



Effects of systemic and intra-accumbal memantine administration on the impacts of plantar electrical shock in male NMRI mice

Gholamreza Bagheri Nikoo¹, Maryam Khosravi¹, Hedayat Sahraei^{2*}, Mina Ranjbaran², Nahid Sarahian¹, Homeira Zardooz³, Zahra Bourbour², Maryam Aref-Alem², Gila Pirzad Jahromi², Gholamreza Herferhdoost²

1. Dept. of Biology, Islamic Azad University, North Tehran branch, Tehran, Iran.

2. Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3. Dept. of Physiology, Neurophysiology Research Center, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 10 Apr 2014

Accepted: 10 May 2014

Abstract

Introduction: The brain glutamate system plays a central role in response to stress. This study examines the effect of memantine (a NMDA glutamate receptor antagonist) on stress from plantar electrical shock in male NMRI mice (Pasture Institute, Iran), weighing 25-30 g (n=6/group).

Methods: The nucleus accumbens was bilaterally cannulated in a group of animals, and seven days later, different doses of memantine (1 and 5 µg/mouse) was administered 5 min before inducing stress. In other groups, different doses of the drug (1 and 5 mg/kg) were administered to the animals intraperitoneally 30 min before the stress induction. Then food and water intake, anorexia, and the amount of urine and fecal materials were measured.

Results: The stress reduced food intake and increased water intake in the animals. In addition, anorexia, fecal weight and urine volume were increased dramatically in these animals. Intraperitoneal memantine injection increased food intake and decreased water intake. This occurred when the drug was administered intra-accumbally, too. Memantine inhibited stress-induced anorexia when administered either intraperitoneally or intra-accumbally. Memantine (both peripherally and centrally) also changed stress-induced fecal passage but decreased urination.

Conclusion: Memantine administration can inhibit or potentiate stress effects, which may be at least partially integrated in the nucleus accumbens.

Key words: Memantine, Nucleus accumbens, Stress, Mouse

* Corresponding author e-mail: h.sahraei@bmsu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثر تجویز سیستمیک و داخل آکومبانیسی ممانتین بر اثرات شوک الکتریکی کف پا در موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI

غلامرضا باقری نیکو^۱، مریم خسروی^۱، هدایت صحرایی^{۲*}، مینا رنجبران^۲، ناهید سراحیان^۱، حمیرا زردوز^۲، زهرا بوربور^۲، مریم عارف عالم^۲، ژیا
پیرزاد جهرمی^۲، غلامرضا حرفه دوست^۲

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران

۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران

۳. گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

پذیرش: ۲۰ اردیبهشت ۹۳

دریافت: ۲۱ فروردین ۹۳

چکیده

مقدمه: سیستم گلوتاماتی مغز در پاسخ به استرس نقش محوری را بازی می‌کند. این تحقیق تاثیر تجویز ممانتین (آنتاگونیست گیرنده NMDA گلوتاماتی) بر استرس شوک الکتریکی کف پا در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (انستیتو پاستور ایران) با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم می‌پردازد (۶ سر در هر گروه).
روش‌ها: در گروهی از حیوانات هسته آکومبانیس بصورت دوطرفه کانول گذاری و ۷ روز بعد دوزهای متفاوت ممانتین (۱ و ۵ $\mu\text{g}/\text{Mouse}$)، ۵ دقیقه قبل از القاء استرس تجویز شد. در گروه‌های دیگر دوزهای مختلف دارو (داخل صفاقی، ۱ و ۵ mg/kg)، ۳۰ دقیقه قبل از القاء استرس تجویز شد. سپس میزان غذا و آب مصرفی و آنورکسی حیوانات و نیز میزان دفع مدفوع و ادرار حیوانات اندازه گیری شد.
یافته‌ها: استرس باعث کاهش غذا و افزایش آب مصرفی حیوانات شد. همچنین زمان آنورکسی، میزان دفع مدفوع و ادرار را بشدت افزایش داد. تجویز داخل صفاقی ممانتین توانست باعث افزایش غذا و کاهش آب مصرفی شود. این امر در مورد تجویز ممانتین بصورت داخل هسته آکومبانیسی نیز صادق بود. ممانتین هم بصورت محیطی و هم بصورت داخل هسته آکومبانیسی باعث مهار آنورکسی ناشی از استرس گردید. همچنین تجویز محیطی و مرکزی ممانتین باعث تغییر دفع مدفوع گردید و کاهش ادرار را نیز بدنبال داشت.
نتیجه گیری: تجویز ممانتین می‌تواند باعث مهار و یا تقویت اثرات استرس شود و حداقل قسمتی از این اثر ممکن است در هسته آکومبانیس جمع بندی گردد.

واژه‌های کلیدی: ممانتین، هسته آکومبانیس، استرس، موش کوچک آزمایشگاهی

مقدمه

فعالسازی هماهنگ پاسخ‌های رفتاری، اتونوم و اندوکرینی و حفظ هموستاز درون بدن می‌شود، به دست می‌آید [۱۸]. پاسخ عصبی - هورمونی به آن تغییرات (استرس) توسط فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - فوق کلیه (Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis, HPA) سازمان بندی می‌شود که شامل تحریک نورون‌های هسته پاراوانتریکولار هیپوتالاموس (PVN) و در نتیجه رها شدن نوروپپتیدهای کورتیکوتروپین فاکتور (CRH) و وازوپرسین است. فاکتور

بقا و سلامت موجود زنده نیاز به انطباق مداوم با تغییرات در محیط خارجی و نوسانات محیط داخلی دارد [۱۸]. این امر از طریق سیگنال‌های حسی یکپارچه در مغز که منجر به

h.sahraei@bmsu.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

هسته آکومبانس عصب دهی های انبوهی از نورون های دوپامینی VTA و نورون های گلوتاماتی هسته پاراوتتریکولار تالاموس دریافت می کند. انتشار گلوتامات از پایانه های هسته پاراوتتریکولار تالاموس می تواند در القا جریان دوپامین در گیرنده های گلوتاماتی یونوتروپیک هسته آکومبانس موثر باشد [۳۶]. با این حال هنوز نقش گلوتامات موجود در هسته آکومبانس در تعدیل عوارض استرس حاد بخوبی درک نشده است. در این تحقیق با استفاده از داروی ممانتین که یک آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده های N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) گلوتاماتی است، نقش احتمالی این گیرنده ها در هسته آکومبانس بر کاهش یا تشدید عوارض استرس حاد مورد بررسی قرار گرفته است. ممانتین یک مشتق دی متیل از داروی آمانتادین است که به صورت گسترده برای کنترل بیماری پارکینسون، آلزایمر و دیگر اشکال زوال عقل تجویز می شود [۷، ۱۲].

