مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
پاییز ۱۳۹۱؛۴(۳): ۴۱۷-۴۱۳

Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
Autumn 2012;4(3):413-417

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات استفاده مزمن از کتامین برنواحی جیروس دندانه دار و CA3 هیپوکامپ

خدیجه فوقی[۱]، شهریار احمدپور[۲*]

[۱]عضو هیات علمی دانشکده پزشکی، بخش علوم تشریحی و پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۲]عضو هیات علمی، استادیار بخش علوم تشریحی و پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[*]**نویسنده مسئول**: بجنورد، خیابان شهریار، دانشکده پزشکی، بخش علوم تشریحی و پاتوبیولوژی
پست الکترونیک:shahahmadpour@gmail.com

وصول:۱۳۹۱/۷/۶ اصلاح:۱۳۹۱/۸/۴پذیرش:۱۳۹۱/۹/۷

چکیده

زمینه وهدف: *کتامین نوعی داروی بیهوشی است که دربیهوشی انفکاکی استفاده می شود. اثرات سایکوتوژنیک به همراه سرخوشی (euphoria) ناشی از مصرف کتامین باعث شده است که به عنوان یک داروی روان گردان مورد سوء استفاده قرارگیرد. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات مصرف مزمن کتامین بر نواحی جیروس دندانه دار و CA3 هیپوکامپ می باشد.*

مواد وروش کار: *در این تحقیق تعداد ۲۰سررت ۸ هفته نر به وزن ۲۰۰-۱۵۰ گرم به طور کاملا تصادفی در دو گروه تجربی و گروه شاهد (N=۱۰) تقسیم گردیدند. گروه تجربی کتامین به میزان mg/kg ۱۰ به صورت داخل صفاقی(intra peritoneal) به مدت یک هفته دریافت نمودند. در پایان یک هفته نمونه ها با استفاده از کرزیل ویوله رنگ آمیزی و برای شمارش نورون های دژنره در نواحی جیروس دندانه ار و ناحیه CA3 از روش تعدیل یافته استریولوژیک استفاده گردید.*

یافته ها: *شمارش نورون های تیره در ناحیه گرانولر جیروس دندانه دار گروه مورد اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۰۱). مقایسه تعداد نورون های تیره در لایه پیرامیدال ناحیه CA3 گروه مورد و گروه کنترل اختلاف معنی داری برخوردار بود (P<۰/۰۰۱).*

نتیجه گیری: *نتایج این مطالعه نشان داد که سو مصرف مزمن کتامین می تواند مرگ نورونی را در سلول های گرانولر و پیرامیدال نواحی جیروس دندانه دار و CA3 را افزایش دهد.*

واژه های کلیدی: *کتامین، جیروس دندانه دار، CA3، هیپوکامپ*

مقدمه

کتامین نوعی داروی بیهوشی است که دربیهوشی انفکاکی از آن استفاده می شود. علیرغم استفاده از آ در بیهوشی انسان و حتی حیوانات اما به دلیل اثرات سایکوژنیک استفاده از آن محدود شده است. اثرات سایکوتوژنیک به همراه سرخوشی (euphoria) ناشی از مصرف کتامین باعث شده است که به عنوان یک داروی روان گردان مورد سوء استفاده قرار گیرد [۱]. گزارشات نشان ازافزایش مصرف آن دربرخی ازکشورهای آسیایی و همچنین مرگ به دنبال مصرف کتامین دارد [۲]. کتامین به عنوان آنتاگونیست رسپتورهای NMDAمی باشد که با عوارضی مشابه اختلالات روان گسیختگی در شیزوفرنی و افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو ورادیکال های آزاد دربافت مغزی همراه می گردد [۳،۴]. ایبلا[1] و همکاران در سال ۲۰۰۹ برروی اثرات تزریق مداوم کتامین بر روی مغز نوزادان رت به مطالعه پرداختند. در این مطالعه با تزریق کتامین به مقدار ۲۰ میلی گرم کیلوگرم هر ۹۰ دقیقه به مدت ۹ ساعت به بررسی تاثیر آن بر دژنراسیون عصبی در

