مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی دهم، شماره‌ی ۲، صفحه‌های ۱۱۴ ـ ۱۰۷ (تیر ۱۳۸۷)

مقاله‌ی پژوهشی

تأثیر استروژن بر پاسخ‌های قلبی ـ عروقی گابا و گلوتامات در هسته‌ی جلویی ـ شکمی ـ میانی بصل‌النخاع در موش‌های صحرایی ماده‌ی فاقد تخمدان

دکتر معصومه حاتم[۱]، دکتر مهین گنج‌خانی[۲]

۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی هرمزگان؛ ۲) گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی زنجان؛ **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** بندر عباس، بلوار شهید ناصر، دانشکده‌ی پزشکی، گروه فیزیولوژی، دکتر معصومه حاتم؛ e-mail:mhatam@hums.ac.ir

چکیده

مقدمه: هسته‌ی جلویی شکمی ـ میانی ـ بصل‌النخاع (RVMM) یکی از هسته‌های کنترل کننده‌ی قلب و عروق و حاوی گیرنده‌های استروژن و نورون‌های گابا و گلوتامات است. این مطالعه به منظور بررسی اثر استروژن بر پاسخ‌های قلبی ـ عروقی گابا و گلوتامات در رت‌های ماده‌ی اوورکتومی شده (OVX) و اوورکتومی درمان شده با استروژن (OVX+E) انجام شد. مواد و روش‌ها: آزمایش‌ها روی ۴۰ سر موش صحرایی اوورکتومی و بیهوش شده با یوروتان انجام شد. داروها با حجم ۵۰ نانولیتر شامل بیکوکولین (آنتاگونیست گیرنده‌ی گابا A) با دوز یک میلی‌مول، فاکلوفن (آنتاگونیست گیرنده‌ی گابا B) با دوز ۵ میلی‌مول و اسیدکینیورنیک (آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌ی گلوتامات) با دوز ۵ میلی‌مول توسط میکروپیپت و به صورت داخل هسته‌ای توسط استریوتاکس تزریق شدند. فشار خون و ضربان قلب قبل از تزریق و در تمام مدت آزمایش ثبت شد. میانگین حداکثر تغییرهای فشار متوسط شریانی و ضربان قلب نسبت به قبل از تزریق با آزمون تی جفتی و بین گروه‌های OVX، OVX+E و سالین با آزمون آنووا ارزیابی شد. یافته‌ها: استروژن موجب کاهش فشار متوسط شریانی ($p<0/05$) و کاهش ضربان قلب ($p<0/01$) در گروه OVX+E در مقایسه با گروه OVX شد. تزریق بیکوکولین تغییر معنی‌داری در فشارخون گروه‌های OVX و OVX+E ایجاد نکرد در حالی که ضربان قلب را در هر دو گروه افزایش داد. میزان افزایش در گروه OVX+E به طور معنی‌داری بیشتر از OVX بود ($p<0/05$) در حالی‌که تزریق فاکلوفن و اسیدکینیورنیک تغییر معنی‌داری بر فشار خون و ضربان قلب در هیچ‌کدام از گروه‌ها ایجاد نکرد. تزریق حجم مشابهی از سالین هم تغییر معنی‌داری در فشار و ضربان قلب ایجاد نکرد. نتیجه‌گیری: این داده‌ها پیشنهاد می‌کند که استروژن موجب کاهش فشار متوسط شریانی و ضربان قلب می‌شود و در RVMM موش‌های صحرایی ماده کاهش ضربان قلب را با تقویت اثر مهاری سیستم گابا اعمال می‌کند.

واژگان کلیدی: هسته‌ی جلویی ـ شکمی ـ میانی بصل‌النخاع، استروژن، گابا، گلوتامات، فشار خون و ضربان قلب

دریافت مقاله: ۸۶/۲/۲۳ـ دریافت اصلاحیه: ۸۶/۷/۲۸ ـ پذیرش مقاله: ۸۶/۸/۳

مقدمه

هسته‌ی جلویی ـ شکمی ـ میانی بصل‌النخاع (RVMM)[i] به تشکیلات مشبک میانی در ناحیه‌ی بصل‌النخاع اطلاق می‌شود که در بخش کناری مسیر هرمی واقع شده و دارای چندین هسته است که مهم‌ترین آنها شامل نورون‌های غول‌پیکر (GiA)[ii] هسته دیگری در کنار آن به نام (LPGi)[iii] و در بخش پشتی GiA ناحیه‌ی دیگری به نام (Gi)[iv] است.

i- Rostarl Ventro Medial Medulla

ii- Nucleus Gigantocellularis pars alpha
iii- Paragiagantocellularis lateralis
iv- Nucleus gigantocellularis

Archive of SID
www.SID.ir

نورون‌های این دو بخش به طور مستقیم وارد نورون‌های بخش کناری میانی نخاع می‌شوند که محل نورون‌های پیش عقده‌ای سمپاتیک برای کنترل اعمال اتونوم، از جمله قلب و عروق است.[۱،۲] بخش کنترل‌کننده‌ی قلب و عروق RVMM در مرکز هسته‌ی (Gi) قرار دارد.[۱،۲] تحریک شیمیایی (Gi) با اسید آمینه‌ی تحریکی اِن‌متیل‌دی‌آسپارتات باعث افزایش فشار خون به علت افزایش فعالیت سمپاتیکی عروق بدون تغییر در ضربان قلب می‌شود. در صورتی‌که تزریق اسیدآمینه‌ی مهاری گلایسین در این ناحیه فشار خون را کاهش می‌دهد.[۱] در مطالعه‌ای تزریق دو طرفه‌ی لیدوکائین در RVMM منجر به غیر فعال شدن نورون‌ها و کاهش قابل ملاحظه‌ی مقاومت عروقی و به دنبال آن کاهش فشار خون در شریان‌های کلیه و مزانتر شد.[۲] در مطالعه‌ی دیگری نقش RVMM در کنترل فشار خون نوروژنیک نشان داده شد. در آن مطالعه با قطع اعصاب بارورسپتورهای محیطی که پیام بارورسپتورها را به دستگاه عصبی منتقل می‌کنند، ابتدا فشار خون افزایش یافت اما تخریب شیمیایی RVMM این افزایش را تا حد بسیار زیادی تضعیف نمود.[۳] در مطالعه‌های دیگری تحریک الکتریکی RVMM باعث افزایش فشار و مقاومت در عروق اندام‌های تحتانی شد.[۴] مطالعه‌هایی هم توانایی RVMM را در حفظ تون عصبی و مقاومت سایر عروق مطرح کرده‌اند.[۵] هم‌چنین گزارش دیگری حاکی از وجود نوروپپتید هیپوکرتین یا اورکسین در RVMM است.[۶] این ماده‌ی به تازگی شناسایی شده[۷،۸] و در اعمال قلبی ـ عروقی نقش دارد. تزریق اورکسین به RVMM به طور وابسته به دوز باعث افزایش ضربان قلب بدون تغییر در فشار خون شد و تزریق داخل وریدی آتروپین توانست تا حد زیادی این پاسخ تاکیکاردی را تضعیف نماید.[۹] در بخش دیگری از همان مطالعه نقشRVMM در فعال کردن بارورفلکس‌ها با تزریق داخل وریدی فنیل‌افرین و به دنبال آن تزریق داخل هسته‌ای اورکسین نشان داد که اورکسین موجود در RVMM موجب کاهش حساسیت بارورفلکس می‌شود. با توجه به این یافته‌ها مشخص می‌شود که RVMM یکی از مناطق مؤثر در کنترل عصبی قلب و گردش خون است.