مواد و روش ها

در این تحقیق از موشهای کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI با میانگین وزنی ۲۵-۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفسهای ۶ تایی با دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته و درجه حرارت کنترل شده ۲۲-۲۴ درجه سانتی گراد و آب و غذای کافی نگهداری می شدند. در هر سری آزمایش ۶ سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت و حیوانات جهت سازش با محیط خود یک هفته قبل از شروع آزمایش به محیط آزمایش منتقل شدند. مقدار آب و غذای حیوانات در طی آزمایش ثبت می شد. داروی مورد استفاده در این آزمایش ممانتین هیدروکلراید (سیگما-آمریکا) بود که پیش از شروع آزمایش در نرمال سالین حل شد و در دوزهای متفاوت داخل هسته آکومبانی (۱ و ۵ $\mu\text{g}/\text{Mouse}$) و (۵ و ۳۰ mg/kg) استرس و یا بصورت داخل صفاقی (۳۰ mg/kg) و یا (۱ و ۵ mg/kg) بصورت داخل صفاقی (۳۰ دقیقه قبل از القاء استرس) به حیوانات تجویز می شد. به منظور کانول گذاری در هسته آکومبانس، حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) و دیازپام هیدروکلراید (۵ mg/kg) بیهوش شدند و دو عدد کانول راهنما از جنس استیل زنگ نزن شماره ۲۳ توسط

کورتیکوتروپین با تحریک رها شدن هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) از هیپوفیز پیشین در نهایت ترشح گلوکوکورتیکوئیدها (در انسان کورتیزول و در جوندگان کورتیکوسترون بطور عمده) از قسمت قشر غده فوق کلیه را که برای انطباق با استرس ضروری است تحریک می کند [۲]. این سیستم که بطور فیزیولوژیکی توسط استرس فعال می شود علاوه بر حفظ بدن در کوتاه مدت، در صورت فعالیت طولانی ممکن است به آن آسیب برساند [۶، ۸، ۱۵، ۱۹، ۳۰]. در انسانها کورتیزول محدوده وسیعی از اعمال فیزیولوژیکی مانند پاسخ های ایمنی و تغییرات متابولیسم را تحت تأثیر قرار می دهد به طوری که باعث سازگاری بدن با افزایش تقاضای انرژی در طول زمان استرس می شود [۲۷-۲۹]. علاوه بر فعالیت محور HPA با افزایش ACTH و گلوکوکورتیکوئیدها، پیپتیدهای هیپوتالاموسی نظیر وازوپرسین و CRH در نقاط دیگری از مغز (مانند آمیگدال) که تا حدود زیادی مسئول پاسخهای رفتاری و اتونومیک به استرس است نیز آزاد می شوند [۳۳].

هسته آکومبانس به عنوان یکی از مهمترین هسته های مغز جلویی نقش مهمی را در کنترل حرکات و نیز خلق و خو دارد [۹]. مطالعات هیستوشیمی و الکتروفیزیولوژیک و نیز فارماکولوژیک دو بخش کاملاً مجزا برای این هسته پیشنهاد کرده اند. بخش مرکزی که بیشتر در کنترل حرکات نقش دارد و قسمتی از عقده های قاعده ای محسوب می شود که در تبدیل احساس به حرکت دخالت دارد، و بخش قشر یا پوسته که آورانه های زیادی را از مزانسفال و نیز از قشر پیشانی دریافت می کند و نقش مهمی را در بروز خلق و خو دارد [۱۴، ۲۳]. علاوه بر ورودیهای دوپامینی از ناحیه تگمنتوم شکمی که مهمترین ورودی به هسته آکومبانس محسوب می شود [۳۵]، ورودیهای گلوتاماتی از قشر پیشانی نیز نقش مهمی را در تعدیل فعالیت های این هسته آکومبانس بازی می کنند [۳۱، ۳۵]. از طرف دیگر، نشان داده شده است که گلوتامات موجود در هسته آکومبانس به عنوان یک نوروترانسمیتر تحریکی در کنترل محور HPA نقش دارد [۱۰]. قسمت پوسته هسته آکومبانس به عنوان بخش مهمی از ناحیه آمیگدال گسترش یافته به همراه هسته های میانی آمیگدال و قشر پیشانی بطور هماهنگ با هم در کنترل استرس نقش دارند [۲۶]. پوسته

کنترل و استرس قرار گرفتند). لازم به توضیح است که در این تحقیق حیوانات گروه کنترل به گروهی اطلاق می‌شود که کانول گذاری در هسته آکومبانس آنها انجام شده بود اما به جای دارو، سالیین به آنها تزریق شد (گروه شم). گروهی دیگر از حیوانات که جراحی نشده بودند اما سالیین دریافت کرده بودند نیز وجود داشت که به دلیل مشابهت اطلاعات حاصل از آنها با گروه کنترل فوق، اطلاعات آنها در شکلها نیامد. اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد متغیرها (Mean \pm S.E.M) بیان شد. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و به دنبال آن تست توکی استفاده شد. $P < 0.05$ معیار معنی دار بودن اختلافات در نظر گرفته شد.

یافته ها

- تاثیر تجویز محیطی و داخل هسته آکومبانی ممانتین بر تغییرات غذای دریافتی در حیوانات مواجه شده با استرس غیرقابل کنترل: در قسمت اول این تحقیق، حیوانات ابتدا با استرس شوک الکتریکی کف پا مواجه شدند. گروههایی از حیوانات قبل از شوک دوزهای مختلف ممانتین را بصورت داخل صفاقی و گروههای دیگری این دارو را بصورت داخل هسته آکومبانی دریافت کردند. نتایج نشان دادند که استرس می‌تواند میزان غذای دریافتی را کاهش دهد. از سوی دیگر، تجویز داخل صفاقی ممانتین اثر استرس را مهار می‌کند [$F(9,54)=3.1, P<0.001$] (شکل ۱). همچنین تجویز ممانتین به داخل هسته آکومبانس باعث مهار اثرات استرس در کاهش میزان غذای دریافتی در هر دو دوز تجویزی گردید. تجزیه و تحلیل بعدی نشان داد که تجویز داخل هسته آکومبانی ممانتین در گروههایی که استرس ندیده‌اند باعث کاهش غذای دریافتی توسط حیوانات می‌شود.

- تاثیر تجویز محیطی و داخل هسته آکومبانی ممانتین بر تغییرات آب دریافتی در حیوانات مواجه شده با استرس غیر قابل کنترل: در قسمت دوم این تحقیق، میزان آب دریافتی حیوانات پس از استرس و تاثیر ممانتین بر این روند مورد بررسی قرار گرفت.

