماری از نرم افزار SPSS 13 استفاده شده است

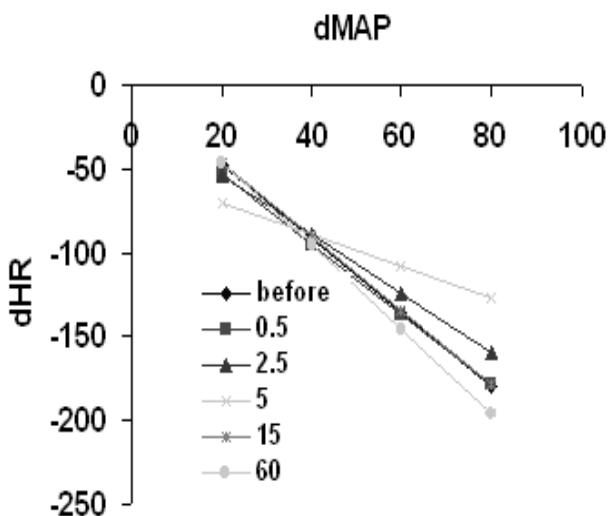
یافته‌ها

تزریق داخل هسته‌ای دوز ۳ و ۶ نانومول استیل کولین به طور وابسته به دوز باعث افزایش فشار متوسط شریانی بدون تغییر در ضربان قلب شد. میانگین فشار متوسط شریانی قبل از تزریق برای دوز ۳ نانومول برابر $122/1 \pm 18/8$ و دوز ۶ نانومول برابر $90/5 \pm 5/1$ میلی متر جیوه و برای ضربان قلب به ترتیب برابر $405/4 \pm 4/1$ و $439/6 \pm 7/8$ بود. افزایش فشار خون در هر دو دوز حدود یک دقیقه پس از تزریق آغاز و حداکثر تا ۱۰ دقیقه پس از تزریق ادامه می‌یافت حداکثر تغییرات در دقایق ۲ تا ۴ پس از تزریق بود، میانگین حداکثر افزایش فشار متوسط شریانی برای دوز ۳ نانومول برابر $14/37 \pm 5/2$ و برای دوز ۶ نانومول $20/69 \pm 1/8$ میلی‌متر جیوه بود که در دوز ۶ نانومول در مقایسه با قبل افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.01$, $t = -5.04$) و در مقایسه با گروه کنترل نیز تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0.01$, $t = 5.08$). در مورد ضربان قلب این تغییرات به ترتیب برابر $1 \pm 2/7$ و $-1/28 \pm 2/24$ بود که معنی‌دار نبودند. در بخش دیگری از این آزمایشات $n=15$ در مرحله اول استیل کولین با دوز ۶ نانومول به درون BST تزریق شد میانگین فشار

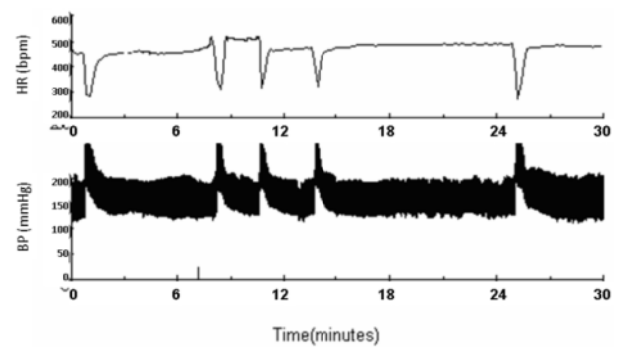


شکل ۵- یک نمونه از ثبت فشار خون و ضربان قلب پس از تزریق داخل وریدی فنیل افرین قبل و بعد از تزریق کلرور کبالت علامت پیکان نشانگر زمان تزریق کلرور کبالت است.

