Archive of SID
Pharmaceutical Sciences,2010,Vol.16, No 2, Page 107 -115 علوم داروئی، ۱۳۸۹ دوره ۱۶، شماره ۲، ۱۱۵- ۱۰۷

تاثیرات تیمار طولانی مدت پری ناتال (Perinatal) بوپروپیون بر تقویت طولانی مدت در برشهای زنده هیپوکامپ موشهای تازه تولد یافته آزمایشگاهی

فیروز قادری پاکدل[۲]، صمد زارع[۱] ، سمیه حیثیت طلب*[۱]، مینا مختاری هشتجین[۱]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، تبریز.[۲]گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ارومیه، ارومیه ، تبریز

تاریخ دریافت : ۸۸/۹/۳۰ ، تاریخ پذیرش : ۸۹/۲/۸

Effects of Long Term Perinatal Treatment of Bupropion on LTP in Neonatal Rat Hippocampus Slices

Ghaderi Pakdel F [2], Zare S[1], Heysieattalab S*[1], Mokhtari hashtjin M [1]

[1] Department of Biology, Faculty of Science, Uremia University, Uremia, Iran. [2] Departments of Physiology, Faculty of Medicine, Uremia University of Medical Science, Uremia, Iran.

Received: 21 Dec. 2009, Accepted: 28 Apr. 2010

Objectives: The perinatal effects of antidepressants on the central nervous system (CNS) due to its common usage are important issues in neuroscience researches. Bupropion is an atypical antidepressant that is widely used for smoking cessation. The study of synaptic effects of bupropion can reveal its mechanism for nicotine dependence cessation. In this study the effects of long term administration bupropion during perinatal period on synaptic plasticity (Long Term Potentiating or LTP) in neonatal hippocampus slices were evaluated. **Methods:** Hippocampus slices from 19-25 day old rat pups by using standard brain slices techniques were prepared. Slices preparation were accomplished from three groups, control, normal saline and bupropion-treated (40 mg/Kg, i.p) according to maternal perinatal treatments. To produce LTP, the PB stimulation paradigm was applied and evoked responses were recorded from strata pyramidal of area CA1 following stimulation of Schaffer collaterals. **Results:** Analysis of data showed that LTP induction parameter (PS amplitude) between normal saline and control groups had no significant difference, however there were significant difference between control and treated groups $p<0.05$, as well as normal saline and treated groups $p<0.01$. **Conclusion:** Long term perinatal administration of bupropion decreased induction and maintenance of LTP in strata pyramidal of area CA1. It seems that the loss of LTP maintenance in bupropion-treated animals is more likely the result of the disruption of cellular processes that they contribute following LTP induction.

***Keywords**: Bupropion, Hippocampus Slice, Population Spike, Rat, LTP.*

زمینه و هدف: بررسی تاثیرات داروهای ضد افسردگی در دوران قبل و پس از تولد بر ساختارهای سیستم عصبی بدلیل استفاده فراوان آنها اهمیت موضوعی در تحقیقات علوم اعصاب دارد. بوپروپیون یک داروی ضد افسردگی است ، که بطور گسترده بعنوان داروی ترک دهنده سیگار استفاده می شود. مطالعه اثرات سیناپسی این دارو می تواند مکانیسم اثر آن به عنوان عامل ترک دهنده وابستگی به سیگار را آشکار نماید. در مطالعه حاضر اثرات بکارگیری طولانی مدت بوپروپیون در دوران پیش و پس از تولد بر شکل پذیری سیناپسی از نوع تقویت طولانی مدت (Long Term Potentiating) در مقاطع هیپوکامپ نوزادان تازه تولد یافته ارزیابی شده است. روشها: اسلایسها از هیپوکامپ نوزادان ۱۹ تا۲۵ روزه موشهای بزرگ سفید آزمایشگاهی مطابق تکنیکهای استاندارد تهیه برشهای مغزی از گروه های کنترل، نرمال سالین و تحت تیمار پیش و پس از تولد بوپروپیون (40 mg/Kg) تهیه شدند. برای ایجاد LTP الگوی تحریکیPB بکار برده شد و پاسخهای برانگیخته سیناپس های strata pyramidal ناحیه CA1 هیپوکامپ به دنبال تحریک شاخه های شافر(Schaffer collaterals) ثبت شدند. یافته ها: آنالیز داده های حاصل نشان داد که پارامتر القاء LTP (دامنه PS) بین گروه های کنترل و نرمال سالین اختلاف معنی داری نداشته ولی بین گروههای کنترل و تیمار با $p<۰/۰۱$ و گروههای تیمار و نرمال سالین با $p<۰/۰۵$ اختلاف آماری معنی داری دارد. نتیجه گیری: تجویز طولانی مدت بوپروپیون در دوران قبل و پس از تولد میزان تقویت طولانی مدت القاء شده و دوام آن را در ناحیه CA1 هیپوکامپ کاهش می دهد. بنظر می رسد که فقدان دوام تقویت طولانی مدت در حیوانات تیمار شده با بوپروپیون اغلب نتیجه بهم ریختگی پروسه های سلولی که در ادامه القا LTP نقش دارند است.