دستگاه استریوتکس طبق مختصات اطلس پاکسینوس [۲۲] برای هسته آکومبانس (عمق = $4/5$ میلی متر، فاصله از شیار مرکزی = $1/5$ میلی‌متر، و فاصله طولی = 1 میلی‌متر) در سر حیوان کار گذاشته شد. کانول راهنما 500 میکرومتر بالاتر از هسته آکومبانس قرار گرفت و توسط آکریل و مونومر دندانپزشکی در جای خود محکم شد. سپس یک سیم نازک فولادی هم اندازه کانول راهنما برای جلوگیری از مسدود شدن کانول راهنما در داخل آن قرار گرفت. پس از جراحی به حیوانات یک هفته اجازه بهبودی داده شد. هنگام تزریق داخل هسته آکومبانس حیوانات به آرامی با دست مهار شدند و سیم فولادی از داخل کانول راهنما خارج شد و کانول تزریق (سرسوزن شماره 30 دندانپزشکی) با طول 500 میکرومتر بلندتر از کانول راهنما داخل آن قرار گرفت و دارو به آرامی توسط سرنگ هاملتون با حجم 5 میکرولیتر ($0/25$ میکرولیتر در هر طرف) به مدت 60 ثانیه تزریق شد. پس از اتمام تزریق کانول تزریق به مدت 60 ثانیه جهت انتشار دارو در محل باقیماند و سپس به آرامی خارج شد. استرس به وسیله دستگاه Communication Box (ساخت شرکت برج صنعت، تهران، ایران) به حیوانات القا شد. این دستگاه متشکل از 9 قسمت مجزا ($16 \times 16 \times 50$ cm) (طول \times عرض \times ارتفاع) از جنس پلکسی گلاس با سوراخهای ریزی است که اجازه ارتباط دیداری، شنیداری و بویایی را به حیوانات می‌دهد، کف دستگاه دارای میله‌های استیل به قطر 4 میلی متر است که در فواصل $1/3$ سانتیمتری از هم قرار گرفته‌اند. این میله‌ها به ژنراتوری که به کامپیوتر متصل است وصل شده و ولتاژ و مدت زمان القا شوک (ولتاژ 40 میلی ولت و جریان یک میلی آمپر، فرکانس 10 هرتز و به مدت 60 ثانیه شوک در 100 ثانیه به صورت تصادفی) توسط کاربر تعیین می‌شود [۲۳]. در این تحقیق شوک الکتریکی کف پا به صورت تصادفی بین ساعات $13-9$ القا شد. حیوانات یک ساعت قبل از آزمایش به منظور سازش با محیط به اتاق آزمایش منتقل شدند و پس از 30 دقیقه شوک الکتریکی القا شد. پس از اتمام شوک، حیوانات به مدت 30 دقیقه در دستگاه باقی ماندند و سپس به قفس‌های خود منتقل شدند. حیوانات گروه کنترل نیز به مدت 60 دقیقه بدون القا شوک در دستگاه قرار گرفتند (حیوانات به صورت تصادفی در گروههای

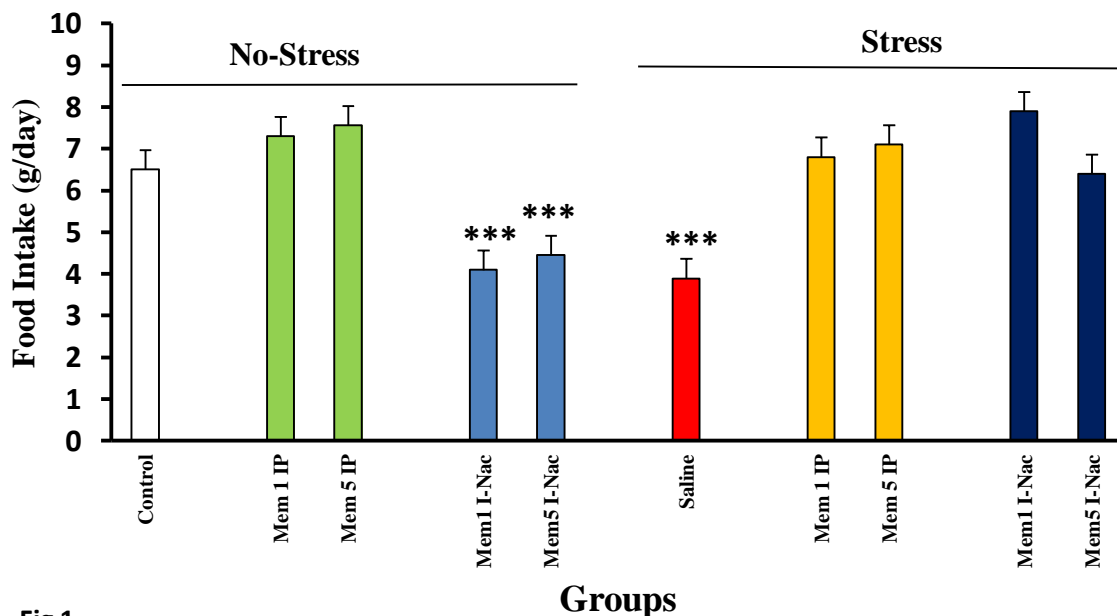


Fig 1

شکل ۱- تاثیر تجویز داخل صفاقی و داخل هسته ی آکومبانس ممانتین بر میزان غذای دریافتی حیوانات پس از القای استرس حاد. حیوانات پس از القای استرس به محل های نگه داری خود برگشت داده شدند و میزان غذای دریافتی آنها در ۲۴ ساعت بعد اندازه گیری شد. همان طور که در شکل می بینید، تجویز ممانتین به صورت محیطی یا داخل هسته ی آکومبانیسی از کاهش تغذیه توسط استرس جلوگیری کرده است. اطلاعات میانگین \pm انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر حیوان است. $P < 0.001$ *** اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل می باشد.