1 -Ibla

Archive of SID
www.SID.ir

نواحی کورتکس رترواسپلینیال، تمپورال، پاریتال، هیپوتالاموس و تالاموس پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که که کتامین در نوزادان رت منجر به دژنراسیون عصبی، بالا رفتن آنزیم های آپوپتیک و همچنین بالا رفتن فاکتور عصبی مشتق از بافت عصبی گردد [۵] پروشولت[1] و همکاران نتایج تحقیقات ایشان نشان داد که استفاده از نوعی ایزومر + کتامین دارای اثرات حفاظتی در مقابل ایسکمی داد اما قادر به جلوگیری از مرگ نورونی در هیپوکامپ نیست [۶]. لیاو[2] و همکاران در یک مطالعه با استفاده از مورفومتری بر پایه وکسل نشان دادند افرادی که از کتامین به طور مزمن استفاده می کنند دچار کاهش ماده خاکستری کورتکس پره فرونتال می گردند [۷]. لیاو در یک مطالعه نشان داد که ماده سفید کورتکس فرونتال افرادی که اعتیاد مزمن به کتامین دارند دچار تغییرات پاتولوژیک می گردد که این تغییرات به تغییرات ماده سفید کورتکس فرونتال در اسیکزوفرنی می باشد [۸]. لاریسا[3] و همکاران در یک مطالعه نشان نداد که استفاده از کتامین باعث افزایش استرس اکسیداتیو در بافت مغزی می شود [۴] یکی از حساس ترین نواحی مغزبه اختلالات متابولیک و استرس اکسیداتیو هیپوکامپ است. هیپوکامپ به عنوان بخشی ازسیستم لیمبیک در حافظه و یادگیری و همچنین اعمال شناختی و هیجانی نقش مرکزی را ایفا می کند [۵]. بیشتر مطالعات در ارتباط با سو مصرف کتامین تغییرات مورفومتریک مغزی بر پایه تصویر نگاری را گزارش نموده اند [۶،۷]. با توجه به تاثیرات کتامین در افزایش استرس اکسیداتیو و تغییرات رسپتوری در بافت مغز و همچنین حساسیت بالای تشکیلات هیپوکامپ مطالعه میکروسکوپی تأثیرات مصرف مزمن کتامین می تواند اطلاعات ارزشمندی در خصوص درک پاتوفیزیولوژی این ماده بر بافت تشکیلات هیپوکامپی به دست دهد. در این تحقیق بر آن هستیم که تأثیر مزمن مصرف کتامین را بر نورون های پیرامیدال ناحیه CA3 و گرانولر جیروس دندانه دار را به لحاظ کمی بررسی نماییم.

روش کار

در این تحقیق تجربی تعداد۲۰ سر رت جوان ۴ هفته نر به وزن ۲۰۰-۱۵۰ گرم به طور کاملا تصادفی در دو گروه تجربی وگروه شاهد (N= ۱۰) تقسیم گردیدند. در گروه تجربی رت های جوان را تحت تزریق داخل صفاقی (intra peritoneal) کتامین (sigma) به میزان ۱۰ mg/kg [۶] به مدت یک هفته دریافت نمودند. پس از هر تزریق حیوان در قفس جداگانه ی قرار می گرفت و به لحاظ تنفسی پایش می گردید. در گروه شاهد نیز نرمال سالین داخل صفاقی با حجم برابر تزریق گردید. در پایان دوره حیوانات با استفاده از کلروفورم بیهوش و پس از باز نمودن قفسه سینه در ادامه مقدار ۱۰۰ cc سالین ۰/۹ درصد و هپارین را از طریق بطن چپ به آهستگی تزریق نمودیم تا خون برگشتی از دهلیز کاملاً صاف و زلال شده و رنگ کبد روشن گردید. در ادامه مقدار ۲۰۰ cc محلول فیکساتور (حاوی گلوتارآلدهید ۲/۵ درصد در بافر فسفات pH = ۷/۴) را تزریق نمودیم. [۵]. سپس جمجمه هر حیوان با دقت شکافته و مغز را خارج نمودیم. نمونه ها در محلول فیکساتیو به مدت یک هفته قرار داده شد و سپس برای بررسی های میکروسکوپ نوری به آزمایشگاه بافتی منتقل و پس از پردازش بافتی با کرزیل ویوله ۱٪ طبق مطالعات قبلی رنگ آمیزی گردیدند. برای شمارش نورون های دژنره در نواحی گرانولر جیروس دندانه ار و پیرامیدال ناحیه CA3 از روش تعدیل یافته استریولوژیک استفاده گردید [۱۱].