***واژ ه های کلیدی:** بوپروپیون، مقاطع هیپوکامپ، اسپایک تجمعی، موش بزرگ سفید آزمایشگاهی.*

*نویسنده مسئول: سمیه حیثیت طلب، کارشناس ارشد ، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران، تلفن ۰۹۱۴۱۴۸۳۲۹۹، نمابر: ۳۴۴۰۱۹۷- ۰۴۴۱

** Correspondening Author: Soomaayeh Heysieat-talab, Department of Biology, Faculty of Science, Uremia University, Uremia, Iran, Tel: +98-09141483299; Fax: +98- 441-3440197, E-mails: somayye_ hisittlab@yahoo.com, heysieattalab@gmail.com.*

www.SID.ir

۱- مقدمه

بوپروپیون[1] برای اولین بار به عنوان داروی ضد افسردگی ساخته و طبقه بندی شد. این دارو اولین داروی غیر نیکوتینی می باشد که توسط FDA[2] در سال ۱۹۹۷ بعنوان داروی ترک دهنده سیگار تایید شده است (۱). مطالعات کلینیکالی نشان داده است که برخی از افراد افسرده‌ایی که سیگاری بودند و این دارو را مصرف می‌کردند براحتی می توانستند سیگار را ترک نمایند (۳،۲). با توجه به این یافته، امروزه این دارو کمتر برای درمان افسردگی تجویز می شود و عموماً به عنوان داروی ترک سیگار استفاده می شود (۴). بوپروپیون به عنوان آنتاگونیست رسپتورهای نیکوتینی استیل کولین nAchR نوع $a_3\beta$, $a_3\beta_2$ در استریاتوم و هیپوکامپ موشهای بزرگ سفید آزمایشگاهی عمل می کند. همچنین عملکرد مونوآمینها را از طریق عمل خود بر روی انواع رسپتورهای استیل کولینی تغییر می دهد. نتایج مطالعات Miller و همکاران در سال ۲۰۰۲ اثر بوپروپیون روی رهایش دوپامین (DA) و نوراپینفرین (NE) در اسلایس‌های زنده مغزی از ناحیه استریاتوم و هیپوکامپ نشان داده که این ترکیب قادر است رهایش تحریک شده دوپامین توسط نیکوتین را مهار کند ولی بر روی رهایش نوراپی نفرین تاثیری ندارد. این دارو همچنین می تواند عملکرد های ناقلین سیناپسی دوپامین و نور آدرنالین را مهار کند. مجموع مهار ناقلین DA,NE و خاصیت آنتاگونیستی nAChRs ممکن است در کارآمدی کلینیکالی بوپروپیون به عنوان داروی موثر بر ترک سیگار نقش داشته باشد (۵،۶). مشاهدات بالینی وجود برخی عوارض جانبی از جمله اختلالات یادگیری را در افرادی که این دارو را مصرف کرده اند تایید نموده است (۷). امروزه وابستگی به مواد به عنوان یک ناهنجاری روانی طرفداری نداشته و آنرا به عنوان یک بیماری پیکری می شناسند. در این صورت تغییرات پاتولوژیک به عنوان عامل ایجاد رفتارهای ناهنجار قلمداد شده و باید بتوان به دنبال علل جسمانی برای این نوع وابستگیها گشت (۸). به نظر می رسد می توان ارتباط خوبی بین اساس سلولی- مولکولی یادگیری و ساز و کار وابستگی به مواد وابسته کننده مثل نیکوتین پیدا نمود (۹). در مصرف طولانی مدت سیگار سازشهای عصبی اتفاق افتاده و تغییرات طولانی مدت سیناپسی به رفتارهای یادگیری منجر می شود (۱۰). تقویت طولانی مدت بعنوان یک مدل شکل پذیری سیناپسی در فرایندهای یادگیری و حافظه پذیرفته شده است (۱۲ ،۱۱). بنظر می رسد اگر ماده ایی بتواند بروز یا شیوع وابستگی به مواد را تغییر دهد بهترین مکان برای این تغییرات سیناپس ها هستند. بنابراین فرضیه پژوهش این بود که بوپروپیون فرآیند تقویت طولانی مدت را در سیناپس‌ها بهم می زند و اثرات ترک سیگار خود را اعمال می نماید. از طرفی هیپوکامپ در رفتار های وابستگی به مواد دارویی نقش مهمی دارد (۱۲). به نظر می رسد بررسی اثرات بوپروپیون بر روی سیناپس های هیپوکامپ بتواند بعنوان شاخصی از عملکرد این دارو در سایر سیناپسها باشد.