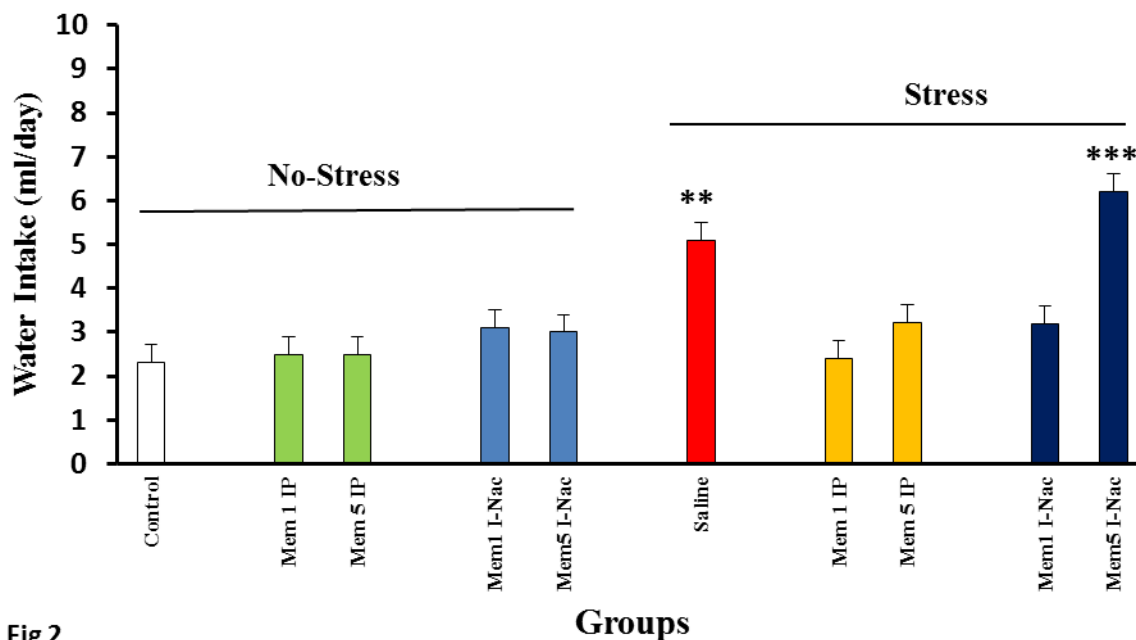


Fig 2

شکل ۲- تاثیر تجویز داخل صفاقی و داخل هسته ی آکومبانس ممانتین بر میزان آب دریافتی حیوانات پس از القای استرس حاد. حیوانات پس از القای استرس به محل های نگه داری خود برگشت داده شدند و میزان آب دریافتی آنها در ۲۴ ساعت بعد اندازه گیری شد. همان طور که در شکل می بینید تجویز ممانتین به صورت محیطی یا داخل هسته ی آکومبانیسی از پرنوشی ناشی از استرس جلوگیری کرده است. اطلاعات میانگین \pm انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر حیوان است. $P < 0.01$ ** و $P < 0.001$ *** اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل می باشد.

کاهش آب نوشی نسبت به گروه استرس دیده می گردد. در حالی که تجویز ممانتین به داخل هسته آکومبانس در دوز کم باعث مهار اثر استرس و در دوز زیاد باعث تقویت اثرات استرس در

نتایج نشان دادند که استرس می تواند میزان آب دریافتی را نسبت به گروه کنترل افزایش دهد. از سوی دیگر، تجویز داخل صفاقی ممانتین اثر استرس را مهار می کند و منجر به

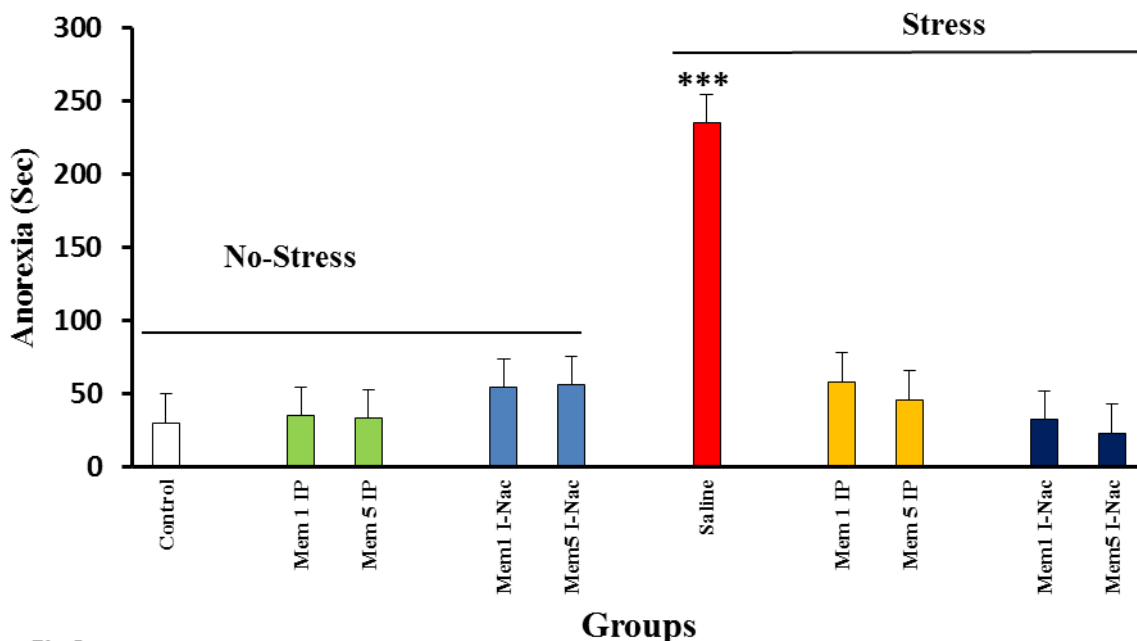


Fig 3

شکل ۳- تاثیر تجویز داخل صفاقی و داخل هسته ی آکومبانس ممانتین بر آنورکسیای ناشی از استرس حاد. حیوانات پس از القای استرس به محل های نگه داری خود برگشت داده شدند و زمان آنورکسیا آنها پس از انتقال به قفس هایشان سنجیده شد. همان طور که در شکل می بینید تجویز ممانتین به صورت محیطی یا داخل هسته ی آکومبانیسی از افزایش آنورکسیا توسط استرس جلوگیری کرده است. اطلاعات میانگین \pm انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر حیوان است. $P < 0.001$ *** اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل است.