نتایج با استفاده نرم افزار SPSS و تست آماری تی مستقل مورد تجزیه تحلیل و P< ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در گروه مورد حیوانات پس از دریافت کتامین به شدت دچار انقباضات عضلانی، بیهوشی و عدم تعادل می شدند که پس از گذشت زمان ۱۵ دقیقه این حالت برطرف می گردید. در روز های ۴ پس از تزریق این زمان به کمتر از ۵ دقیقه تقلیل یافت. نتایج بافتی گروه مورد (کتامین) نشان داد که مصرف مزمن کتامین باعث بروز نورون های تیره، هیپرکروماتیک و فشرده در نواحی لایه گرانولر جیروس دندانه دار و نورون های پیرامیدال لایه CA3 می گردد.

1 -Proescholdt
2 -Liao
3- De Oliveira L

Archive of SID
www.SID.ir

این نورون ها با ظاهر چروکیده و رنگ پذیری فراوان نسبت به نورون های سالم مشخص می شوند (تصویر ۴-۱). شمارش نورون های تیره در ناحیه جیروس دندانه دار گروه مورد (۱۷/۲ ±۱۰۲/۵) و در گروه کنترل (۷/۸ ±۱۱/۷) اختلاف معنی داری نشان داد (P< /۰۰۱). در لایه پیرامیدال ناحیه CA3 گروه مورد (۱۲ ±۶۵) و گروه کنترل (۳ ±۴/۴) اختلاف از سطح معنی داری برخوردار بود(P<۰/۰۰۱). مقایسه میزان مرگ نورونی جیروس دندانه دار و CA3 در گروه های دریافت کننده کتامین نیز اختلاف معنی داری نشان داد(P<۰/۰۰۱).