مطالعات پیشین نشان می دهد که پاره ای از آنتی دپرسانتها می توانند از طریق تغییر پارامترهای Long Term Potentiation (LTP) بر شکل پذیری سیناپسی تاثیر بگذارند. داروهای Imipramine , Desipramine و Amitriptyline بصورت وابسته به غلظت ایجاد تقویت طولانی مدت را مهار می کنند (۱۳). گزارش شده است که تیمار با Fluoxetine (مهار کننده انتخابی بازجذب سروتونین) میتواند مقدار LTP ایجاد شده در ناحیه شکنج دندانه ای هیپوکامپ موشهای بزرگ سفید آزمایشگاهی را کاهش دهد (۱۴). در مورد اثر داروی بوپروپیون روی LTP ناحیه هیپوکامپ موشهای بزرگ سفید آزمایشگاهی بصورت ثبت پتانسیل میدانی مطالعه ایی صورت نگرفته است. در مطالعه حاضر اثرات تجویز طولانی مدت بوپروپیون در دوران بارداری و شیرخواری بر شکل پذیری سیناپسی از نوع تقویت طولانی مدت در مقاطع هیپوکامپ تهیه شده از نوزادان تازه تولد یافته بصورت in vitro بررسی شده است.

۲- مواد و روشها

در این تحقیق نوزادان موش‌های بزرگ ماده سفید آزمایشگاهی نژاد ویستار (تهیه شده از بخش حیوانات آزمایشگاهی، انستیتو پاستور ایران) مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات باردار در طول آزمایش در شرایط مناسب دمایی (۱°C±۲۵) نگهداری شده و دوره تاریکی- روشنایی بصورت سیکل ۱۲ ساعته (۸ صبح تا ۸ شب) تنظیم شده بود. در طول آزمایش حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. سه گروه حیوانی شامل کنترل (موش های که در دوران بارداری و شیر دهی هیچ تیماری دریافت نمی کردند)، نرمال سالین (موشهای که در دوران بارداری و شیردهی نرمال سالین بصورت درون صفاقی دریافت می کردند) و گروه تیمار که در دوران بارداری و شیردهی داروی بوپروپیون (DiPharma Italy، اهدایی شرکت محترم