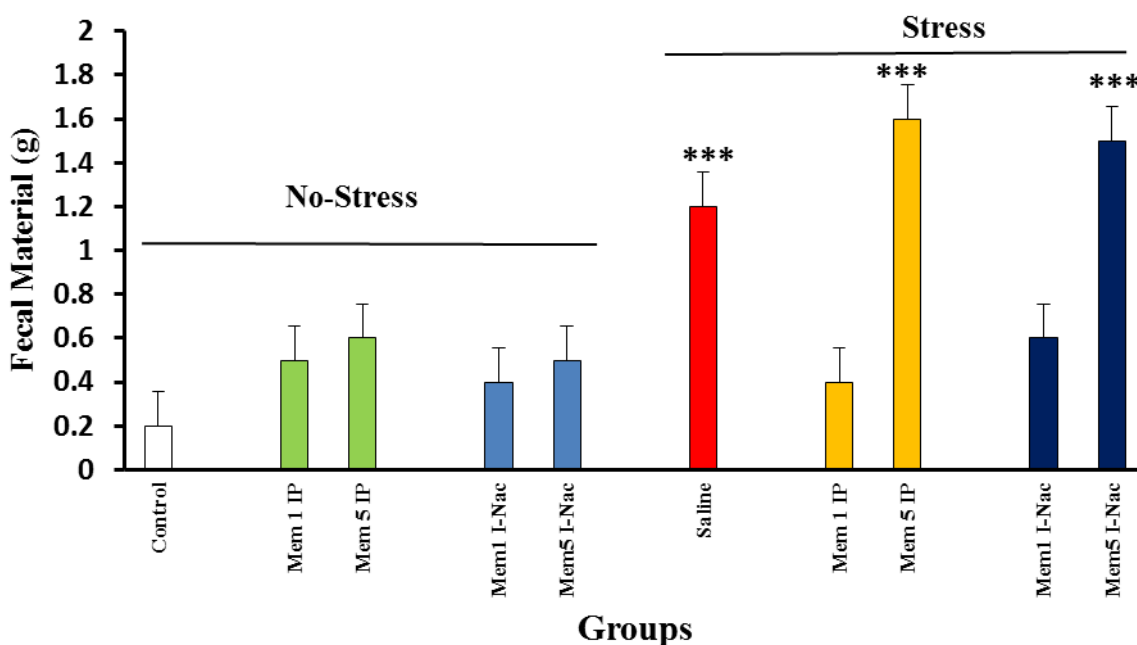


Fig 4

شکل ۴- تاثیر تجویز داخل صفاقی و داخل هسته ی آکومبانس ممانتین بر میزان مدفوع حیوانات پس از القای استرس حاد. حیوانات پس از القای استرس به محل های نگه داری خود برگشت داده شدند و میزان مدفوع آنها در ۲۴ ساعت بعد اندازه گیری شد همان طور که در شکل می بینید تجویز ممانتین به صورت محیطی یا داخل هسته ی آکومبانیسی از کاهش مدفوع توسط استرس جلوگیری کرده است. اطلاعات میانگین \pm انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر حیوان است. $P < 0.001$ *** اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل می باشد.

می باشد. همچنین اختلاف گروه دریافت کننده ممانتین داخل هسته آکومبانیسی با گروه کنترل در حد $P < 0.0001$ می باشد. - تاثیر تجویز محیطی و داخل هسته

افزایش میزان آب دریافتی گردید. $[F(9,54)=2.54, P < 0.05]$ (شکل ۲). تجزیه و تحلیل بعدی نشان داد که اختلاف گروه استرس دیده با گروه کنترل در حد $P < 0.001$

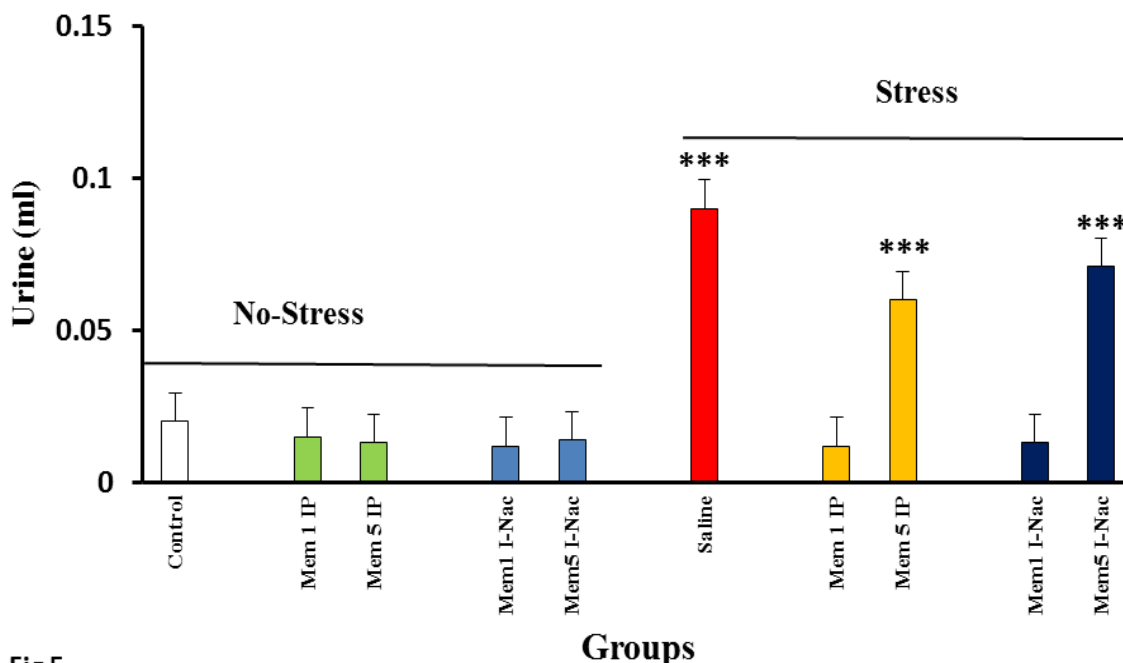


Fig 5

شکل ۵- تاثیر تجویز داخل صفاقی و داخل هسته‌ی آکومبانس ممانتین بر میزان ادرار حیوانات پس از القای استرس حاد. حیوانات پس از القای استرس به محل‌های نگه داری خود برگشت داده شدند و میزان ادرار آنها در ۲۴ ساعت بعد اندازه گیری شد. همان طور که در شکل می بینید استرس باعث افزایش دفع ادرار گردید. از سوی دیگر، تجویز ممانتین به صورت محیطی یا داخل هسته‌ی آکومبانی از افزایش ادرار توسط استرس جلوگیری کرده است. اطلاعات میانگین \pm انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر حیوان است. $P < 0.001$ *** اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل می باشد.

می تواند میزان مدفوع و ادرار حیوانات را بصورت معنی داری افزایش دهد (شکل ۴ و ۵ به ترتیب). تجویز داخل صفاقی و داخل هسته آکومبانی ممانتین اثر استرس را در دوز کم مهار کرد ولی در دوز زیاد این دارو بی اثر بود $[F(9,54)=4.33, P < 0.001]$. تجزیه و تحلیل بعدی نشان داد که اختلاف گروه استرس دیده و گروه‌های دریافت کننده ممانتین با گروه کنترل در حد $P < 0.0001$ می باشد.