از سوی دیگر مطالعه‌های اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که کمبود استروژن احتمال خطر بیماری‌های قلبی ـ عروقی را در زنان یائسه افزایش می‌دهد.[۱۰،۱۱] همین آزمایش‌ها نشان داد که استروژن نقش مهمی در حفظ تون عروقی ایفا می‌کند. افزایش سطح استروژن خون موجب تقویت جزء پاراسمپاتیک رفلکس‌های بارورسپتوری در حیوانات نر و ماده می‌شود.[۱۲-۱۵] وجود گیرنده‌های استروژنی در مناطق متعددی از مغز مانند هسته‌ی RVMM تأیید شده است.[۱۵] هم‌چنین مطالعه‌های متعدد دیگری بر وجود نورون‌های گابا ارژیک[۱۶] و گلوتاماترژیک در هسته‌ی RVMM دلالت دارد.[۱۷] همراهی این نورون‌ها به عنوان مهم‌ترین نورون‌های تحریکی و مهاری با استروژن در کنترل قلب و عروق در چندین ناحیه از مغز نشان داده شده است. در یک مطالعه تأثیر استروژن بر گابا و گلوتامات در هسته‌ی پارابراکیال بررسی شد تزریق داخل هسته‌ای استروژن باعث کاهش فشارخون، ضربان قلب و تون سمپاتیکی پایه‌ی و افزایش تون پایه عصب واگ شد. تزریق داخل هسته‌ای توأم استروژن و بیکوکولین کاهش فشار و تون سمپاتیک را از بین برد در حالی‌که تزریق توأم استروژن و آنتاگونیست NMDA کاهش ضربان قلب و افزایش تون واگ را حذف نمود.[۱۸] در مطالعه‌ی دیگری تزریق داخل هسته‌ای استروژن به قشر اینسولار تأثیری بر فشار خون و ضربان قلب نداشت و فقط تون سمپاتیک عروق را افزایش داد و تزریق توأم بیکوکولین و استروژن این اثر را کاملاً زایل نمود در حالی‌که تزریق توأم استروژن و آنتاگونیست‌های گلوتامات تأثیری نداشت.[۱۹] در مطالعه‌ی دیگری تزریق استروژن به هسته پارابراکیال موجب کاهش فعالیت نورون‌های هیپوتالاموس شد و تزریق توأم استروژن و بیکوکولین این پاسخ را کاملاً از بین برد در حالی‌که تزریق توأم استروژن و فاکلوفن تأثیری نداشت.[۲۰] در این مطالعه با در نظر گرفتن تأثیر استروژن بر رسپتورهای گابا و گلوتامات بر آن شدیم تا برای اولین بار این همرامی را در عملکرد هسته‌ی RVMM بر فشار خون و ضربان قلب مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

آزمایش‌ها بر روی ۴۰ رأس موش صحرایی ماده از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. حیوانات ماده پس از اتمام دوران شیرخوارگی از نرها جدا و به صورت دوتایی در قفس‌های مجزا و در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با آب و غذای کافی نگهداری شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

در مرحله‌ی اول آزمایش‌ها، حیوانات با پنتوباربیتال سدیم (۴۰mg/Kg) بیهوش و به صورت دو طرفه اوورکتومی شدند سپس بلافاصله در زیر پوست گردن گروهی از آنها کپسول‌های پلاستیکی حاوی کلسترول به عنوان حلال استروژن (OVX) و در گروه دیگر کپسول‌های حاوی استروژن قرار داده شدند (OVX+E).[۲۱] در یک بررسی با روش رادیوایمونواسی سطح پلاسمایی استروژن در گروه OVX+E به میزان ۳۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر و در گروه OVX سه روز پس از کاشت کپسول کلسترول کمتر از یک پیکوگرم برآورد زیرا قابل سنجش نبود.[۲۱] حیوانات پس از ۱۵ تا ۲۰ روز و انجام مراقبت‌های پس از عمل جراحی با یوروتان (۱/۴g/Kg) (و دوز تکمیلی g/Kg ۰/۳ هر ۲-۱ ساعت در صورت لزوم) به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند و عمق بیهوشی آنها با فشار دادن دم و نوک انگشتان (رفلکس Withdrawal) بررسی شد. برای تنفس راحت‌تر حیوانات تراکئوستومی شدند و سپس لوله‌ی پلی‌اتیلین (PE50) به منظور ثبت فشار خون و ضربان قلب و نیز تزریق داروها به ترتیب در شریان و ورید ران قرار داده شد.[۱۸] فشارخون توسط ترانسدیوسر فشار هاروارد و اوسیلوگراف یونیورسال و ضربان قلب توسط کاردیوتاکوگراف به طور پیوسته و در تمام مدت آزمایش ثبت شدند. دمای بدن حیوان توسط کنترل کننده‌ی دما (Narco-Bio System, U.S.A) در محدوده‌ی ۱±۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد حفظ و سپس حیوان در موقعیت رو به شکم در استریوتاکس (Stolteing USA) قرار داده و دو سوراخ کوچک توسط دریل در استخوان آهیانه ایجاد شد.