فنیل افرین در بخش دیگری مورد بررسی قرار گرفت. تزریق داخل وریدی فنیل افرین قبل و در دقایق ۰/۵، ۲/۵، ۵، ۱۵ و ۶۰ پس از تزریق داخل هسته‌ای کلرور کبالت در شکل ۵ نشان داده شده تزریق کلرور کبالت به BST خود تاثیری بر فشار خون و ضربان قلب نداشت میانگین فشار متوسط شریانی و ضربان قلب قبل از تزریق کلرور کبالت به ترتیب برابر $132/1 \pm 6/7$ و $428/8 \pm 8/7$ بود که بعد از تزریق به مقادیر $132/4 \pm 8/1$ و $428/3 \pm 8/1$ تغییر یافت در حالیکه بر بخش برادی کاردی رفلکس اثر گذاشت. شکل شماره ۶ شیب خطوط رگراسیون را برای کلرور کبالت نشان می‌دهد همانگونه که در شکل مشاهده می‌شود شیب خطوط پس از تزریق کلرور کبالت کاهش یافت و در دقیقه ۵ به حداقل میزان خود رسید آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر اختلاف معنی‌داری بین شیب خطوط نشان نداد اما مقایسه‌ی post-hoc با تست Dunnett تفاوت



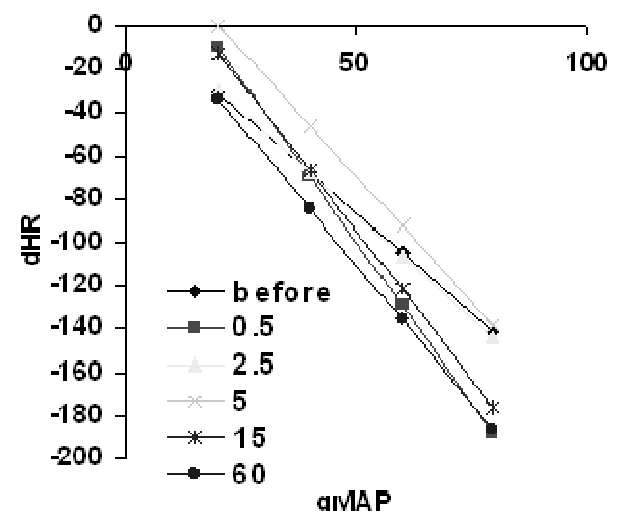
شکل ۶- خطوط رگراسیون در دقایق ۰/۵، ۲/۵، ۵، ۱۵ و ۶۰ پس از تزریق کلرور کبالت به درون BST



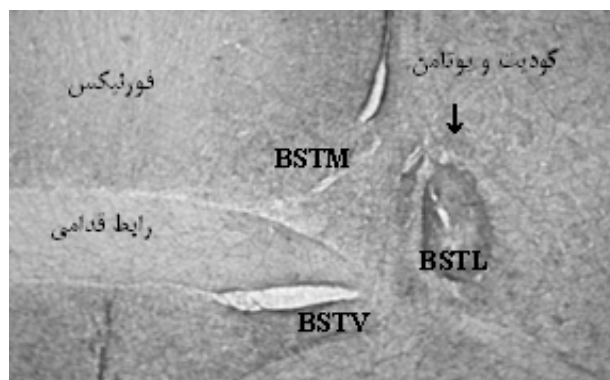
شکل ۳- یک نمونه از ثبت فشار خون و ضربان قلب پس از تزریق داخل وریدی فنیل افرین قبل و بعد از تزریق آتروپین خط عمودی نشانگر زمان تزریق آتروپین است.

دقیقه بود که در مورد فشار خون در مقایسه با استیل کولین قبل از آتروپین با ($P < 0.001$, $t = 13.4$) معنی‌دار است (شکل ۱ و ۲). در بخش دیگری اثر آتروپین بر پاسخ‌های بارورفلکسی ناشی از تزریق فنیل افرین بررسی شد. شکل شماره ۳ تزریق داخل وریدی فنیل افرین را قبل و در دقایق ۰/۵، ۲/۵، ۵، ۱۵ و ۶۰ پس از تزریق داخل هسته‌ای آتروپین نشان می‌دهد همانگونه که مشاهده می‌شود تزریق فنیل افرین موجب افزایش حاد فشار خون شد و بدن‌بال آن با فعالیت بارو رفلکس، ضربان قلب بطور جبرانی کاهش یافت. شیب خطوط رگراسیون برای قبل و دقایق بعد از تزریق آتروپین در شکل ۴ نشان داده شده است. آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر تفاوت معنی‌داری را در قبل از تزریق با بعد از آن و بین دقایق مختلف نشان نداده است که بیانگر عدم تاثیر آتروپین بر فعالیت بارو رفلکس است.