بحث

استرس و عوارض ناشی از آن در تحقیقات مختلف در انسان‌ها و مدل‌های حیوانی مختلف مورد بررسی قرار گرفته است [برای مرور رجوع شود به: ۱۸]. در این تحقیقات بر نقش مهم مغز به عنوان اصلی‌ترین ارگان پاسخگوئی به استرس تاکید فراوان شده است [۱۸]. نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نیز بر یافته قبلی تاکید می کند و نشان می دهد که استرس می تواند بر رفتارهای تغذیه ای اثر گذاشته و علاوه بر آن با مهار گیرنده های NMDA گلوتاماتی - چه بصورت محیطی و چه بصورت داخل هسته آکومبانی، اثرات استرس

آکومبانی ممانتین بر زمان آنورکسی در حیوانات مواجه شده با استرس غیر قابل کنترل: در قسمت سوم این تحقیق، حیوانات پس از دریافت استرس به محل‌های نگهداری بازگردانده شدند و زمان طی شده برای شروع غذا خوردن در آنها ثبت شد. نتایج نشان دادند که استرس می تواند زمان آنورکسی را در حیوانات به میزان زیادی نسبت به گروه کنترل افزایش دهد. از سوی دیگر، تجویز داخل صفاقی و داخل هسته آکومبانی در تمامی دوزهای بکار رفته ممانتین اثر استرس را کاملاً مهار می کند $[F(9,54)=4.21, P < 0.001]$ (شکل ۳). تجزیه و تحلیل بعدی نشان داد که اختلاف گروه استرس دیده با گروه کنترل و گروه های دریافت کنند ممانتین در حد $P < 0.0001$ می باشد.

- تاثیر تجویز محیطی و داخل هسته آکومبانی ممانتین بر میزان دفع مدفوع و ادرار در حیوانات مواجه شده با استرس غیر قابل کنترل: در قسمت چهارم این تحقیق، میزان مدفوع و ادرار دفع شده توسط حیوانات در زمان القاء استرس شوک الکتریکی کف پا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که استرس

اثرات استرس در کاهش تغذیه در حیوانات شود. نکته مهم اول این بخش از تحقیق آن است که ما میزان ترشح CRF را در این تحقیق اندازه گیری نکردیم و گفته فوق تنها در حد حدس است. نکته دوم اینکه این اثر ممانتین در هسته آکومبانس هم رخ می دهد و این نشانه اهمیت گلوتامات موجود در ناحیه آمیگدال گسترش یافته در کنترل تغذیه می باشد. این امر بخصوص از آنجا قابل بحث است که تجویز ممانتین به داخل هسته آکومبانس در حیواناتی که استرس ندیده اند، باعث کاهش تغذیه در آنها شد. به همین دلیل، می توان گفت که برای تعدیل اثرات استرس، هسته آکومبانس نقش تعیین کننده ای دارد و گلوتامات موجود در این هسته بسیار مهم است. همچنین، بصورت سربسته باید گفت که ممکن است اثر ممانتین در کاهش مصرف غذا در تحقیقات بعدی بایستی مورد نظر محققان باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استرس می تواند به افزایش پرنوشی در حیوانات منجر شود. افزایش مصرف آب بعد از استرس یکی از نشانه های افزایش فعالیت بخش درشت سلول هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس در پاسخ به استرس است که با افزایش ترشح هورمون وازوپرسین در قسمت هیپوفیز پسین مشخص می شود [۱۸]. یکی از اثرات مهم هورمون وازوپرسین، اثر بر نواحی تشنگی در مغز و القاء احساس تشنگی در فرد است [۱۸]. تحقیق ما نشان داد که این اثر استرس نیز با تجویز ممانتین بصورت داخل صفاقی یا داخل هسته آکومبانشی کاهش می یابد. تنها تفاوت دیده شده این است که دوز بالای ممانتین در هنگام تزریق داخل هسته آکومبانس نه تنها اثر استرس را خنثی نکرد، بلکه حتی مقداری آن را افزایش نیز داد. با توجه به آنچه در قسمتهای قبلی در مورد اثر ممانتین گفته شد، به نظر می رسد همان مکانیسمها در اینجا نیز صادق باشند. در مورد اثر بخش نبودن دوز بالای ممانتین نیز باید گفت که گیرنده های NMDA گلوتاماتی به دو صورت پیش و پس سیناپسی در هسته آکومبانس دیده می شوند و مهار هر کدام از آنها اثر متفاوت و حتی متضادی را نشان می دهد [۳۲]. به همین دلیل ممکن است در دوزهایی از داروهای گلوتاماتی همانند آنچه ما مشاهده کردیم، اثری دیده نشود و یا حتی اثر عکس دیده شود.

در دنباله این تحقیق، استرس باعث بروز آنورکسی در

نیز کاهش می یابد. تحقیق ما از آن جهت اهمیت ویژه دارد که نشان می دهد که حداقل بایستی قسمتی از اثرات استرس را مربوط به نقل و انتقال عصبی گلوتاماتی در هسته آکومبانس دانست. امری که در تحقیقات قبلی به اینصورت مورد بررسی قرار نگرفته بود. از سوی دیگر، نتایج تحقیق ما نشان داد که تجویز مهارگر گیرنده های NMDA گلوتاماتی به داخل هسته آکومبانس بدون القاء استرس باعث کاهش رفتار تغذیه ای در حیوانات می شود که این امر شاید نشان دهنده نقش اساسی گلوتامات موجود در هسته آکومبانس در بروز رفتار تغذیه باشد.

