

تأثیر لاموتریزین بر تغییرات بیوشیمیایی و رفتاری ناشی از استرس در الگوی جانوری

دکتر جمال شمس*، دکتر شاهرخ سردار پورگودرزی**، دکتر محمد اربابی***، دکتر محمد تقی یاسمی****

چکیده

مقدمه: این پژوهش با هدف بررسی تأثیر لاموتریزین در پیش‌گیری از تغییرات رفتاری و بیوشیمیایی ناشی از استرس در یک الگوی جانوری اختلال پس از استرس ضربه‌ای انجام شده است.

مواد و روش کار: ۱۹ موش پس از رویارویی با جریان الکتریسیته به‌عنوان عامل استرس‌زا در دو گروه آزمایش و گواه قرار گرفتند. تغییرات رفتاری در دستگاه ماز مرتفع در ۲۴ ساعت، هفته سوم و هفته ششم و کورتیزول پلاسما نیز به‌عنوان نشانه‌ای از تغییرات بیوشیمیایی، در هفته هفتم پس از استرس اندازه‌گیری شد. یک دوز خوراکی از لاموتریزین یک ساعت پس از رویارویی با استرس به گروه آزمایش و نرمال‌سالین به گروه گواه داده شد. داده‌ها به کمک آزمون‌های آماری t ، t مزدوج و اندازه‌گیری‌های مکرر تحلیل شدند.

یافته‌ها: رفتار ناشی از اضطراب در گروه آزمایش کمتر از گروه گواه و تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود. هم‌چنین سطح سرمی کورتیزول موش‌های گروه آزمایش در هفته هفتم به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه گواه بود. بین گروه‌ها از نظر تغییرات رفتاری در ۲۴ ساعت اول و هفته سوم تفاوتی دیده نشد.

نتیجه‌گیری: لاموتریزین از تغییرات رفتاری و بیوشیمیایی ناشی از استرس پیش‌گیری می‌کند.

کلیدواژه: اختلال پس از استرس ضربه‌ای، استرس، لاموتریزین، الگوی جانوری

مقدمه

که استرس موجب تغییرات محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-

آدرنال و تغییرات رفتاری می‌گردد. استرس می‌تواند به‌صورت بررسی‌های آزمایشگاهی بر روی جانوران نشان داده‌اند

* روانپزشک، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. تهران، ولنجک، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات علوم اعصاب.

E-mail: J_shams@yahoo.com

فاکس: ۲۲۴۲۲۶۵۲ (نویسنده مسئول).

** روانپزشک، استادیار دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی.

*** روانپزشک، استادیار مرکز تحقیقات روانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران.

**** روانپزشک، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی.

دسترسی داشتند. ۲۰ موش پس از روبروشدن با استرس، وارد بررسی شدند که یکی نیز در طی بررسی تلف شد. ضربه الکتریکی به عنوان فشار روانی به کار گرفته شد (پاینوس و همکاران، ۱۹۹۶). روبروشدن با استرس در دستگاه شاتل باکس^{۲۶} انجام شد. این دستگاه دارای دو بخش روشن و تاریک است که به کمک در گیوتینی از هم جدا شده‌اند. جانور در بخش شفاف دستگاه در حالی که چراغ آن روشن بود قرار می‌گرفت. پس از ۱۰ ثانیه در گیوتین باز شده، جانور وارد اتاقک تاریک می‌شد. این تغییر موقعیت به علت گرایش ذاتی جوندگان به محیط‌های تاریک رخ می‌دهد. پس از بسته شدن در گیوتینی، ضربه الکتریکی به مدت ۱۰ ثانیه با شدت دو میلی آمپر و فرکانس ۵۰ هرتز برقرار می‌گردید. همه موش‌ها ۲۴ ساعت پیش از شوک از غذا محروم می‌شدند. این عمل به منظور خالی شدن معده برای گاوآژ دارو انجام می‌شد. موش‌ها به تصادف به دو دسته آزمایش و گواه تقسیم شده، به گروه آزمایش لاموتریژین و به گروه گواه نرمال‌سالین گاوآژ شد. داروی لاموتریژین به صورت قرص‌هایی که در آب آزاد می‌شوند^{۲۷} از شرکت گلاکسو اسمیت کلاین^{۲۸} تهیه شد. در روز آزمون دارو در نرمال‌سالین حل و با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و با حجم ۰/۳ سی‌سی به حیوان‌های گروه آزمایش گاوآژ شد. برای گروه گواه نیز نرمال‌سالین با حجم ۰/۳ سی‌سی گاوآژ شد. گاوآژ دارو و نرمال‌سالین در طی یک ساعت پس از استرس (ساعت ۹ صبح) انجام می‌شد. در روش القای استرس، برای شباهت بیشتر الگوی جانوری با اختلال پس از استرس ضربه‌ای در انسان، هر هفته موش‌ها با یادآوری استرس روبرو می‌شدند. برای این منظور هر هفته تا هفته ششم موش‌ها برای ۶۰ ثانیه در بخش شفاف دستگاه شاتل باکس در حالی که چراغ آن روشن بود قرار می‌گرفتند. در این هنگام در گیوتینی