1- Bupropion

2 - Food and Drug Administration

www.SID.ir

داروسازی عبیدی) حل شده در سالین را بصورت درون صفاقی روزانه در دوز 40mg/kg و حجم 1ml / kg دریافت می کردند بود. بعد از تولد نوزادان نیز، تزریق بوپروپیون به مادران همچنان ادامه داشت. کلیه تزریقات بین ساعت های ۸-۱۰ صبح انجام شده است . نوزادان در محدوده سنی ۱۹ الی ۲۵ روزه با اتر بیهوش شده، سر آنها بسرعت جدا و با برداشتن استخوان جمجمه، مغز بطور کامل بیرون آورده می‌شد. مغز در محل شیار طولی نصف شده و یک نیمه دوباره به محلول اکسیژنه سرد منتقل می شد. نیمه مورد نظر طوری روی کاغذ صافی قرار می گرفت که سطح برش میانی آن (Midline) روی کاغذ صافی خوابیده باشد. یک برش با زاویه تقریبا ۱۵ درجه از خط وسط مغز از انتهای rostral به Lateral ventricle داده می شد (۱۵،۱۶). نیمه مغز از سمت برش داده شده بر روی پایه مخصوص دستگاه ویبروتوم توسط چسب فوری چسبانده شده و مقاطع با ضخامت بین ۴۰۰ الی ۴۵۰ میکرو متر و با استفاده از اسلایسر ارتعاشی[3] (مدل MA752، Campden Instruments, England) تهیه شد. از هر هیپوکامپ حدود ۳ تا ۴ برش مناسب با یک قطره چکان به Holding chamber که محتوی محلول نگهدارنده یا ACSF[4] که دایماً با مخلوط اکسیژن (۹۵٪) و دی اکسید کربن (۵٪) هوادهی می‌شد، منتقل شد. مقاطع تهیه شده در دمای اتاق (حدود ۲۵ °C) و به مدت یک ساعت انکوبه می‌شد. مایع ACSF بصورت روزانه تهیه شده و مقدار pH آن حین هوادهی در۷/۴-۷/۳ تنظیم گشته و میزان اسمولاریته آن ۵±۳۰۰ میلی اسمول بود. در صورتی که مقادیر pH و یا اسمولاریته دارای انحراف غیر قابل اصلاح بودند، از محلول جدید استفاده می‌شد. مقادیر نمکها و سایر ترکیبات استفاده شده در محلول ACSF به میلی مول بصورت زیر بود.

NaCl 125, KCl 2.5, MgCl2 1, CaCl2 2.5, Glucose 20, NaH2PO4 1, NaHCO3 25, (Merck Germany)