تحریک‌های شیمیایی هسته RVMM توسط یک میکروپیپت شیشه‌ای با قطر داخلی ۴۵-۳۵ میکرومتر که به کمک میکروالکتروپولر (Stolting, U.S.A) تهیه شده بود، انجام شد. در تعدادی از آزمایش‌ها میکروپیپت توسط یک لوله‌ی پلاستیکی به سرنگ انسولین وصل و تزریق مواد با فشار هوای داخل سرنگ انجام شد و در تعدادی دیگر میکروپیپت توسط یک لوله‌ی پلاستیکی به کپسول نیتروژن متصل شد در این‌حال تزریق داروها توسط پمپ Picospritzer با فشار گاز نیتروژن انجام شد.[۲۱] حجم تزریق تمام محلول‌ها ۵۰ نانولیتر بود که با مشاهده‌ی مستقیم حباب مایع و هوا توسط یک میکروسکوپ مخصوص با عدسی چشمی مدرج با دقت ۲ نانولیتر (ساخت دانشگاه U.W.O کانادا) کنترل شد.[۱۸] مختصات RVMM به کمک اطلس استریوتاکسی‌پاکسینوز[۲۲] محدوده ۰/۵ تا ۱/۵ میلی‌متر از خط میانی، ۰/۵ تا ۳/۵ میلی‌متر بالای سطح شکمی و در ۱۱/۳- تا ۱۱/۸- میلی‌متر عقب برگما تعیین شد. به منظور مطالعه‌ی همه‌ی بخش‌های RVMM، میکروپیپت به تدریج در فواصل ۱۰۰ میکرون پس از هر تزریق به پایین و اطراف برده شد به طوری‌که چند تزریق در هر حیوان انجام شد.

همه‌ی داروها در نرمال سالین حل شدند.[۲۳] آزمایش‌ها در گروه‌های شش‌تایی و در دو بخش به صورت ذیل انجام شد. لازم به ذکر است که n، تعداد تزریق در هر گروه می‌باشد. در چهار حیوان جداگانه نرمال سالین به عنوان حلال داروها تزریق شد.

بخش اول شامل چهار مجموعه آزمایش برای بررسی سیستم گاباارژیک در گروه‌هایOVX وOVX+E با تزریق یک میلی‌مول بیکوکولین[۲۳] (BMI) (Sigma آنتاگونیست رسپتور گابا A) و ۵ میلی‌مول فاکلوفن[۲۳](Sigma آنتاگونیست رسپتور گابا B) و بخش دوم شامل دو مجموعه آزمایش برای بررسی سیستم گلوتاماترژیک در گروه‌هایOVX و OVX+E با تزریق ۵ میلی‌مول اسیدکینیورنیک[۲۳] (KYN) Sigma (آنتاگونیست گلوتامات) بود.

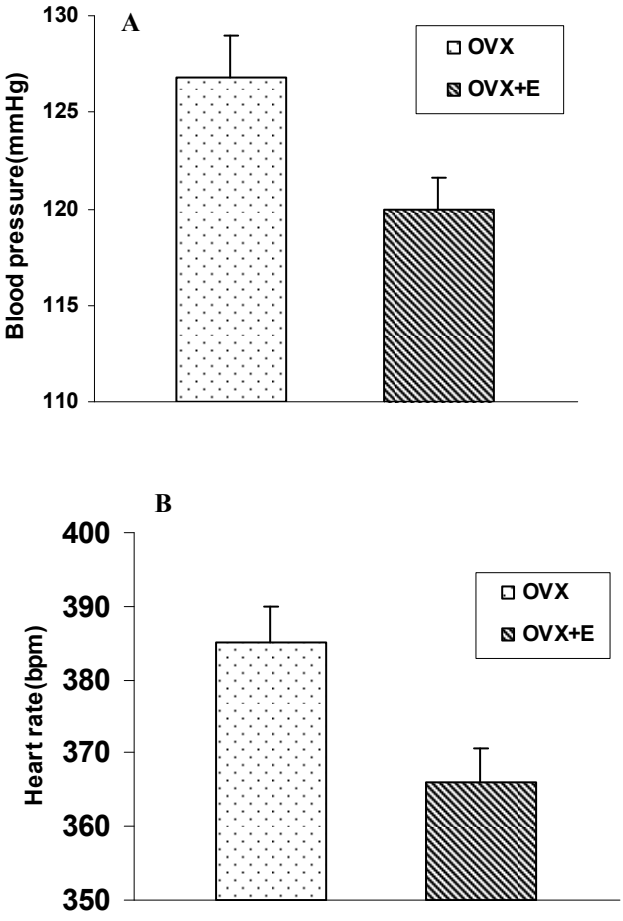
در پایان هر آزمایش از طریق پرفیوژن درون قلبی ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول نرمال سالین هپارین و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول فرمالین سالین۱۰٪ تزریق و مغز حیوان در درون جمجمه فیکس شد و پس از چند ساعت مغز خارج شده و پس از بریدن قسمت‌های اضافی، منطقه‌ی موردنظر در فرمالین سالین۱۰٪ قرار داده و برش‌های پشت سرهم توسط میکروتوم انجمادی Crayo cut۱۸۰۰ با ضخامت ۶۰ میکرون تهیه و به کمک Neutral red (sigma) رنگ شد. پس از آن به کمک میکروسکوپ نوری محل تزریق مشاهده گردید. مواردی که تزریق در خارج از RVMM انجام شد، از آنالیز آماری حذف شدند.