اثر کلرور کبالت بر پاسخ‌های بارورفلکسی ناشی از تزریق



شکل ۴- خطوط رگراسیون در دقایق ۰/۵، ۲/۵، ۵، ۱۵ و ۶۰ پس از تزریق آتروپین به درون BST

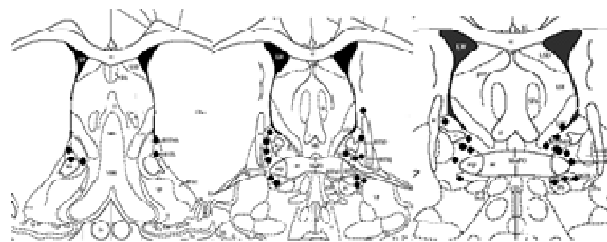


شکل ۸- یک نمونه از برش انجمادی در محل BST که با کریزل ویوله رنگ آمیزی شده است فلش محل تزریق را نشان میدهد.

همخوانی دارد ولی در مورد ضربان قلب مغایرت دارد یک توضیح احتمالی تفاوت این است که حجم تزریق کارباکول دو برابر حجم تزریق ما بوده است یعنی ۱۰۰ نانولیتتر که بنظر می آید حجم بالای تزریق موجب فعال شدن بارورفلکسها شده لذا کاهش ضربان قلب یک پاسخ جبرانی بدنبال افزایش فشار خون بوده است.

در بخش دیگر از این تحقیق در پاسخ به این سوال که آیا گیرنده موسکاربینی کولینرژیکی واسطه پاسخ های قلبی عروقی تزریق استیل کولین است، قبل از تزریق استیل کولین آتروپین مهار کننده غیر انتخابی گیرنده موسکاربینی به درون BST تزریق شد نتایج نشان داد که تزریق داخل هسته ای آتروپین خود تاثیری بر فشار خون و ضربان قلب نگذاشت ولی پاسخ های پرسوری استیل کولین را تا حد بسیار زیادی از بین برد که نشان دهنده تاثیر استیل کولین از طریق گیرنده موسکاربینی است از سوی دیگر عدم تاثیر تزریق داخل هسته ای آتروپین بر فشار خون و ضربان قلب این احتمال را مطرح می کند که ترشح استیل کولین به صورت تونیک نمی باشد.

تاثیر استیل کولین بر گیرنده های موسکاربینی موجب افزایش نسبتاً طولانی مدت فشار خون در مقایسه با سیستم های نوروترانسمیتری دیگر مثل گلوتامات می شود [۴،۱۰] این پاسخ جای تامل دارد زیرا استیل کولین سریعاً توسط آنزیم استیل کولین استراز از محل برداشته می شود و انتظار پاسخ کوتاه مدت، مشابه تزریق گلوتامات می رود لذا این پیشنهاد مطرح می شود که نوروهای کولینرژیک موجود در BST احتمالاً اثر پرسوری خود را از طریق فعال نمودن سیستم های نوروترانسمیتری دیگر در درون خود هسته و یا از طریق فعال کردن هسته های



شکل ۷- نقاط تزریق استیل کولین، آتروپین و کلرورکبالت در مناطق مختلف BST شامل نواحی میانی BSTM، نواحی جانبی BSTL و نواحی شکمی BSTV و مناطق اطراف.

معنی داری بین شیب قبل با دقیقه ۵ بعد از تزریق کلرور کبالت نشان داد ($p < 0.5$). تغییر شیب در دقیقه ۵ به علت افزایش پاسخ برادی کاردی در افزایش فشارهای کمتر از ۴۰ میلی متر جیوه و کاهش پاسخ برادی کاردی در افزایش فشارهای بالاتر از ۴۰ میلی متر جیوه است، یک ساعت پس از تزریق خط رگراسیون به وضعیت کنترل باز گشت.

در شکل شماره ۷ نقاط تزریق استیل کولین، آتروپین و کلرور کبالت مشخص شده اند موارد تزریقی که خارج از BST بودند در آنالیز آماری استفاده نشدند. شکل شماره ۸ یک نمونه از برش انجمادی که با کریزل ویوله رنگ شده است را نشان می دهد.