بـرای ثبت فعالیت‌های بـرانگیخته سیناپسی، یک یا دو نمونه اسلایـس بـه محفظه ثبت[5] (مدل745PID، Campden Instruments) منتقل شده و با مایع ACSF (درجه حرارت ۱±۳۲ °C ، میزان جریان حدود ۱ میلی‌لیتر در دقیقه) مشروب گردیدند. میکروالکترود ثبت از جنس شیشه بوروسیلیکات بوده و با استفاده از الکترودپولر Narishige PC10 تهیه می‌شد. میکروالکترودها با مایع ACSF پر شده و مقاومت الکترودهای استفاده شده در حدود ۱۰-۵ مگا اهم بود. الکترودهای ثبت در ناحیه CA1 و در قسمت Stratum Radiatum مستقر گردیدند. الکترود تحریکی شامل دو رشته تنگستن با پوشش تفلون بصورت تابیده برای تحریک دو قطبی و در ناحیه CA3 و در مجاورت آکسونهای مربوط به Schaffer Collateral مستقر گردید. تحریک اورتودرومیک با قرار دادن الکترود تحریکی در ناحیه مرزCA3/CA1 و بصورت دو قطبی با استفاده از محرک CFP 8173 (Bioscience, England) وارد گردید. مقدار تحریک طی بررسی دامنه تحریک- دامنه پاسخ (Input /output) و براساس تحریک لازم برای القاء ۵۰٪ حداکثر پاسخ بدست می‌آمد. برای تعیین حداکثر شیب fEPSP تحریکات با شدت ۵ و۱۰...تا۴۰ ولت به مدت ۰/۱ میلی ثانیه داده شد شدتی از تحریک که سبب بر انگیختن شیب EPSP با ۵۰٪ پاسخ حداکثر می گردید جهت تحریک استفاده شد . پس از رسم منحنی I/O در نهایت تحریک دارای ۰/۱ میلی ثانیه بازده زمانی و حدود ۱۵ ولت دامنه (۱۰۰Hz) بصورت کنترل شده به بافت وارد گردید. پاسخ‌های القاء شده از طریق پروب حاوی پیش‌آمپلی فایر تقویت شده و به سوی آمپلی فایر هدایت گشت. آمپلی فایر استفاده شده از نوع HEKA EPC10 (HEKA Electronic, Dr Schulze GmbH, Germany) بوده و بوسیله یک بورد PCI از نوع ITC 16 (ITC 16, Instrutech, Great Neck, NY, USA) به رایانه اتصال پیدا کرد. داده‌های حاصل از پاسخ‌های القایی در برنامه Patchmaster (HEKA Electronic, Dr Schulze GmbH, Germany, ver 2.3) روی کامپیوتر ذخیره می‌شد. داده‌های ذخیره شده بصورت Off-line و با استفاده از برنامه Fitmaster (HEKA Electronic, Dr Schulze GmbH, Germany, ver 2.3) مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گرفت. شرایط آزمایشگاهی برای تمام اسلایس‌ها بصورت کنترل شده و استاندارد بوده و عوامل مخدوش کننده تحت کنترل قرار داشتند. در صورت بروز هر گونه شرایط غیرقابل کنترل، نتایج آزمایش فوق در آنالیز داده‌ها وارد نمی‌گردید. همه داده های حاصل از این مطالعه در عرض ۱۰ ساعت بعد از برش سر حیوان جمع آوری شده است. از هر اسلایس فقط یک بار برای هر آزمایش القا LTP استفاده شده است. بعد از الکترود گذاری وقتی پاسخها به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه پایدار گشتند، ثبت آغاز می گردید. ابتدا در تمام گروه ها یک پاسخ پایه به مدت ۲۵ دقیقه گرفته می شد (پروتکل طوری تعریف شده بود که ۵ بار I/O قبل از القای LTP گرفته می شد). در این مطالعه به منظور القای تقویت