برای انجام آنالیز داده‌ها ابتدا، در تمام گروه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه فشار خون و ضربان قلب بدون هیچ تزریقی ثبت شد تا مقایسه‌ای بین گروه‌های OVX و OVX+E انجام شود و از ثابت ماندن فشار خون و ضربان قلب هم اطمینان حاصل شود سپس ثبت تا پایان هر آزمایش ادامه یافت. در تعدادی از آزمایش‌ها توسط یک نرم‌افزار که به این منظور طراحی شده بود، فشار خون و ضربان قلب از اوسیلوگراف به کامپیوتر انتقال و در آن ذخیره شد. پس از اتمام آزمایش مقادیر حداکثر تغییرات فشار سیستولی، دیاستولی و متوسط

Archive of SID

www.SID.ir

شریانی و ضربان قلب محاسبه شد. تغییر به میزان ۵ میلی‌متر جیوه برای فشارخون و ۵ ضربه در دقیقه برای ضربان قلب پاسخ منظور و آزمون آماری انجام شد.[۲۵] برای انجام آزمون‌های آماری از نرم‌افزارSPSS نسخه‌ی ۱۳ استفاده شد. میانگین حداکثر تغییرهای فشار متوسط شریانی و ضربان قلب به همراه انحراف معیار Mean ±SEM در گروه‌های OVX و OVX+E و سالین با یکدیگر توسط آزمون یکطرفه‌ی آنوا و حداکثر تغییرها در هر گروه نسبت به میزان قبل از تزریق دارو توسط آزمون تی جفتی مقایسه و اختلاف داده‌ها با P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شدند.



نمودار ۱- میانگین تغییرهای فشار متوسط شریانی A و ضربان قلب B در گروه‌های اوورکتومی شده OVX و اورکتومی درمان شده با استروژن * OVX+E معنی دار بودن میانگین را در دو گروه نشان می‌دهد (آزمون تی) P<0.05* و P<0.01**

یافته‌ها

در ابتدا به منظور بررسی نقش استروژن بر فشار خون و ضربان قلب قبل از تزریق، میانگین فشار متوسط شریانی و میانگین ضربان قلب در گروه‌های OVX (n=77) و OVX+E (n=99) با آزمون تی ارزیابی شدند. میانگین فشار متوسط شریانی در گروه OVX ۱۲۶/۸±۲/۲ و در گروه OVX+E ۱۲۰±۱/۶ بود. آزمون آماری در مقایسه‌ی میانگین‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). میانگین ضربان قلب در گروه OVX ۳۸۴/۸±۴/۸۱ و در گروه OVX+E ۳۶۶/۲±۴/۶ بود. آزمون آماری تی مستقل برای مقایسه‌ی میانگین‌ها در این مورد هم تفاوت معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۱).

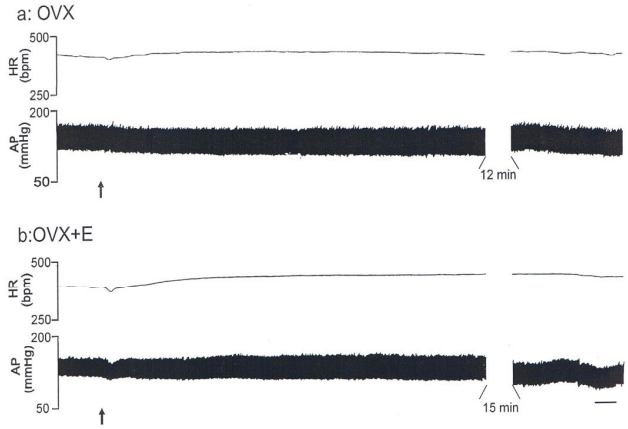
به منظور بررسی عدم تأثیر نقش حلال داروها، نرمال سالین به بخش‌های مختلف RVMM (n=19) تزریق شد و باعث تغییر بسیار ناچیزی در فشار خون و ضربان قلب شد. میانگین فشار خون و ضربان قلب قبل از تزریق به ترتیب برابر ۸۱±۲/۵ و ۴۰۳±۶/۱ بود و پس از آن به میزان ۲/۳۵± ۸۲/۵ و ۴۰۴±۶/۶ تغییر یافت. میانگین تغییرها در نمودار ۲ نشان داده شده است.

بررسی نقش سیستم گاباارژیک بر پاسخ‌های قلبی عروقی RVMM:

برای بررسی نقش سیستم گاباارژیک در یک مجموعه آزمایش از بیکوکولین آنتاگونیست گابا استفاده شد. در گروه OVX (n=21) میانگین فشار متوسط شریانی قبل از آزمایش ۱۳۴±۲/۹ میلی‌متر جیوه و میانگین ضربان قلب ۴۱۰±۶/۹ ضربه در دقیقه بود و برای گروه OVX+E (n=36) این مقادیر به ترتیب ۱۲۷/۶±۲/۴۸ و ۳۸۲/۵±۸/۹ بود. تزریق یک‌طرفه‌ی یک میلی‌مول بیکوکولین موجب تغییر در میانگین فشار متوسط شریانی در گروه OVX به میزان ۲/۵±۱/۵ و در گروه OVX+E به میزان ۵/۶±۱/۲ میلی‌متر جیوه شد. آزمون آنوا اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌ها و آزمون تی جفتی نسبت به قبل از تزریق نشان ندادند. در مورد ضربان قلب، میانگین تغییر در گروه OVX ۳۳/۱±۵/۰۷ و در گروه OVX+E ۵۰/۷±۷/۵ ضربه در دقیقه بود. افزایش ضربان قلب بلافاصله پس از تزریق بیکوکولین مشاهده شد که پس از هفت تا ده دقیقه به حداکثر میزان خود رسید و بین ۳۰ تا ۴۰ دقیقه پس از آزمایش ادامه یافت. این الگو در همه‌ی نمونه‌ها مشابه بود (شکل ۱).