بحث

هسته بستر الیاف عصبی انتهایی BST یکی از ساختمان های مغز جلویی است که نقش آن در فشار خون و ضربان قلب در چندین مطالعه نشان داده شده است [۱۰،۴] این هسته دارای پایانه های کولینرژیکی است [۲۰] و زیگول های حاوی استیل کولین و آنزیم استیل کولین استراز در همه بخش های آن شناسایی شده است. منشا جسم سلولی پایانه ها در نواحی شکمی هیپوکامپ و ناحیه Subiculum است [۶]. علاوه بر گیرنده های موسکاربینی فراوانی در این هسته یافت شده که توسط استیل کولین تحریک می شوند [۱]. در این مطالعه برای اولین بار نقش استیل کولین در رت های نر بیهوش با یوروتان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تزریق استیل کولین به هسته BST باعث افزایش فشار و ضربان قلب شد. در یک مطالعه [۱] تزریق کارباکول آگونیست غیرانتخابی سیستم کولینرژیک بطور وابسته به دوز باعث افزایش فشار خون و کاهش ضربان قلب گردید که با نتایج ما در مورد فشار خون

($\Delta HR / \Delta MAP$) را در افزایش فشارهای کمتر از ۴۰ میلیمتر جیوه افزایش و در افزایش فشارهای بالاتر از ۴۰ میلیمتر جیوه کاهش داده است در حالیکه درافزایش فشار در حوالی ۴۰ میلی متر جیوه تاثیر ناچیزی بر میزان برادی کاردی دارد (شکل ۶) بنابراین بنظر می آید که مدارات نورونی BST بسته به شدت هیپرتانسیون اثر دوگانه بر عملکرد بارورفلکس می گذارند. نتایج این احتمال را مطرح می کند که نورون های BST در هیپرتانسیون های کمتر از ۴۰ میلیمتر جیوه یک نقش مهمی در عملکرد بارورفلکس برای ایجاد برادی ایفا می کند، تجویز کلرور کبالت موجب حذف این عملکرد مهمی شده لذا با افزایش میزان برادی کاردی حساسیت بارو رفلکس افزایش می یابد در حالیکه در هیپرتانسیون های بیشتر از ۴۰ میلیمتر جیوه نورون های BST فعال شده و برادی کاردی تشدید می شود تزریق داخل هسته ای کلرور کبالت و مهار انتقال سیناپسی موجب کاهش میزان برادی کاردی و بدنبال آن کاهش حساسیت بارو رفلکس می شود.

هسته BST با هسته های کاهش دهنده ضربان قلب و دریافت کننده پیام های بارورفلکس در ساقه مغز، منجمله هسته آمیگوس و هسته دورسال واگ مرتبط است این هسته ها مستقیماً با قلب مرتبط هستند [۱۲ و ۱۸]. ارتباط مستقیم BST با هسته کاهش دهنده فشار خون Caudal ventrolateral medulla (CVLM) نشان داده شده است [۲۲ و ۲۹]. هسته CVLM با هسته جلو بی آن Rostro ventrolateral medulla (RVLM) مستقیماً در ارتباط است. این هسته از طریق بخش میانی جانبی نخاع اطلاعات را به قلب و عروق ارسال می کند [۱۶]، لذا بنظر می آید که نورون های BST با تحریک مناطق مهمی ساقه مغز سیگنال های مهمی خود را به قلب و عروق ارسال می نماید. قطع ارتباطات سیناپسی درون BST با کلرور کبالت منجر به قطع ارتباط با مناطق مذکور شده بدینگونه بر پاسخ های جبرانی برادی کاردی بدنبال هیپرتانسیون تاثیر می گذارد.

مطالعه حاضر هم چنین نشان داد که تزریق آتروپین تغییر معنی داری در برادی کاردی رفلکسی بدنبال تاکی کاردی ناشی از تزریق فنیل افرین نگذاشت، به عبارت دیگر مهار گیرنده موسکارینی BST اثری بر عملکرد رفلکس بارورسپتوری نداشت که نشان می دهد دخالت BST بر عملکرد بارو رفلکس ها از

کاردیوواسکولار مرتبط با خود اعمال می کند. یک احتمال هسته آمیگدال است ارتباط مستقیم BST با مجموعه هسته های آمیگدال در چندین مطالعه نشان داده شده [۱۴، ۱۸] تحریک شیمیایی و الکتریکی بخش هایی از آمیگدال منجمله هسته بازولترال باعث افزایش فشار خون و ضربان قلب می شود [۲۲] تزریق کلرور کبالت به درون BST پاسخ های قلبی عروقی آمیگدال را از بین می برد [۱۸] در هر حال این که آیا پاسخ های پرسوری ناشی از تحریک سیستم کولینرژیک BST و آمیگدال به یکدیگر مرتبطند نیاز به تحقیقات مستقل دارد.