3 - Vibroslicer

4 - Artificial Cerebrospinal Fluid

5 - Slice Chamber

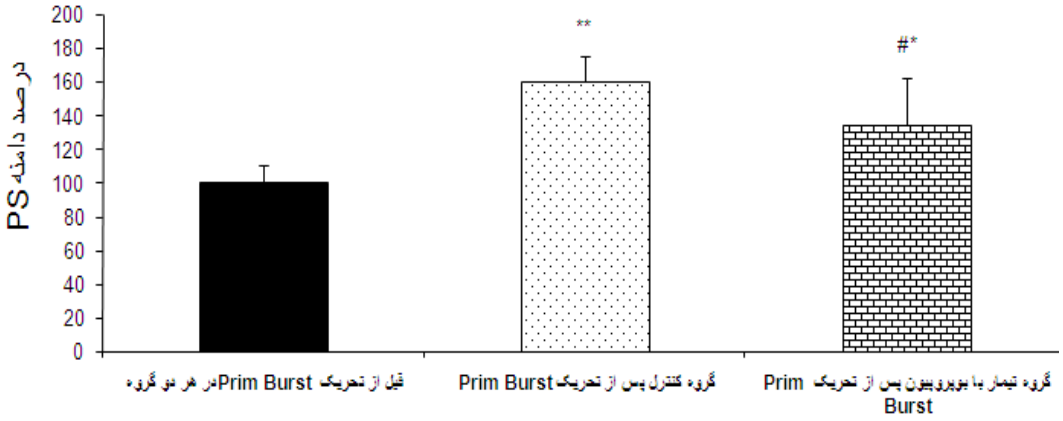
www.SID.ir

طولانی مدت از تحریک با الگوی Primed Burst استفاده شده است. تحریکات کزازی متشکل از ۳ تحریک PBs بود که هر کدام از یک پالس اولیه با فاصله ای ۱۷۰ میلی ثانیه بعد با مجموعه ای از ۴ پالس دنبال می شد (PBs interval = 10 s) . بعد از القای تحریک PB، روند تحریک و اخذ پاسخ شروع شده و در هر ۵ دقیقه یک تحریک و پاسخ مورد ثبت قرار می‌گرفت. دامنه PS به عنوان شاخصی برای اندازه گیری القای تقویت طولانی مدت استفاده شد. میانگین دامنه اسپایکهای تجمعی قبل از القا تحریک PBs ، ۱۰۰٪ در نظر گرفته می شد. افزایش هایی از دامنه اسپایکهای دسته تجمعی که بیش از ۲۰ درصد از میانگین دامنه قبل از تحریک بالاتر بوده و بیش از ۳۰ دقیقه دوام داشتند بعنوان اسلایسهایی که در آنها تقویت طولانی مدت القا شده است در نظر گرفته شدند. میزان دامنه PS پس از آنالیز در برنامه Fitmaster بصورت درصد محاسبه شده و در هر اسلایس مقادیر متوالی داده های بدست آمده بعد از القای LTP با استفاده از آزمون آماری Wilcoxon Matched Pairs Signed Rank Test مورد آنالیز قرار گرفته و در صورت معنی‌دار شدن تفاوت بین مقادیر پاسخ هر۵ دقیقه با میانگین قبل از القای LTP مشخص می گردید زمان شروع و خاتمه LTP القاء شده و نیز بروز القاء و عدم القاء نیز با این آزمون مشخص گردید. میانگین نقاط در بین اسلایسها با استفاده از آزمون آماری Correlated Paired T-test مورد آنالیز قرار گرفته و نقاط اختلاف در میانگین های بدست آمده مشخص می گردید. تفاوتهای درون و بین گروهها با استفاده از تست آماری ANOVA و بدنبال آن تست تعقیبی توکی مقایسه گردید. برنامه IGOR ver 6.3 (Wavemetrics Inc.USA) و GB-Satat ver 5.0 (Dynamic Microsystems, Inc) نیز برای آنالیز داده‌های حاصل مورد استفاده قرار گرفت.