بحث

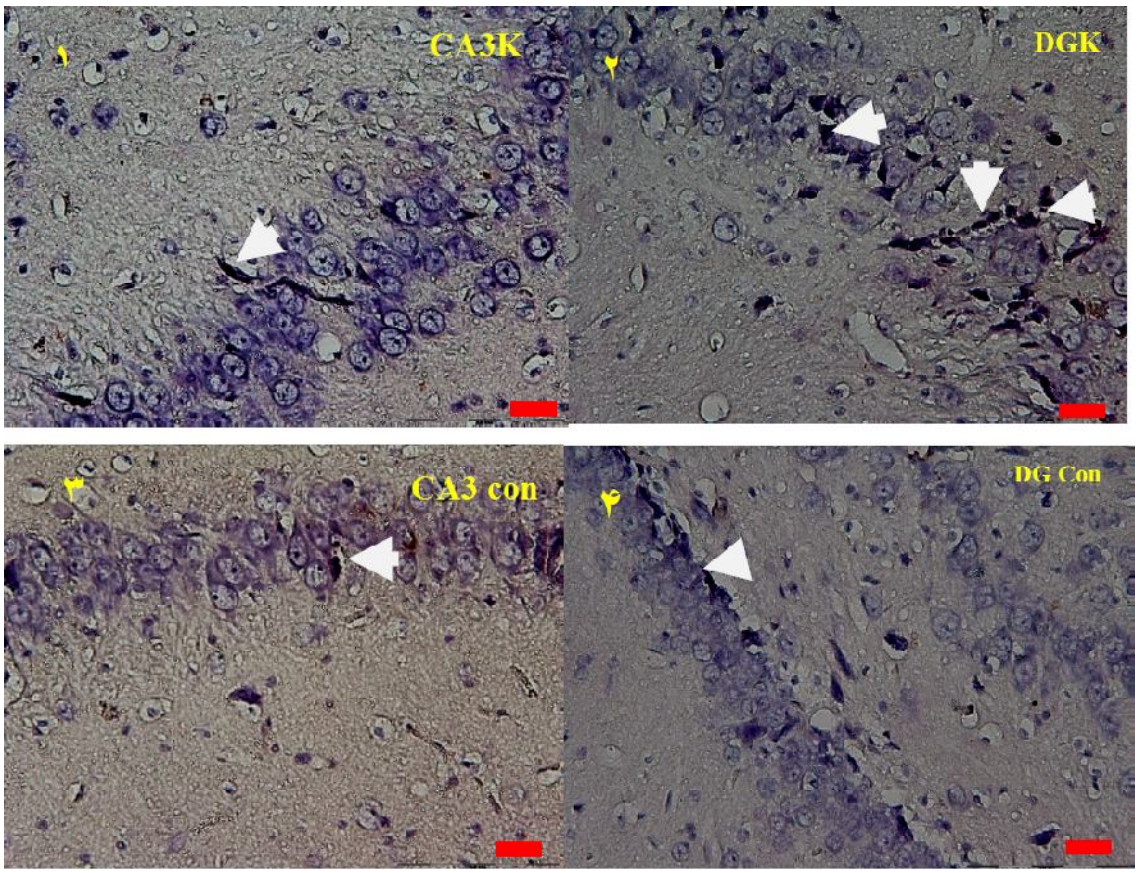
نتایج این مطالعه نشان داد که سو مصرف مزمن کتامین می تواند مرگ نورونی را در سلول های گرانولر و پیرامیدال نواحی جیروس دندانه دار و CA3 را افزایش دهد. از ویژگی های نورون های دژنره چروکیدگی و رنگ پذیری بیش از اندازه، ظاهرتیره، آنها در مقایسه با نورون های سالم می باشد. نورون های تیره نوعی از استحاله نورونی می باشند که در شرایط مختلف ازجمله ایسکمی، تروما، صرع، دستکاری مکانیکی بافت مغز و هیپرگلیسمی گزارش گردیده اند [۱۱]. بررسی ها نشان داده که روز این نوع از مرگ نورونی با تغییر در گرادیان یونی و مسمومیت ناشی از گلوتامات ارتباط دارد[۱۲]. واکنش نورون ها در این شرایط به صورت از دست دادن حجم زیادی از آب درون سلولی، انقباض سیتواسکلت و تغییر در بار الکتریکی بروز می نماید در این حالت نورون آسیب دیده با رنگ های بار مخالف به شدت رنگ پذیر می شود [۱۳]. بررسی های قبلی ما نشان داده است که این گونه نورون ها به لحاظ الگوی تغییرات فراساختاری تا حدودی نسبت به اپوپتوزیس متفاوت می باشند [۱۱]. مقایسه شدت مرگ نورونی در دو ناحیه جیروس دندانه دار وCA 3 جیروس دندانه دار و CA3 نشان از آسیب پذیری بیشتر سلول های گرانولر جیروس دندانه دارد. هیپوکامپ از جمله نواحی سیستم عصبی است که دارای توانایی تکثیر سلولی می باشد. تکثیر سلول های گرانولر جیروس دندانه دار در تمام طول زندگی ادامه دارد و این تکثیر برای حافظه و اعمال شناختی در انسان و حیوانات ضروری است [۱۴]. پایانه های آکسونی این سلول ها از نوع گلوتامرژیک می باشد و ارتباط آنها با نورون های CA3 یکی از چرخه های درونی مدار شناختی محسوب می شود [۱۱]. پیچیدگی ساختاری هیپوکامپ موجب شده است تا در برابر تغییرات متابولیک مانند استرس