Archive of SID

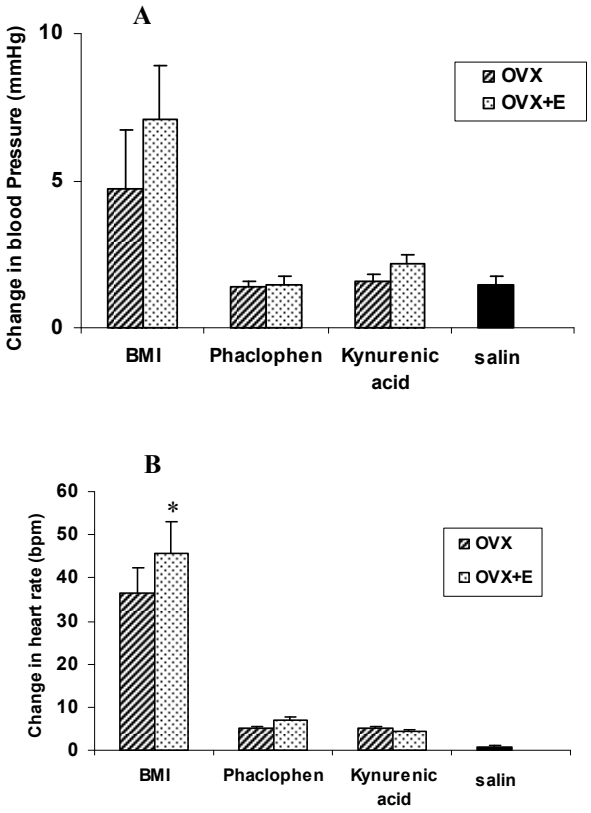
www.SID.ir



شکل ۱- یک نمونه از ثبت فشار خون و ضربان قلب پس از تزریق ۵۰ نانولیتر محلول یک میلی‌مولار بیکوکولین در گروه‌های اوورکتومی شده OVX و اوورکتومی درمان شده با استروژن OVX+E. علامت پیکان نشانگر زمان تزریق است.

برای مقایسه‌ی تغییرهای میانگین ضربان قلب بین گروه‌های OVX و OVX+E و سالین، آزمون آنووای یک طرفه به همراه توکی انجام شد و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌هایOVX و OVX+E با سالین دیده شد (p<۰/۰۰۱) ولی تفاوت بین گروه‌های OVX و OVX+E معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). آزمون تی جفتی تفاوت معنی‌دار بین این دو گروه را نسبت به قبل از تزریق نشان داد (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۲).

در مجموعه‌ی دیگری از آزمایش‌ها، ۵ میلی‌مول فاکلوفن، به RVMM یک طرف تزریق شد. در گروه OVX (n=۲۵) میانگین فشار متوسط شریانی قبل از آزمایش ۱±۱۳۲ میلی‌متر جیوه و میانگین ضربان قلب ۱/۷۶±۳۹۲/۵ ضربه در دقیقه بود و در گروه OVX+E (n=۲۷) میانگین فشار متوسط شریانی ۰/۷±۱۱۶/۲ میلی‌متر جیوه و میانگین ضربان قلب ۱/۳۴±۳۶۸/۵ ضربه در دقیقه بود. تزریق فاکلوفن در گروه OVX میانگین فشار متوسط شریانی را به میزان ۰/۱۹±۱/۴ میلی‌متر جیوه و میانگین ضربان قلب را ۰/۴±۵/۱۹ ضربه در دقیقه تغییر داد. هم‌چنین در گروه OVX+E به ترتیب ۰/۲۷±۱/۴۷میلی‌متر جیوه و ۰/۶±۷/۳ ضربه در دقیقه افزایش وجود داشت. مقایسه‌ی تغییرهای میانگین فشار متوسط شریانی و ضربان قلب بین این دو گروه و سالین با آزمون آنووا و قبل از تزریق با آزمون تی‌جفتی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۲)



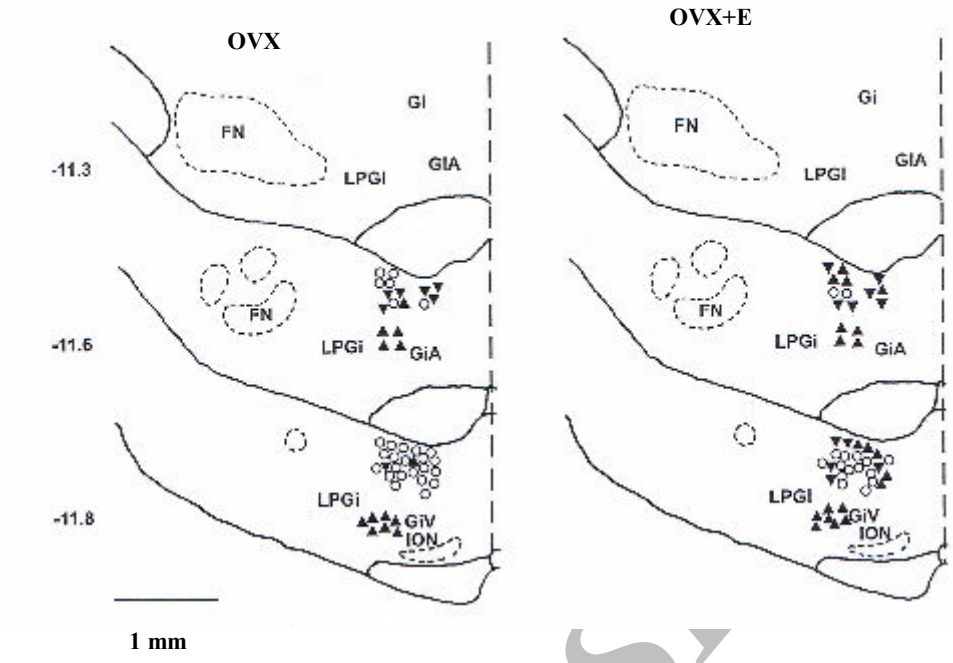
نمودار ۲- میانگین تغییرهای فشار متوسط شریانی A و ضربان قلب B در گروه‌های سالین و اوورکتومی شده OVX و اورکتومی درمان شده با استروژن OVX+E پس از دریافت یک میلی‌مول بیکوکولین BMI و ۵ میلی‌مول فاکلوفن و ۵ میلی‌مول اسید کینوزنیک * معنی‌دار بودن میانگین را در دو گروه نشان می‌دهد (آزمون آنووا) P<0.05*

بررسی نقش سیستم گلوتاماترژیک بر پاسخ‌های قلبی ـ عروقی RVMM:

در این بخش از آزمایش‌ها از ۵۰ نانولیتر محلول ۵ میلی‌مول کینورینک اسید استفاده شد. در گروه OVX (n=۲۸) میانگین فشار متوسط شریانی قبل از آزمایش ۰/۳±۱۱۵ /۳ میلی‌متر جیوه و ضربان قلب ۱/۳±۳۵۷/۴ ضربه در دقیقه بود. در گروه OVX+E میانگین فشار متوسط شریانی ۰/۴±۱۱۸/۸ میلی‌متر جیوه و ضربان قلب ۰/۹±۳۴۷/۷ در دقیقه بود. تزریق یک‌طرفه‌ی ۵ میلی‌مول اسید کینیورنیک موجب تغییر در میانگین فشار متوسط شریانی در گروه OVX به میزان ۰/۲± ۱/۶ و در گروه OVX+E به میزان ۰/۳±۴/۳ میلی‌متر جیوه شد. در مورد ضربان قلب به ترتیب ۰/۴±۵ و ۰/۲±۴/۲ ضربان در دقیقه که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین دو گروه با هم و قبل از تزریق وجود نداشت (شکل ۲).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- نمایش نقاط تزریق شده در RVMM و مناطق اطراف در گروه‌های اوورکتومی شده OVX و اوورکتومی درمان شده با استروژن OVX+E. بیکوکولین (دایره‌ی تو خالی)، فاکلوفن (مثلث وارونه) و اسید کینیورنیک (مثلث عادی).
FN,facial nucleus, Gi,gigantocellular reticular, GiA, gigantocell reticular ,LPGi,lateral paragigantocellular, GiV,gigantocell reticular, ION, inferior olive

شکل ۲ نقطه‌های تزریق بیکوکولین، فاکلوفن و اسیدکینیورینک با اقتباس از اطلس استریوتاکس پاکسینوز مشخص شده‌اند. موارد تزریقی که خارج از RVMM بودند و پاسخ معنی‌دار ایجاد نکردند در آنالیز آماری مورد استفاده قرار نگرفتند.

بحث

در بخش اول این مطالعه تأثیر استروژن بر فشار خون و ضربان قلب در رت‌های OVX و OVX+E بررسی شد. مقایسه‌ی آماری بین این دو گروه نشان داد که استروژن موجب کاهش فشار متوسط شریانی در گروه دریافت کننده‌ی استروژن می‌شود، که با یافته‌های سایر پژوهشگران[۲۵-۲۸] هم‌خوانی دارد. مکانیسم تأثیر استروژن بر فشار خون و ضربان قلب به خوبی معلوم نشده است. در یک مطالعه در حیوانات اوورکتومی شده کاهش استروژن باعث افزایش فعالیت آنزیم Rho کیناز و سیستم رنین - آنژیو تانسین در ساقه‌ی مغز شد.[۲۵] مطالعه‌ی دیگری نشان داد که تزریق استروژن به هسته‌ی جلویی شکمی جانبی بصل‌النخاع (RVLM) که حاوی نورون‌های آدرنرژیکی فراوانی است با تغییر فعالیت آنزیم تیروزین‌هیدروکسیلاز فشار خون را کنترل و تعدیل می‌کند.[۲۶] تزریق استروژن به هسته‌ی پارابراکیال با تعدیل فعالیت سمپاتیک عروق فشار خون را کنترل می‌کند.[۱۸] اثر استروژن بر محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال نیز بررسی شده است. یافته‌های این مطالعه نشان داد که استروژن در سنتز کاتکولامین‌های مرکزی و محیطی اثر دارد و از این طریق فشار خون را کاهش می‌دهد.[۲۷] در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شد که تزریق استروژن در مناطقی از مغز، افزایش فشار خون ناشی از استرس را با افزایش فعالیت آنزیم نیتریک‌اکسایدسنتتاز تضعیف می‌کند.[۲۸]

در بخش دیگری، نقش سیستم گاباارژیک و گلوتاماترژیک با تزریق آنتاگونیست‌های آن بر فشار خون و ضربان قلب بررسی شد. در شروع این مطالعه حجم مشابهی از نرمال سالین به RVMM تزریق شد که تغییر معنی‌داری بر فشار خون و ضربان قلب ایجاد نکرد. این موضوع نشان داد که تغییرها به دلیل آسیب‌های مکانیکی احتمالی یا ناشی از تزریق حلال و یا جابه‌جایی بافتی نبوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

تزریق بیکوکولین (آنتاگونیست گابا A) تغییری در فشار خون هیچ‌کدام از دو گروه ایجاد نکرد ولی باعث افزایش ضربان قلب هم در OVX و هم OVX+E شد. البته این تأثیر در گروه OVX+E بیشتر از OVX بود. افزایش ضربان قلب در هر دو گروه بلافاصله پس از تزریق بیکوکولین مشاهده شد و تا ۴۰ دقیقه ادامه داشت که پاسخ طولانی محسوب می‌شود. تاکیکاردی ایجاد شده بر اثر تزریق بیکوکولین به طور عمده در هسته‌های GiA و Gi بود و تزریق در مناطق LPGi و زیتون تحتانی (ION)، پاسخ معنی‌داری در فشار خون و ضربان قلب ایجاد نکرد. پاسخ طولانی تزریق بیکوکولین این پیشنهاد را مطرح می‌کند که سیستم گابا A درRVMM از طریق تأثیر بر ترشح هورمون عمل خود را انجام می‌دهد. ارتباط این ناحیه با هسته‌های عمده ترشح‌کننده‌ی هورمون‌ها از جمله هسته‌ی پاراونتریکولار هیپوتالاموس که محل ترشح واروژرسین است معلوم شده که بحث بیشتر در باره‌ی آن مستلزم مطالعه‌ای جداگانه است.[۲۹] هم‌چنین این آزمایش‌ها نشان داد که استروژن موجب تقویت اثر مهاری گابا می‌شود زیرا با مهار رسپتور گابا A توسط بیکوکولین اثر افزایشی قوی‌تری در ضربان قلب مشاهده شد. نقش گیرنده‌ی گابا A در این خصوص مشابه مناطق دیگری از مغز منجمله بخش افقی هسته‌ی مورب بروکا[i][۲۳] و هسته‌های بستر مسیر انتهایی[ii][۳۰] و هسته‌های قاعده‌ای جانبی آمیگدال،[۳۱] هسته‌ی مرکزی آمیگدال[۳۲] و هسته‌ی پارابراکیال[۱۸] است.