ضربه الکتریکی، استرس‌های شیمیایی و رویارویی با جانوران وحشی خطرناک باشد (آدامک^۱، بورتن^۲، شلو^۳ و بوگل^۴، ۱۹۹۰؛ پاینوس^۵، ریتزمان^۶، اشتینبری^۷، ژئونجیان^۸ و پرسکارو^۹، ۱۹۹۶؛ اتنولر^{۱۰}، ناتلسون^{۱۱}، پیتمن^{۱۲} و دراستال^{۱۳}، ۱۹۸۹).

بررسی‌ها نشان داده‌اند که LTP^{۱۴} و تغییرات رفتاری، وابسته به گیرنده‌های گلو تاماتریژیک NMDA^{۱۵} بوده، با بازدارنده‌ها می‌توان از این تغییرات پیش‌گیری کرد (آدامک، ۱۹۹۷). مک‌اون^{۱۶} (۲۰۰۲) نشان داد که به دنبال استرس، تغییراتی به صورت آتروفی دندریتی در هیپوکامپ و سایر مراکز مغز پدید می‌آید که این تغییرات نتیجه آزادشدن گلو تامات و تحریک گیرنده‌های NMDA است.

اختلال پس از استرس ضربه‌ای^{۱۷} اختلالی مقاوم به درمان است که پس از رویارویی با استرس در انسان پدید می‌آید. از فرضیه‌های مربوط به سبب‌شناسی این اختلال، برانگیختگی در سیستم لیمبیک می‌باشد. این فرض پایه کاربرد داروهای ضد تشنج در درمان این اختلال است که با موفقیت نیز همراه بوده است (برلنت^{۱۸} و وان کامن^{۱۹}، ۲۰۰۲). از فرضیه‌های دیگر در زمینه این اختلال، نقش محوری خاطرات هیجانی دایمی پس از رویارویی با استرس می‌باشد که شکل‌گیری این اختلال نیز وابسته به ایجاد LTP و تحریک گیرنده‌های گلو تاماتریژیک و گیرنده NMDA است (کلک^{۲۰}، ۱۹۹۴).

لاموتریژین یک داروی ضد برانگیزش^{۲۱} می‌باشد که با مهار گیرنده‌های سدیمی موجب توقف آزادشدن گلو تامات می‌گردد (کوهن^{۲۲}، بنجامین^{۲۳}، کاپلان^{۲۴} و کوتلر^{۲۵}، ۲۰۰۰). با توجه به نقش گلو تامات و برانگیختگی در سبب‌شناسی اختلال پس از استرس ضربه‌ای، این پژوهش با هدف بررسی نقش لاموتریژین در پیش‌گیری از بروز این اختلال در جانوران پس از رویارویی با استرس انجام شده است.

مواد و روش کار

این بررسی به صورت یک پژوهش آزمایشی و بررسی بر روی موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی (سوری) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند، انجام شد. موش‌ها در آغاز بررسی ۲۵-۲۰ گرم وزن داشتند. همه آنها دو هفته پیش از آغاز بررسی برای خوگیری و پس از آن تا پایان بررسی در جای ویژه نگهداری جانوران آزمایشگاهی نگهداری شدند. هر پنج موش در یک قفس، ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی به سر برده، به آب و غذای کافی

1- Adamec	2- Burton
3- Shallow	4- Budgell
5- Pynoos	6- Ritzmann
7- Steinbery	8- Geonjian
9- Presecaru	10- Ottenweller
11- Natelson	12- Pitman
13- Drastal	14- long-term potentiation
15- N-Methyl-D-Aspartate	16- McEwen
17- posttraumatic stress disorder	
18- Berlant	19- Van Kammen
20- Kolk	21- Antikindling
22- Cohen	23- Benjamin
24- Kaplan	25- Kotler
26- shuttle box	27- dispersible
28- Glaxo Smith Klein	