اکسیداتیو بسیار حساس و آسیب پذیر گردد [۱۵]. کتامین نیز با افزایش استرس اکسیداتیو در بافت عصبی [۳،۴] و بافت حساس هیپوکامپ باعث دژنراسیون عصبی می گردد. با توجه به نقش کتامین در افزایش استرس اکسیداتیو در بافت عصبی مغز و هیپوکامپ و با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می رسد مصرف مزمن کتامین با فعال نمودن مسیر های پیام رسانی مرگ سلولی منجر به تشدید دژنراسیون عصبی در جیروس دندانه دار و CA3 گردیده است. نتایج مشابهی توسط ایبلا و همکاران پیشتر گزارش گردید که نشان دهنده تاثیر سوء مصرف حاد کتامین بر نرون های نواحی عصبی مرکزی مانند تالاموس و هیپوتالاموس در نوزادان رت می باشد [۵]. افزایش مرگ نورونی در ناحیه CA1 حیوانات دچار ایسکمی پس از مصرف کتامین توسط چرچ و همکاران گزارش گردیده است [۱۶] نتایج مطالعه ما نیز نشان داد تاثیر مزمن کتامین می تواند روند مرگ نورونی را به خصوص در ناحیه جیروس دندانه دار و CA3 را تشدید نماید. مرگ نورونی ناشی از اثر مصرف مزمن کتامین در سلو لهای گرانولر نسبت به سلو ل های پیرامیدال از شدت بیشتری برخوردار است که به نوعی آسیب پذیری این سلول ها را در مقایسه با سلول های پیرامیدال می رساند در حال حاضر علت مشخصی را نمی توانیم برای توجیه این پدیده پیشنهاد نماییم اما با توجه به اینکه سلول های گرانولر جمعیت در حال تکثیر منحصر به فرد سیستم عصبی مرکزی می باشند شاید این توانایی به نوعی درجه آسیب پذیری آنها را افزایش می دهد. با عنایت به نتایج بدست آمده در این مطالعه پیشنهاد می گردد تاثیر مصرف مزمن کتامین بر اعمال شناختی بر روی مدل های حیوانی مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این مطالعه سوء مصرف مزمن کتامین باعث دژنراسیون عصبی شدید در هیپوکامپ می گردد.