این مطالعه هم‌چنین نشان داد تزریق داخل هسته‌ای فاکلوفن (آنتاگونیست گابا B) تغییری در متغیرهای مورد نظر در هیچ‌کدام از گروه‌ها ایجاد نکرد که نشان می‌دهد نورون‌های گاباارژیک در RVMM از طریق گیرنده‌ی گابا B تأثیری بر فشار خون و ضربان قلب ندارند. در این خصوص یافته‌های دیگری توسط سایر پژوهشگران ارایه شده است. به عنوان مثال تزریق فاکلوفن (آنتاگونیست گابا B) تغییر معنی‌داری در فشار خون و ضربان قلب ایجاد نکرد در حالی که تزریق موسیمول (آگونیست گابا A) به بخش پشتی RVMM در حیوانات نر فشار خون و ضربان قلب را کاهش داد.[۱] این مطالعه با یافته‌های مطالعه بر چند ناحیه‌ی دیگر مغز از جمله هسته‌ی قدامی قاعده‌ای جانبی آمیگدال[iii] مشابهت دارد. به این ترتیب که تزریق بیکوکولین در حیوانات نر باعث افزایش فشارخون و ضربان قلب شد در حالی‌که تزریق فاکلوفن تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد.[۳۱] در مطالعه‌ی دیگری تزریق Intrathecal فاکلوفن به نورون‌های پیش‌گانگلیونی سمپاتیک در قطعه‌ی T9 در حیوانات هوشیار،[۳۳] و نیز در مطالعه‌ای در آزمایشگاه ما تزریق فاکلوفن به هسته‌های بستر مسیر انتهایی در حیوانات نر تغییری در فشار خون و ضربان قلب ایجاد نکرد.[۳۴]

در بخش دیگری از این مطالعه به منظور بررسی نقش رسپتورهای سیستم گلوتاماترژیک، اسید کینیورنیک، آنتاگونیست غیراختصاصی گلوتامات بهRVMM در گروه‌های OVX و OVX+E تزریق شد که تغییر معنی‌داری در فشارخون و ضربان قلب ایجاد نکرد. در مطالعه‌های دیگر تزریق ال گلوتامات بهRVMM موجب افزایش فشارخون و ضربان قلب شد و تزریق نوروتوکسین 5,7-dihydroxy tryptamine برای تخریب نورون‌های سروتونرژیک قبل از ال ـ گلوتامات پاسخ افزایشی ال- گلوتامات را از بین برد در حالی‌که لیژن الکتریکی RVMM پاسخ ال گلوتامات را به مقدار جزیی تضعیف نمود.[۱] به نظر می‌رسد نورون‌های گلوتاماترژیک به احتمال قوی با فعال نمودن نورون‌های سروتونرژیک اثر افزایش فشار خود را اعمال می‌کنند بنابراین مهار گیرنده‌های گلوتاماترژیک مانع از فعال شدن نورون‌های سروتونرژیک شده از این‌رو تغییری در فشار خون و ضربان قلب ایجاد نمی‌شود.

به طور خلاصه یافته‌های این مطالعه نشان داد که استروژن گردش خون موجب کاهش فشار و ضربان قلب می‌شود و در RVMM موش‌های صحرایی ماده، باعث کاهش ضربان قلب می‌شود یکی از راه‌های این اثر از طریق تقویت اثر گیرنده‌ی گابا A انجام می‌شود، هم‌چنین مهار سیستم گلوتاماترژیک این هسته تغییری بر فشار خون و ضربان قلب در حضور و بدون حضور استروژن ندارد.

سپاسگزاری: این مطالعه در بخش فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان و گروه فیزیولوژی دانشگاه وسترن انتاریو کانادا انجام شد. به این وسیله از پروفسور جان سیری‌یل‌لو، دکتر کلوزا اولیورا و دکتر علی نسیمی دانشیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان قدردانی به عمل می‌آید.

i- Horizontal limb of diagonal band of Broca
ii- Bed nucleus stria terminalis
iii - Anterior basolateral amygdale