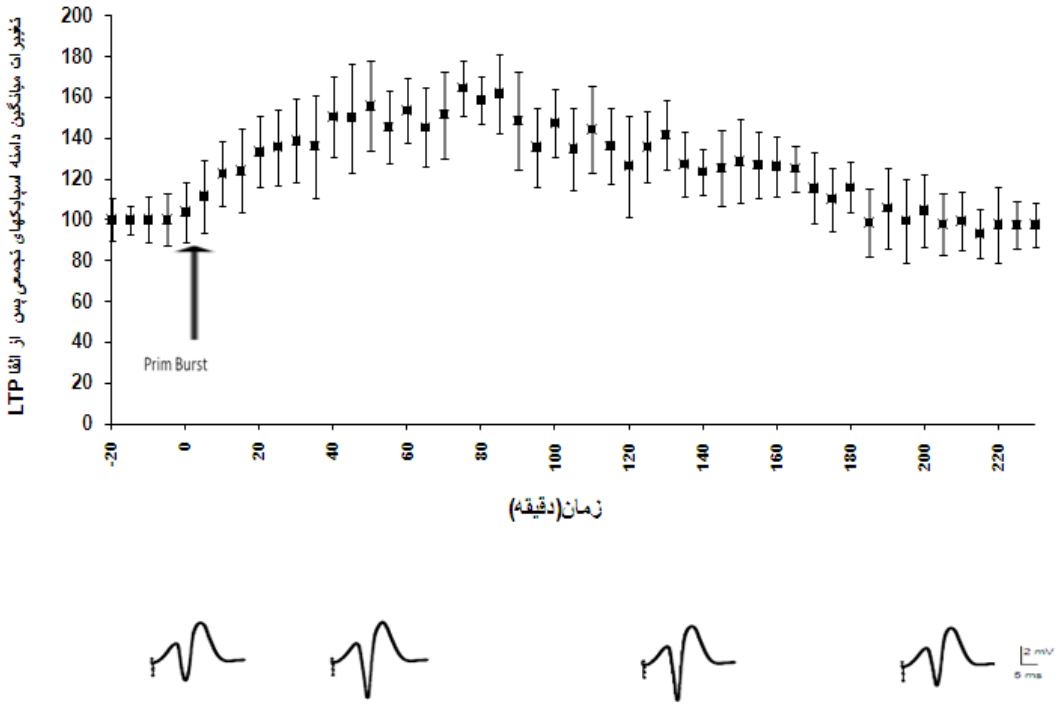
۳- نتایج

با استفاده از تست آماری ANOVA با آزمون تعقیبی توکی (Turkey) میانگین تغییرات در درون و بین گروه های کنترل، نرمال سالین و تیمار شده با بوپروپیون مقایسه گردید. نتایج حاصل از این مقایسه آماری نشان داد که با F =۱۱/۵ و درجه آزادی ۲ میزان اختلاف درون و بین گروهی با P < ۰/۰۱ معنی دار است. همچنین بین گروه های کنترل و نرمال سالین اختلاف معنی دار وجود نداشته ولی بین گروه های کنترل و تیمار با p<۰/۰۱ و بین گروه تیمار و نرمال سالین با p<۰/۰۵ اختلاف آماری معنی داری وجود دارد. از نظر میزان دامنه افزایش یافته در پاسخ های بدست آمده در LTP القاء شده آنالیز اطلاعات بدست آمده از هر سه گروه نشان داد که در گروه کنترل میزان افزایش دامنه PS در بعد از تحریک PB بطور متوسط ۱۵±۶۰ درصد نسبت به دامنه قبل از تحریک که ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده افزایش داشته است، در گروه نرمال سالین این مقدار برابر ۱۶±۵۵ درصد بوده در حالیکه در گروه تیمار با بوپروپیون، میزان افزایش دامنه مذکور بطور متوسط ۲۷/۵±۳۵ درصد بوده است. مقایسه آماری میزان افـزایش دامنه با استفاده از آزمون آماری Mann-Whitney U test نشان داد که میزان افزایش دامنه در گروه کنترل و نرمال سالین نسبت به گروه تیمار با p<۰/۰۱ بطور معنی داری بیشتر است در حالیکه بین دو گروه نرمال سالین و کنترل تفاوت معنی داری وجود ندارد (نمودار۱). از نظر فرکانس رخداد بروز LTP در ۳۵ اسلایس گروه کنترل تعداد ۳۰ اسلایس با مقادیر متفاوت بروز LTP را نشان داده اند. نمودار۲ تغییرات دامنه PS در ۳۵ اسلایس تهیه شده از هیپوکامپ موشهای گروه کنترل را نشان می دهد . در گروه نرمال سالین از ۱۲ اسلایس با ثبت مناسب ۱۰ اسلایس LTP را نشان داده و تنها ۲ اسلایس دچار LTP نگشتند . در حالیکه در گروه تحت تیمار از ۲۸ اسلایس مطالعه شده تنها ۱۲ اسلایس بروز LTP را با مقادیر متفاوت نشان داده اند. نمودار۳ تغییرات دامنه PS در ۲۸ اسلایس تهیه شده از هیپوکامپ موشهای گروه تحت تیمار را نشان می دهد. برای مقایسه تعداد اسلایسهای نشان دهنده LTP بین سه گروه از آزمون chi-squared test (X2)، برای بررسی تفاوت های مشاهدات تـعداد بروز LTP در بین گروهها و از تست Fisher Exact (GB-Stat) برای بیان اختلاف مشاهدات در آزمون Crosstab , X2 استفاده شده است. در نهایت مطالعات آماری مشخص نمود که از نظر فرکانس رخداد بروز LTP گروه تحت تیمار دارای تفاوت معنی دار آماری نسبت به دو گروه کنترل و نرمال سالین است (P <۰/۰۱) در حالیکه فرکانس رخداد آن در دو گروه کنترل و نرمال سالین تفاوت آماری معنی داری نداشته است (P =۰/۱۳۴). از نظر میانگین زمان بقاء LTP در اسلایس های گروه کنترل بطور متوسط ۱۵۰ دقیقه (۳۰±۱۵۰دقیقه)، در گروه نرمال سالین ۴۰±۱۶۰ دقیقه و در اسلایس های گروه تحت تیمار بطور متوسط ۱۲۰ دقیقه (۲۰±۱۲۰) است. آنالیز تفاوت بین زمان حضور LTP با استفاده از آزمون Separated variance t-test نشان داد که میزان زمان حضور LTP در گروه کنترل و سالین نسبت به گروه تیمار با p<۰/۰۱ تفاوت معنی داری دارد (نمودار۴).