Archive of SID

www.SID.ir



تصاویر۴-۱: نورون های دژنره در نواحی جیروس دندانه دار و CA3 هیپوکامپ. تصویر ۱ ناحیه CA3 در گروه کتامینی(CA3K) نورون های تیره فشرده و هیپرکروماتیک (فلش). تصویر۲ ناحیه جیروس دندانه ار گروه کتامینی (DGk) فلش ها نورون های دژنره گرانولر را نشان می دهد این نورون ها ضمن رنگ پذیری شدید نسبت به نورون های سالم دچار چروکیدگی شدیدی شده اند. تصویر ۳ ناحیه CA3 در گروه کنترل(CON) نورون دژنره هیپرکروماتیک. تصویر۴ ناحیه DG در گروه کنترل (CON) نورون دژنره هیپرکروماتیک فلش در لایه گرانولر جیروس دندانه دار را نشان می دهد. (مقیاس ۲۵ µm)

قدردانی و تشکر

تحقیق حاضر با حمایت های مادی و معنوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی و با شماره طرح مصوب۲۸۷/پ/۹۰ به انجام رسید. بدینوسیله از زحمات و پشتیبانی آن معاونت محترم، جناب آقای دکتر گلشن، تشکر و قدردانی می گردد.

www.SID.ir

References

1. Joe-Laidler K, Hunt G, Sit Down to float: The cultural meaning of ketamine use in Hong Kong, Addict Res Theory 2008;16:259 –271.
2. Fang YX,WangYB, Shi J, Liu ZM, Lu L Recent trends in drug abuse in China, Acta Pharmacol Sin, 2006; 27:140 –144.
3. Bi-Dargham A, Mawlawi O, Lombardo I, Gil R, Martinez D, Huang Y, Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia J Neurosci 2002;22: 3708–19.
4. De Oliveira L, Spiazzi C M, Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats, Progress in Neuro-Psychopharmcol & Biological Psychiatry.2009; 33: 1003–1008
5. Ibla JC , Hayashi H, Bajic D, Prolonged Exposure to Ketamine Increases Brain Derived Neurotrophic Factor Levels in Developing Rat Brains, Current Drug Safety.2009;4:11-16
6. Proescholdt M, Heimann A, Kempski O, Neuroprotection of S(1) ketamine isomer in global forebrain ischemia .Brain Research 2001;904 :245–25
7. Liao Y, Tang J, Philip R,"et al", Reduced Dorsal Prefrontal Gray Matter after Chronic Ketamine Use.BIOL PSYCHIATRY 2011;69:42–48
8. Liao Y, Tang J, Ma M,"et al" , Frontal white matter abnormalities following chronic ketamine use: a diffusion tensor imaging study, Brain. 2010;133; 2115–2122
9. Ahmadpour sh, yousefi S, sheibani M," et al", Neuronal death in dentate gyrus and CA3 in diabetic rats: effects of insulin and ascorbic acid .Journl of Hormozan medical sciences 2010;13(4):234-45[Persian]
10.Mosfegh M, Saremi E,Hagir H,Fogi KH,Ahmadpour Sh, stereological analysis of sexual dimorphism of amygdale nucleus in rat, Journal of North Khorasan Universsity of Medical Sciences2012;4(2):237 - 242[Persian]
11.Ahmadpour Sh,Younesi MA, Quantification of TUNEL assay in hippocampus of diabetic rats by Mat lab:comparision with stereological method, J Clinic Experiment Pathol 2012, 2:2[Persian]
12.Ahmadpour sh,Haghir H, Diabetes mellitus type1 induces dark neuron formation in the dentate gyrus: A study by gallyas' method and Transmission Electron Microscopy Rom J Morphol Embryol 2011;52(2):575–579[Persian]
13.Kellermayer R, Zsombok A, Auer T, Gallyas F, Electrically induced gel-to-gel phase-transition in neurons, Cell Biol Int 2006 Feb;30(2):175-82.
14.Kovacs B,Bokovics P,Gallyas F, Morphological effects of transcardially perfused sodium dodcylsulfste on the rat brain, Biol Cell 2007 Aug;99(8):425-32
15.Choi JH, Hwang IK, Yi SS, Yoo KS, Lee CH, Shin HC,Yoon YS, Won MH, Effects of streptozotocin-induced type 1diabetes on cell proliferation and neuronal differentiation in the dentate gyrus; correlation with memory impairment,Korean J Anat 2009;42(1):41–48.
16.Church J , Zeman S , Ketamine promotes hippocampal CA1 pyramidal neuron loss after a short-duration ischemic insult in rats.Neuroscience Letters 1999;1123(1);11: 65-68

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

Effects of chronic exposure to ketamine on Dentate Gyrus and CA3 regions of hippocampus

*Foghi Kh[1], Ahmadpour Sh[*2]*

[1]Faculty member of medicine school, Depratment of anatomical Sciences&pathobiology ,North KhorasanUniversity of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[2]Faculty member of medicine school, Assistant professor of anatomical sciences, Department of anatomical Sciences&pathobiology, North KhorasanUniversity of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

***Corresponding Author:** medicine faculty, Bojnurd.North KhorasanUniversity of Medical Sciences,.
Email: shahahmadpour@gmail.com*

Abstract

***Backgroiund &Objectives**: Ketamine is one of the anesthetic drugs which is used in dissociative anesthesia. Psychotogeinic effect of ketamine with its resulted euphoria has made it as a psychotogenic abused drug. The aim of this study was to assess the effects of chronic exposure to ketamine on dentate gyrus and CA3 region of hippocampus.*

***materaial and Methods:** this study was carried out on 20 male wistar rats (4 weeks old 150-200gr) that were randomly divided into two groups namely experimental and control. Experimental group received ketamine interaperitonellay at dose of 10mg/kg for one week. At the end of week speciement were stained by cresyl violet and degenerated neurons were counted by modified stereological method.*

***Results**: the count of dark neurons in granular layer of dentate gyrus of experimental group showed significant level of difference compare with control ($p<0.001$).The comparison between the dark neurons in pyramidal layer of CA3 region of experimental group showed significant difference with those of control group ($P<0.001$)*

***Conclusion**: the results of our study showed that chronic exposure to ketamine can accelerate neuronal death in granular cells of the dentate gyrus and pyramidal neurons of CA3 regions.*

***Key words:** ketamine,Dentate gyrus,CA3,Hippocampus*

***Submitted:**27 Sep 2012*
***Revised:**25 Oct 2012*
***Accepted:**27 Nov 2012*

Archive of SID

www.SID.ir