در بخش دیگری از این تحقیق دخالت BST در فعال نمودن رفلکس بارورسپتوری مورد بررسی قرار گرفت بدین منظور از کلرور کبالت به عنوان مهار کننده برگشت پذیر انتقال سیناپسی استفاده گردید تزریق کلرور کبالت به درون BST خود تغییری در فشار خون و ضربان قلب در مقایسه با قبل از تزریق ایجاد نکرد. با توجه بر اینکه کلرور کبالت باعث کاهش ورود کلسیم به پایانه های پیش سیناپسی می شود از اینرو ترشح نوروترانسمیترها در محل سیناپس ها کاهش می یابد [۱۳] و پاسخ ها نمی تواند منتسب به فیبرهای عبوری از هسته باشد. تزریق کلرور کبالت بطور برگشت پذیری موجب تشدید میزان برادی کاردی جبرانی در فشارهای کمتر از ۴۰ میلی متر جیوه و تضعیف میزان برادی کاردی در فشارهای بالاتر از ۴۰ میلی متر جیوه در دقیقه ۵ پس از تزریق کلرور کبالت شد، به دلیل اینکه کلرور کبالت بطور موقتی و برگشت پذیر ارتباطات سیناپسی را مهار می کند در دقیقه ۶۰ پس از تزریق پاسخ ها به حد کنترل بازگشت. این نتایج نشان می دهد که BST یکی از هسته های دریافت کننده پیام بارورسپتوری در مغز جلو بی است و بر بخش پاراسمپاتیکی رفلکس اثر می گذارد.

در تحقیقی که بر رت های نر انجام شد تزریق کلرور کبالت به درون BST پس از ۱۰ دقیقه باعث افزایش میزان برادی کاردی گردید [۵] این تحقیق تغییرات برادی کاردی تا افزایش فشار ۴۰ میلی متر جیوه بررسی کرده که تا این میزان با یافته های ما مطابقت دارد اما آزمایشات ما تغییرات برادی کاردی را تا افزایش فشار ۸۰ میلیمتر جیوه را هم بررسی کرده است که کاهش میزان برادی کاردی را نشان داده است. نتایج آنالیز رگراسیون خطی نشان داده که تزریق کلرور کبالت به BST و مهار برگشت پذیر انتقال سیناپسی حساسیت بارورفلکس

- [7]. De Oliveira C VR, Arellano PR, Flores PS, Babic T, Li Z, Ciriello J, Esrogen alter the bradycardia response to hypocretin-1 in the nucleus tractus solitarius of the ovariectomized female. *Brain Res* 978 (2003) 14-23.
- [8]. Gesstel LB, Fernandes FM Correa FM, α -Adrenergic and muscarinic cholinergic receptors are not involved in the modulation of the parasympathetic baroreflex by the medial prefrontal cortex in rats. *Life sci* 77 (2005) 1441-1451.
- [9]. Giancola SB, Roder S, Ciriello J, Contribution of caudal ventrolateral medulla to the cardiovascular responses elicited by activation of bed nucleus of stria terminalis. *Brain Res* 606 (1993) 162-166.
- [10]. Hatam M, Nasimi A, Glutamatergic system in the bed nucleus of the stria terminalis, effect on cardiovascular regulation. *Exp Brain Res* 1042 (2005) 37-43.
- [11]. Hoslstege G, Graveland GA, Bijker-Bremont CM, Schuddeboom I, Location of motor neurons innervating soft palate, pharynx and upper esophagus. Anatomical evidence for a possible swallowing center in the pontine reticular formation. *Brain Behav Evol.* 23 (1983) 47-62.
- [12]. Holstege G, Meiners L, Tan k, Projections of the bed nucleus of the stria terminalis to the mesencephalon, pons and medulla oblongata in the cat. *Exp Brain Res* 58(1985) 379-391.
- [13]. Kretz R, Local cobalt injection: a method to discriminate presynaptic axonal from post synaptic neuronal activity. *J Neurosci Methods* 11 (1984) 129-135.
- [14]. Maskati HA, Zbrozyna AW, Cardiovascular and motor components of the defence reaction elicited in rat by electrical and chemical stimulation in amygdala *J Auton Nerv Syst* 28 (1989) 127-132.
- [15]. Mckitrick DJ, Krukoff TL, Calaresu FR, Expression of c-fos protein in rat brain after electrical stimulation of the aortic depressor nerve. *Brain Res* 599 (1992) 215-222.
- [16]. Oshima N, McMullan S, Goodchild AN, Pilowsky PM, A monosynaptic connection between baroinhibited neurons in the RVLM and IML in Sprague-Dawley rats. *Brain Res* 1089 (2006) 153-161.
- [17]. Paxions G, Watson C, The Rat Brain in Stereotaxic Coordinate New York Academic press 5th edition (2004) 73-77.
- [18]. Phelix CF, Paull WK, Hartle DK, Immunocyto-chemistry and electrical stimulation of the bed nucleus of the stria terminalis: connection with medullary cardiovascular