در تحقیق حاضر، القاء استرس باعث کاهش تغذیه در حیوانات شد. در تحقیقات قبلی هم محققان دریافته بودند که استرس می تواند به کاهش تغذیه در اغلب موشها منجر شود [۱۱]. هرچند در مورد انسانها استرس ممکن است به افزایش تغذیه منجر شود [۴، ۱۱]. اعتقاد بر این است که کاهش تغذیه به دلیل فعال شدن محور استرسی HPA در حیوانات و افزایش ترشح CRF در هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس می باشد که به کاهش تمایل به تغذیه در فرد منجر می شود [۱۶]. این اثر تا حدودی با واسطه ورودیهای گلوتاماتی به هسته پاراونتریکولار میانجی گری می شود [۵، ۳۶]. هسته پاراونتریکولار با چندین ناحیه مغزی از جمله هیپوتالاموس جانبی و پوسته هسته آکومبانس که نقش مهمی را در کنترل مصرف مواد غذایی ایفا می کنند در ارتباط است [۳۷، ۳۸]. محققان همچنین نقش مهمی را برای CRF ترشح شده از هسته های قاعده ای-جانبی آمیگدال در ساقه مغز در همین ارتباط قائل هستند [۱۷]. همین کاهش تغذیه است که به کاهش وزن در بلند مدت در استرسهای مزمن می انجامد که یکی از نشانگان استرس مزمن به شمار می آید [۱۱]. در ادامه این تحقیق، تجویز محیطی و مرکزی ممانتین توانست باعث مهار اثر استرس در کاهش تغذیه در حیوانات شود. ممانتین یک داروی آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده های NMDA گلوتاماتی است که در درمان بیماریهای نظیر آلزایمر استفاده می شود [۶، ۷، برای مرور رجوع شود به: ۸]. با توجه به نقش مهمی که گلوتامات در القاء ترشح CRF از هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس دارد [۳]، به نظر بدیهی می رسد که تجویز یک مهارگر گیرنده های گلوتاماتی بتواند باعث مهار

حیوانات شد. این امر در تحقیقات گذشته نیز مشاهده شده بود و نشان می‌دهد که روش استفاده شده در این تحقیق نیز توانسته است باعث بروز آنورکسی در حیوانات شود [۱].

بایستی متذکر شده که طبق تحقیقات قبلی تنها ۷۰ درصد موشها پس از استرس دچار آنورکسی می‌شوند و ۳۰ درصد نیز ممکن است از خود پرخوری نشان دهند [۱۱]. در هر صورت، تجویز ممانتین توانست این اثر استرس را هم در هنگام تجویز داخل هسته آکومبانی و هم در هنگام تجویز محیطی خنثی نماید. در این مورد نیز به نظر می‌رسد که تجویز ممانتین توانسته است از اثر گلوتامات در سیستم استرسی بدن (محور HPA) جلوگیری کرده و باعث مهار فعالیت سیستم استرسی شود [۵، ۳۶]. آنورکسی و یا پرخوری ناشی از استرس یکی از بدترین عواقب ناشی از استرس است که در صورت مزمن شدن می‌تواند به بروز بیماریهای آنورکسی و یا پرخوری که هر دو از بیماریهای مهم در روانپزشکی محسوب می‌شوند منجر شود [۱۶، ۱۷]. همانطور که از نتایج مشخص شده است، یکی از مهمترین مناطقی که در آن گلوتامات می‌تواند باعث بروز آنورکسی شود، احتمالاً هسته آکومبانی است و مهار گلوتامات در این ناحیه توانسته است باعث کاهش آنورکسی شود. لازم به توضیح است که یکی از مهمترین مناطق دریافت کننده ورودیهای گلوتاماتی در مغز قسمت پوسته هسته آکومبانی است [۳۲]، اما متأسفانه در تحقیق حاضر به دلیل کوچک بودن جثه حیوانات مورد آزمایش امکان تمایز دو بخش اصلی هسته آکومبانی (یعنی بخش پوسته و بخش مرکزی) وجود نداشت. شاید آزمایش با حیوانات بزرگتر مانند موش بزرگ آزمایشگاهی بتواند در این زمینه اطلاعات بهتری را به ما بدهد.

در یک جمع بندی، بایستی گفت که استرس توانست پاسخهای متعدد رفتاری و متابولیکی را در حیوانات القاء نماید که این اثر استرس با تجویز ممانتین به عنوان آنتاگونیست گیرنده های غیر رقابتی NMDA گلوتاماتی مهار شدند. از طرف دیگر، به نظر می‌رسد که اثرات استرس تا حدودی توسط سیستم گلوتاماتی موجود در هسته آکومبانی میانجیگری می‌شود ولی ممکن است این اثرات با اثرات آنتی کولین استرزی دارو تداخل پیدا کند.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) انجام شد.

حیوانات شد. این امر در تحقیقات گذشته نیز مشاهده شده بود و نشان می‌دهد که روش استفاده شده در این تحقیق نیز توانسته است باعث بروز آنورکسی در حیوانات شود [۱].

بایستی متذکر شده که طبق تحقیقات قبلی تنها ۷۰ درصد موشها پس از استرس دچار آنورکسی می‌شوند و ۳۰ درصد نیز ممکن است از خود پرخوری نشان دهند [۱۱]. در هر صورت، تجویز ممانتین توانست این اثر استرس را هم در هنگام تجویز داخل هسته آکومبانی و هم در هنگام تجویز محیطی خنثی نماید. در این مورد نیز به نظر می‌رسد که تجویز ممانتین توانسته است از اثر گلوتامات در سیستم استرسی بدن (محور HPA) جلوگیری کرده و باعث مهار فعالیت سیستم استرسی شود [۵، ۳۶]. آنورکسی و یا پرخوری ناشی از استرس یکی از بدترین عواقب ناشی از استرس است که در صورت مزمن شدن می‌تواند به بروز بیماریهای آنورکسی و یا پرخوری که هر دو از بیماریهای مهم در روانپزشکی محسوب می‌شوند منجر شود [۱۶، ۱۷]. همانطور که از نتایج مشخص شده است، یکی از مهمترین مناطقی که در آن گلوتامات می‌تواند باعث بروز آنورکسی شود، احتمالاً هسته آکومبانی است و مهار گلوتامات در این ناحیه توانسته است باعث کاهش آنورکسی شود. لازم به توضیح است که یکی از مهمترین مناطق دریافت کننده ورودیهای گلوتاماتی در مغز قسمت پوسته هسته آکومبانی است [۳۲]، اما متأسفانه در تحقیق حاضر به دلیل کوچک بودن جثه حیوانات مورد آزمایش امکان تمایز دو بخش اصلی هسته آکومبانی (یعنی بخش پوسته و بخش مرکزی) وجود نداشت. شاید آزمایش با حیوانات بزرگتر مانند موش بزرگ آزمایشگاهی بتواند در این زمینه اطلاعات بهتری را به ما بدهد.