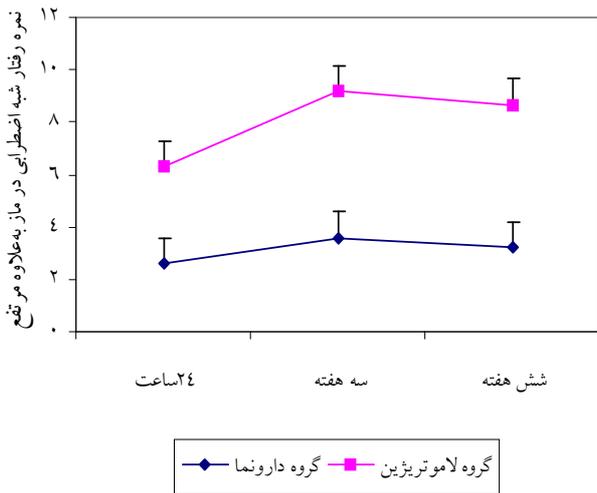
جدول ۱- میانگین رفتار شبه اضطرابی در "ماز به علاوه مرتفع" و کورتیزول در گروه‌ها

سطح کورتیزول پلازما*	رفتار شبه اضطرابی در ماز به علاوه مرتفع		
	۲۴ ساعت	۳ هفته	۶ هفته
میانگین (انحراف معیار)	میانگین (انحراف معیار)	میانگین (انحراف معیار)	میانگین (انحراف معیار)
گروه‌ها			
لاموتریزین	۳/۷۸ (۱/۶۴)	۵/۵۶ (۱/۵)	۵/۴۴ (۱/۳۳)
دارونما	۲/۶ (۱/۸۹)	۳/۶ (۱/۴۳)	۴/۲ (۲/۱۹)

* نانوگرم بر میلی‌لیتر

کورتیزول پلازما در هفته هفتم اندازه‌گیری شد (در پایان بررسی). میانگین سطح کورتیزول پلازما در گروه دریافت‌کننده لاموتریزین از گروه گواه کمتر بود.

میانگین سطح پلاسمایی کورتیزول در گروه دریافت‌کننده لاموتریزین $4/20 \pm 1/30$ و در گروه گواه $6/32 \pm 2/19$ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود که آزمون t تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه نشان داد ($p < 0/05$, $df = 14/86$, $t = 2/58$).



نمودار ۱- تغییرات رفتار شبه اضطرابی در طول زمان، در دو گروه لاموتریزین و دارونما

بسته می‌شد و حیوان نمی‌توانست وارد بخش تاریک شود (پاینوس و همکاران، ۱۹۹۶). برای ارزیابی رفتاری، موش‌ها در موقعیت اضطراب‌آور قرار می‌گرفتند. برای این منظور دستگاه "ماز به علاوه مرتفع" به کار گرفته شد. این دستگاه از جنس پلکسی گلس^۲ بوده، دارای چهار بازوی متقاطع به شکل به علاوه می‌باشد که روی پایه‌ای قرار گرفته‌اند. بازوهای روبرو به هم شبیه بوده، دو بازو تاریک با انتهای باز و دوبازو شفاف با انتهای بسته می‌باشد. ابعاد هر بازو $15 \times 5 \times 30$ سانتی‌متر، محل تلاقی بازوها 5×5 سانتی‌متر و ارتفاع دستگاه از سطح زیرین 38 سانتی‌متر است. موش‌ها از یک انتهای باز وارد دستگاه شده، پس از این که از 10 سانتی‌متر ابتدای بازو می‌گذشتند، سه دقیقه زمان گرفته می‌شد. در این مدت سه دقیقه، شمار داخل شدن‌های موش به بازوهای باز یادداشت می‌شد (همان‌جا). این رفتار موش‌ها نشانگر ارزیابی خطر^۳ بوده که بر اثر اضطراب کاهش می‌یابد (آدامک و همکاران، ۱۹۹۰).