طریق گیرنده موسکارینی کولینرژیک نمی‌باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که تحریک سیستم کولینرژیک BST با تزریق استیل کولین باعث افزایش فشار خون بدون تغییر در ضربان قلب شد و مهار گیرنده‌های موسکارینی درون هسته با آتروپین این پاسخ را از بین برد. گرچه BST یکی از مراکز دریافت پیام بارورسپتورها در دستگاه عصبی است اما تاثیر خود را بر عملکرد رفلکس از طریق گیرنده موسکارینی سیستم کولینرژیک انجام نمی‌دهد.

سپاسگزاری

این تحقیق در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان انجام شده‌است، هزینه انجام آن توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه پرداخت شد که بدین وسیله قدردانی می‌شود.

منابع

- [1]. Alves FH, Crestani CC, Resstel LB, Correa FM, Cardiovascular effects of carbachol microinjected in to bed nucleus of the stria terminalis of the rat brain. *Brain Res* 1143(2007) 161-168.
- [2]. Casada JH, Dafny N, Responses of neurons in bed nucleus of the stria terminalis to microiontophoretically applied morphine, norepinephrine and acetylcholine. *Neuropharmacology* 32 (1993) 279-284.
- [3]. Ciriello J, De Oliveira VR, Cardiac effects of hypocretin-1 in nucleus ambiguus. *Am J Physiol* 84 (2003) R1611-R1620.
- [4]. Ciriello J, Janssen SA, Effect of glutamate stimulation of bed nucleus of the stria terminalis on arterial pressure and heart rate. *Am J Physiol* 265(Heart Circ.Physiol.34) (1993) H1516-1522.
- [5]. Crestani CC, Alves FH, Resstel LB, Correa FM, The bed nucleus of the stria terminalis modulates baroreflex in rat. *Neuroreport* 17 (2006) 1531-5.
- [6]. Cullinan WE, Herman JP, Watson SJ Ventral subicular interaction with the hypothalamic paraventricular nucleus evidence for a relay in the bed nucleus of the stria terminalis. *J Comp Neurol* 332 (1993) 1-20.

- and caudal ventrolateral medulla in normotensive and spontaneously hypertensive rat. *Brain Res* 506 (1990) 1-8.
- [23].Soltis RP, Cook JC, Gregg AE, Sanders BJ, Interaction of GABA and excitatory amino acids in the basolateral amygdala: role in cardiovascular regulation. *J Neurosci* 23 (1997) 9367-9374.
- [24].Wamsley JK, ZarbinMA, Kuhar ML, Distribution of muscarinic cholinergic high and low affinity agonist binding sites:a light microscopic autoradiographic study. *Brain Res Bull* 12 (1984) 233-243.
- [25].Woulfe JM, Hryciyshyn AW, Flumerfelt BA, Collateral axonal projections from the A1 noradrenergic cell group to the paraventricular nucleus and bed nucleus of the stria terminalis in the rat. *Exp Neurol* 102 (1988) 121-4.
- regulatory centers in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Soc Neurosci Abstr.* 16 (1990) 557.
- [19].Roder S, Ciriello J, Contribution of bed nucleus of the stria terminalis to the cardiovascular responses elicited by stimulation of the amygdale. *J Auton Nerv Syst* 45 (1993) 61-75.
- [20].Ruggiero DA, Giuliano R, Anwar M, Stornetta R, Reis DJ, Anatomical substrates of cholinergic-autonomic regulation in the rat. *J Comp Neurol* 292 (1990) 1-53.
- [21].Sawchenko PE, Swanson LW, The organization of forebrain afferents to the Paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *J Comp Neurol* 218 (1983) 121-144.
- [22].Smith JK, Barron W, Cardiovascular effects of L-glutamate and tetrodotoxin microinjected into the rostral