در قسمت پایانی این تحقیق، استرس توانست میزان مدفوع و ادرار حیوانات را افزایش دهد. این بخش از تحقیق نشان دهنده فعال شدن سیستم عصبی خودمختار

References

- [1] Adam TC, Epel ES, Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav* 91 (2007) 449-458.
- [2] Aguilera G, Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress. *Front Neuroendocrinol* 15 (1994) 321-350.
- [3] Antoni FA, Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue

- corticotropin-releasing factor. *Endocr Rev* 7 (1986) 351-378.
- [4] Birketvedt Birketvedt GS1, Drivenes E, Agedahl I, Sundsfjord J, Olstad R, Florholmen JR. Bulimia nervosa – a primary defect in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis? *Appetite* 46 (2006) 164–167.
- [5] Brann DW, Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology* 61 (1995) 213-225.
- [6] Cummings JL, Mackell J, Kaufer D, Behavioral effects of current Alzheimer's disease treatments: a descriptive review. *Alzheimer's Dement* 4 (2008) 49-60.
- [7] Ditzler K, Efficacy and tolerability of memantine in patients with dementia syndrome. *Arznei.-Forsch Drug Res* 41 (1991) 773-780.
- [8] Doody RS, Tariot PN, Pfeiffer E, Olin JT, Graham SM, Meta-analysis of six-month memantine trials in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement* 3 (2007) 7-17.
- [9] Death AY, Cameron DS, Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. *Neuroscience* 46 (1992) 49-56.
- [10] Garcia-Keller C, Martinez SA, Esparza MA, Bollati F, Kalivas PW, Cancela LM, Cross-sensitization between cocaine and acute restraint stress is associated with sensitized dopamine but not glutamate release in the nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 37 (2013) 982-995.
- [11] Gluck ME, Stress response and binge eating disorder. *Appetite* 46 (2006) 26-30.
- [12] Greenamyre JT, Maragos EF, Albin RL, Penney JB, Young AB, Glutamate transmission and toxicity in Alzheimer's disease. *Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiatry* 12 (1988) 421-430.
- [13] Gresch PJ, Sved AF, Zigmond MJ, Finlay JM, Stress-induced sensitization of dopamine and norepinephrine efflux in medial prefrontal cortex of the rat. *J Neurochem* 63 (1994) 575-583.
- [14] Heimer L, Alheid GF, de Olmos JS, Groenewegen HJ, Haber RE, Zahm DS, The accumbens: Beyond the core-shell dichotomy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 9 (1997) 354-381.
- [15] Herrmann N, Gauthier S, Lysy PG, Clinical practice guidelines for severe Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement* 3 (2007) 385-397.
- [16] Laue L, Gold PW, Richmond A, Chrousos GP, The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in anorexia nervosa and bulimia nervosa: pathophysiological implications. *Adv Pediatr* 38 (1991) 287-316.
- [17] Lawson EA, Klibanski A, Endocrine abnormalities in anorexia nervosa. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 4 (2008) 407-414.
- [18] McEwen BS, Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 87 (2007) 873-904.
- [19] McShane R, Schneider LS, Meta-analysis of memantine: Summary and commentary on the Cochrane Collaboration's systematic review. *Alzheimer's Dement* 1 (2005) 67-71.
- [20] Morrow BA, Redmond AJ, Roth RH, Elsworth JD, The predator odor, TMT, displays a unique, stress like pattern of dopaminergic and endocrinological activation in the rat. *Brain Res* 864 (2000) 146-151.
- [21] Parsons CG, Danysz W, Dekundy A, Pulte I, Memantine and cholinesterase inhibitors: complementary mechanisms in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurotox Res* 24 (2013) 358-369.
- [22] Paxinos G, Franklin KBJ, *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press (2001).
- [23] Halataei BS, Khosravi M, Arbabian S, Sahraei H, Golmanesh L, Zardooz H, Jalili C, Ghoshooni H, Saffron (*Crocus sativus*) aqueous extract and its constituent crocin reduces stress-induced anorexia in mice. *Phytotherapy Res* 25 (2011) 1833-1838.
- [24] Pennartz CMA, Groenewegen HJ, De Dila FHP, The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: An integration of behavioral, electrophysiological and anatomical data. *Prog Neurobiol* 42 (1994) 719-761.
- [25] Pruessner JC, Hellhammer DH, Kirschbaum C, Low self-esteem, induced failure and the adrenocortical stress response. *Pers Individ Differ* 27 (1999) 477-489.
- [26] Saffrey MJ, Cellular changes in the enteric nervous system during ageing. *Dev Biol* 382 (2013) 344-355.
- [27] Salado-Castillo R, Sanchez-Alavez M, Quirarte GL, Garcia MIM, Prado-Alcala RA, Enhanced training protects memory against amnesia produced by concurrent inactivation of amygdala and striatum, amygdala and substantia nigra, or striatum and substantia nigra. *Front Behav Neurosci* 5 (2011) 1-7.

- [28] Sapolsky RM, Why stress is bad for your brain. *Science* 273 (1996) 749-750.
- [29] Sapolsky RM, Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: relevance to aging. *Exp Gerontol* 34 (1999) 721-732.
- [30] Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU, How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Rev* 21 (2000) 55-89.
- [31] Selye H, The evolution of the stress concept. *Am Sci* 61 (1973) 692-699.
- [32] Tarazi FI, Campbell A, Yeghiayan SK, Baldessarini RJ, Localization of ionotropic glutamate receptors in caudate putamen and nucleus accumbens septi of rat brain: Comparison of NMDA, AMPA, and kainate receptors. *Synapse* 30 (1998) 227-235.
- [33] Thierry AM, Tassin JP, Blanc G, Glowinski J, Selective activation of mesocortical DA system by stress. *Nature* 263 (1976) 242-244.
- [34] Vale W, Rivier C, Brown MR, Spiess J, Koob G, Swanson L, Bilezikjian L, Bloom F, Rivier J, Chemical and biological characterization of corticotropin releasing factor. *Recent Prog Horm Res* 39 (1983) 245-270.
- [35] van Rossum EFC, Koper JW, Huizenga NATM, Uitterlinden AG, Janssen JAMJ, Brinkmann AO, Grobbee DE, de Jong FH, van Duyn CM, Pols HAP, Lamberts SWJ, A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene, which decreases sensitivity to glucocorticoids in vivo, is associated with low insulin and cholesterol levels. *Diabetes* 51 (2002) 3128-3134.
- [36] Zelena D, Mergl Z, Makara GB, Glutamate agonists activate the hypothalamic-pituitary-adrenal axis through hypothalamic paraventricular nucleus but not through vasopressinergic neurons. *Brain Res* 1031 (2005) 185-193.
- [37] Parsons MP, Li S, Kirouac GJ, Functional and anatomical connection between the paraventricular nucleus of the thalamus and dopamine fibers of the nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 500 (2007) 1050-63.
- [38] Stratford TR, Wirtshafter D, Injections of muscimol into the paraventricular thalamic nucleus, but not mediodorsal thalamic nuclei, induce feeding in rats. *Brain Res* 1490 (2013) 128-133.