ملاک ورود، قرار گرفتن هر دو دست داخل بازو در نظر گرفته می‌شد. اطلاعات به صورت شمار ورود به این بازوها یادداشت می‌شد. ارزیابی رفتاری در اتاق نیمه تاریک، در سه مقطع زمانی 24 ساعت، هفته سوم و هفته ششم پس از القای استرس انجام می‌شد (پاینوس و همکاران، ۱۹۹۶). در هفته هفتم خونگیری با استفاده از گیوتین انجام می‌شد.

اندازه‌گیری سطح سرمی کورتیزول به روش رادیوایمونواسی^۴ در آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد. برای تحلیل داده‌ها آزمون آماری t ، t مزدوج و اندازه‌گیری‌های مکرر به کار برده شد.

یافته‌ها

پس از شوک الکتریکی، از 20 سر موش مورد بررسی، 10 سر در گروه گواه و 10 سر در گروه آزمایش جای گرفتند که یک سر از این گروه در طی آزمون تلف شد و از بررسی کنار رفت.

یافته‌های به دست آمده از بررسی رفتارهای شبه اضطرابی در "ماز به علاوه مرتفع" در جدول ۱ نشان داده شده است. تغییرات این رفتار در طول زمان نیز در نمودار ۱ آمده است.

آزمون تحلیل واریانس تفاوت معنی‌داری را در رفتارهای شبه اضطرابی بین دو گروه نشان داد ($p < 0/01$, $df = 1$, $F = 22/40$). تفاوت غیرمعنی‌دار در رفتارهای شبه اضطرابی در طی زمان ثابت ماند.

1- elevated plus maze
2- plexiglass
3- risk assessment
4- radioimmunoassay

بحث

به دنبال رویارویی با محرک استرس زای تحریک الکتریکی است، که لاموتریزین توانسته است از بروز این تغییرات در گروه آزمایش پیش گیری کند. از این رو این بررسی می تواند هم چون بررسی پاینوس و همکاران (۱۹۹۶) نشانگر سودمندی روش یاد شده برای الگوی جانوری اختلال استرس پس از ضربه باشد.

بررسی حاضر دارای کاستی هایی است که پیشنهاد می شود در بررسی های آینده از میان برداشته شوند. در این زمینه می توان به بهره گیری از یک دوز دارو و تجویز خوراکی دارو اشاره کرد که البته علت آن قابل حل نبودن لاموتریزین در حلال های معمول بود.

بر پایه یافته های این بررسی می توان گفت که به کمک لاموتریزین شاید بتوان از شکل گیری علائم اضطرابی و خلقی و تغییرات زیست-شیمیایی به دنبال استرس در انسان ها نیز پیش گیری نمود و در این راستا، ارزیابی این تأثیر در انسان پیشنهاد می شود.

سپاسگزاری

از خانم دکتر فرشته معتمدی ریاست مرکز تحقیقات علوم اعصاب به دلیل همکاری های علمی و پشتیبانی مالی و از آقای دکتر مهدی هدایتی به دلیل همکاری در زمینه اندازه گیری های بیوشیمیایی صمیمانه سپاسگزاری می شود.

دریافت مقاله: ۱۳۸۳/۶/۸؛ دریافت نسخه نهایی: ۱۳۸۴/۱/۲۸؛

پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۲/۷

منابع

- Adamec, R. (1997). Transmitter systems involved in neural plasticity underlying increased anxiety and defense-implications for understanding anxiety following traumatic stress. *Neuroscience and Behavioral Review*, 21, 755-765.
- Adamec, R. E., Burton, P., Shallow, T. & Budgell, J. (1990). NMDA receptors mediate lasting increases in anxiety-like behavior produced by the stress of predator exposure-implications for anxiety associated with posttraumatic stress disorder. *Physiology & Behavior*, 65, 723-737.