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Varner KJ, Rutherford DS, Vasquez EC, Brody MJ. Identification of cardiovascular neurons in the rostral ventromedial medulla in anesthetized rats. Hypertension 1992; 19 Suppl 2: II193-7.
2. Varner KJ, Grosskreutz CL, Cox BF, Brody MJ. Differential regulation of sympathetic nerve activity by lateral and medial subregions of the rostral ventral medulla. Prog Brain Res 1989; 81: 99-103.
3. Varner KJ, Vasquez EC, Brody MJ. Lesions in rostral ventromedial or rostral ventrolateral medulla block neurogenic hypertension.Hypertension. 1994 ; 24: 91-6.
4. Cox BF, Brody MJ. Subregions of rostral ventral medulla control arterial pressure and regional hemodynamics. Am J Physiol 1989; 257: R635-40.
5. Cox BF, Brody MJ. Interactions between the rostral ventral medulla and other central sites involved in vasomotor regulation. J Hypertens 1991 ; 9: 909-17.
6. Harrison TA, Chen CT, Dun NJ, Chang JK. Hypothalamic orexin A-immunoreactive neurons project to the rat dorsal medulla. Neurosci Lett 1999; 273: 17-20.
7. Date Y, Ueta Y, Yamashita H, Yamaguchi H, Matsukura S, Kangawa K, et al. Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96: 748-53.
8. Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, Hosoya Y, Yanagisawa M, Goto K. Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. Brain Res 1999 ; 827: 243-60.
9. Ciriello J, Li Z, de Oliveira CV. Cardioacceleratory responses to hypocretin-1 injections into rostral ventromedial medulla. Brain Res 2003; 991: 84-95.
10. Collins P. Clinical cardiovascular studies of hormone replacement therapy. Am J Cardiol 2002; 90: 30F-34F.
11. Hu FB, Grodstein F. Postmenopausal hormone therapy and the risk of cardiovascular disease: the epidemiologic evidence. Am J Cardiol 2002; 90: 26F-29F.
12. Mohamed MK, El-Mas MM, Abdel-Rahman AA. Estrogen enhancement of baroreflex sensitivity is centrally mediated. Am J Physiol 1999; 276: R1030-7.
13. Saleh TM, Connell BJ. Centrally mediated effect of 17beta-estradiol on parasympathetic tone in male rats. Am J Physiol 1999; 276: R474-81.
14. Saleh TM, Connell BJ. 17beta-estradiol modulates baroreflex sensitivity and autonomic tone of female rats. J Auton Nerv Syst 2000 ; 80: 148-61.
15. Saleh MC, Connell BJ, Saleh TM. Autonomic and cardiovascular reflex responses to central estrogen injection in ovariectomized female rats. Brain Res 2000; 879: 105-14.
16. Yardley CP, Andrade JM, Weaver LC. Evaluation of cardiovascular control by neurons in the dorsal medulla of rats. J Auton Nerv Syst 1989 ; 29: 1-11.
17. Minson JB, Chalmers JP, Caon AC, Renaud B. Separate areas of rat medulla oblongata with populations of serotonin- and adrenaline-containing neurons alter blood pressure after L-glutamate stimulation. J Auton Nerv Syst 1987 ; 19: 39-50.
18. Saleh TM, Connell BJ. Estrogen-induced autonomic effects are mediated by NMDA and GABAA receptors in the parabrachial nucleus. Brain Res 2003 ; 973: 161-70.
19. Saleh TM, Connell BJ, Cribb AE. Sympathoexcitatory effects of estrogen in the insular cortex are mediated by GABA.Brain Res. 2005 ; 1037: 114-22.
20. Saleh TM, Saleh MC. Inhibitory effect of 17beta-estradiol in the parabrachial nucleus is mediated by GABA. Brain Res 2001; 911: 116-24.
21. de Oliveira CV, Rosas-Arellano MP, Solano-Flores LP, Babic T, Li Z, Ciriello J. Estrogen alters the bradycardia response to hypocretin-1 in the nucleus tractus solitarius of the ovariectomized female. Brain Res 2003 ; 978: 14-23..
22. Paxions G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 3th ed. New York: Academic press 1997. p. 63-5.
23. Nasimi A, Hatam M. GABA and Glutamate receptors in the horizontal limb of diagonal band of Broca (hDB): effects on cardiovascular regulation. Exp Brain Res 2005; 162: 268-75.
24. Ciriello J, de Oliveira CV. Cardiac effects of hypocretin-1 in nucleus ambiguus. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2003; 284: R1611-20.
25. Ito K, Hirooka Y, Kimura Y, Sagara Y, Sunagawa K. Ovariectomy augments hypertension through rho-kinase activation in the brain stem in female spontaneously hypertensive rats. Hypertension 2006; 48: 651-7.
26. Zhou P, Alves SE, Herrick SP, Hayashi S, Warrier S, Iadecola C, et al. Evidence that estrogen directly and indirectly modulates C1 adrenergic bulbospinal neurons in the rostral ventrolateral medulla. Brain Res 2006 ; 1094: 163-78.
27. Serova LI, Maharjan S, Sabban EL. Estrogen modifies stress response of catecholamine biosynthetic enzyme genes and cardiovascular system in ovariectomized female rats. Neuroscience 2005; 132: 249-59.
28. Gingerich S, Krukoff TL. Estrogen modulates endothelial and neuronal nitric oxide synthase expression via an estrogen receptor beta-dependent mechanism in hypothalamic slice cultures. Endocrinology 2005 ; 146: 2933-41.
29. Das M, Vihlen CS, Legradi G. Hypothalamic and brainstem sources of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide nerve fibers innervating the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat. J Comp Neurol 2007 ; 500: 761-76.
30. Hatam M, Nasimi A. Glutamatergic systems in the bed nucleus of the stria terminalis, effects on cardiovascular system. Exp Brain Res 2007 ; 178: 394-401.
31. Sanders SK, Shekhar A. Blockade of GABAA receptors in the region of the anterior basolateral amygdala of rats elicits increases in heart rate and blood pressure. Brain Res 1991 ; 567: 101-10.
32. Ciriello J, Roder S. GABAergic effects on the depressor responses elicited by stimulation of central nucleus of the amygdala. Am J Physiol 1999; 276: H242-7.
33. Hasséssian H, Prat A, De Champlain J, Couture R. Regulation of cardiovascular sympathetic neurons by substance P and gamma-aminobutyric acid in the rat spinal cord. Eur J Pharmacol 1991; 202: 51-60.
34. Hatam M, Nasimi N. The role of GABA A receptors in the bed nucleus stria terminalis, effects on cardiovascular regulation. Exp Brain Res. In press 2008.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

The Role of Estrogen on Cardiovascular Response Due to GABA and Glutamate Receptors in Rostral Ventromedial Medulla in Ovarictomized Rats

Hatam,M[1] and Ganjkhani M[2].

[1]Department of Physiology, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar-Abbas, I.R.Iran
[2]Department of Physiology and Pharmacology , Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, I.R.Iran
e-mail: mhatam@hums.ac.ir

Abstract

Introduction: The Rostral Ventromedial Medulla (RVMM) is one of the nuclei controlling cardiovascular system. This study was performed to delermine the effects of 17β-estradiol (E), on the GABA and Glutamate cardiovascular responses of RVMM of female rats. Material and methods: Experiments were performed on 40 anaesthetized and paralyzed rats, divided into two groups of ovarictomized (OVX) and ovarictomized-estrogen treated (OVX+E) rats. Drugs (50 nl) bicuculline methiodide (BMI) an antagonist GABAA receptor (1 mM), phaclophen an antagonist GABAB receptor (5mM), and kynurenic acid a nonselective antagonist glutamate receptors (5 mM), were microinjected by micropipette into the RVMM using stereotaxic system. Blood pressure and heart rate were recorded before and throughout each experiment. The means of maximum changes of mean arterial pressure and heart rate were compared between groups of OVX and OVX+E and saline using ANOVA. Results: In the OVX+E group, estrogen decreased the mean arterial blood pressure ($P<0.05$) and heart rate ($P<0.001$) compared to those of OVX group. Microinjection of BMI resulted in an increase of heart rate (HR) with no significant effect on the blood pressure (BP) in both OVX and OVX+E, but the increase of HR was significantly higher than in the OVX+E group ($p<0.05$). Microinjection of phaclophen and kynurenic acid had no significant effect on HR and BP in either the OVX or the OVX+E group; not did microinjection of saline have any significant effects on HR and BP. Conclusion: The present data suggest that estrogen decreased the mean arterial blood pressure and heart rate, and in the RVMM of female rats augments the inhibitory effect of the GABAergic system on the heart rate via the GABAA receptors.

Key words: The rostral ventromedial medulla, Estrogen, GABA, Glutamate, Blood pressure, Heart rate

Archive of SID

www.SID.ir