تأثیر برخی داروها در پیش گیری از ایجاد علائم اختلال پس از استرس ضربه ای در جانوران آزمایشگاهی بررسی شده است (ساوامورا^۱ و همکاران، ۲۰۰۴؛ شینبا^۲، شینوزاکی^۳ و موگیشیما^۴، ۲۰۰۱؛ سمیرخان^۵، ۲۰۰۴). در بررسی حاضر، اثر داروی لاموتریزین بر روی رفتارهای شبه اضطرابی و کورتیزول سرم بررسی شد. در این بررسی تجویز دارو یک ساعت پس از رویارویی با محرک استرس را انجام شد. در ارزیابی رفتاری اولیه در ۲۴ ساعت، تفاوت معنی داری بین دو گروه دیده نشد. در هفته سوم این تفاوت بیشتر شد و در هفته ششم تفاوت معنی دار آماری بین دو گروه پدید آمد. این یافته ها گویای تأثیر لاموتریزین در درازمدت و پیش گیری از پایداری رفتارهای شبه اضطرابی می باشد. یافته دیگر، تفاوت معنی دار سطح سرمی کورتیزول در هفته هفتم می باشد؛ به طوری که سطح سرمی کورتیزول گروه آزمایش به طور معنی داری کم تر از سطح سرمی کورتیزول گروه گواه بود. به نظر می رسد این تأثیر به دنبال کاهش گلو تامات و پیش گیری از تحریک گیرنده های NMDA و مهار فرایند LTP در مسیرهای وایران دستگاه لیمبیک ایجاد شده است (آدامک و همکاران، ۱۹۹۰).

تا کنون لاموتریزین به عنوان داروی پیش گیری کننده از تغییرات رفتار شبه اضطرابی در الگوی جانوری اختلال استرس پس از ضربه به کار نرفته است. یافته های بررسی حاضر با یافته های بررسی هایی که از MK 801 (مهارکننده گیرنده های NMDA) پس از رویارویی با استرس بهره گرفته و کاهش در رفتارهای شبه اضطرابی را در الگوی جانوری موش صحرائی گزارش نکرده بودند (آدامک و همکاران، ۱۹۹۰) هم سو نیست.

در این بررسی لاموتریزین توانسته است رفتارهای شبه اضطرابی را کاهش دهد. در بررسی آدامک و همکاران (۱۹۹۰) نیز به کارگیری MK 801 نیم ساعت پیش از رویارویی با استرس توانست رفتارهای شبه اضطرابی را کاهش دهد. این یافته می تواند نشان دهنده برتری لاموتریزین نسبت به MK 801 باشد که توانایی اثر پیش گیری کننده از رفتارهای شبه اضطرابی را در صورت بهره گیری از آن پس از رویارویی با استرس دارد.

از سوی دیگر بررسی حاضر گویای تغییرات رفتار شبه اضطرابی در الگوی جانوری و نیز تغییر سطح کورتیزول

1- Sawamura
3- Shinozaki
5- Samir Khan

2- Shinba
4- Mugishima

- Berlant, J. & Van Kammen, D. P. (2002). Open-Label topiramate as primary or adjunctive therapy in chronic civilian posttraumatic stress disorder: A preliminary report. *Journal of Clinical Psychiatry*, 63, 15-20.
- Cohen, H., Benjamin, J., Kaplan, Z. & Kotler, M. (2000). Administration of high-dose ketoconazole, an inhibitor of steroid synthesis, prevents posttraumatic anxiety in an animal model. *European Neuro-psychopharmacology*, 10, 429-435.
- Kolk, V. (1994). The body keeps the score: Memory, the evolving psychobiology of posttraumatic stress disorder. *Harvard Review Psychiatry*, 1, 253-265.
- McEwen, B. S. (2002). The neurobiology and neuro-endocrinology of stress-implications for posttraumatic stress disorder from a basic science perspective. *Psychiatric Clinics of North America*, 25, 469-494.
- Otteweller, J. E., Natelson, B. H., Pitman D. L., & Drastal, S. D. (1989). Adreno-cortical and behavioral responses to repeated stressors: Toward an animal model of chronic stress and stress related mental illness. *Biological Psychiatry*, 26, 829-841.
- Pynoos, R. S., Ritzmann R. F., Steinberg, A. M., Geonjian A., & Presecaru, I. (1996). A behavioral animal model of posttraumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders. *Biological Psychiatry*, 39, 129-134.
- Samir Khan (2004). Israel liberzon, topiramate attenuates exaggerated acoustic startle in an animal model of PTSD. *Psychopharmacology*, 172, 225-229.
- Sawamura, T., Shimizu, K., Nibuya, M., Wakizono, T., Suzuki, G., Tsunoda, T., Takahashi, Y., & Nomura, S. (2004). Effect of paroxetine on a model of posttraumatic stress disorder in rats. *Neuroscience Letters*, 357, 37-40.
- Shinba, T., Shinozaki, T., & Mugishima, G. (2001). Clonidine immediately after immobilization stress prevents long-lasting locomotion reduction in the rat progress. *Neuro-Psychopharmacology and Biological psychiatry*, 25, 1629-1640.