www.SID.ir

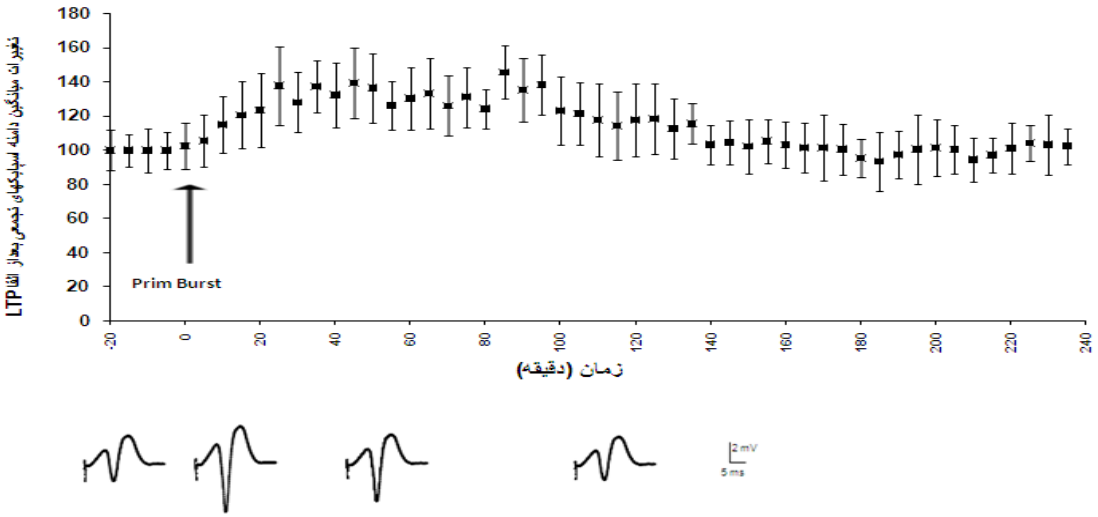


نمودار ۱. میزان تغییر دامنه اسپایکهای تجمعی در گروه های کنترل و تیمار با بوپروپیون بعد از تحریک prim Burst.
معنی داری در سطح کمتر از ۰/۰۱ نسبت به میانگین دامنه در هر گروه قبل از تحریک = **
معنی داری در سطح کمتر از ۰/۰۵ نسبت به میانگین دامنه در هر گروه قبل از تحریک = *
معنی داری در سطح کمتر از ۰/۰۵ نسبت میانگین دامنه به گروه کنترل بعد از تحریک = #

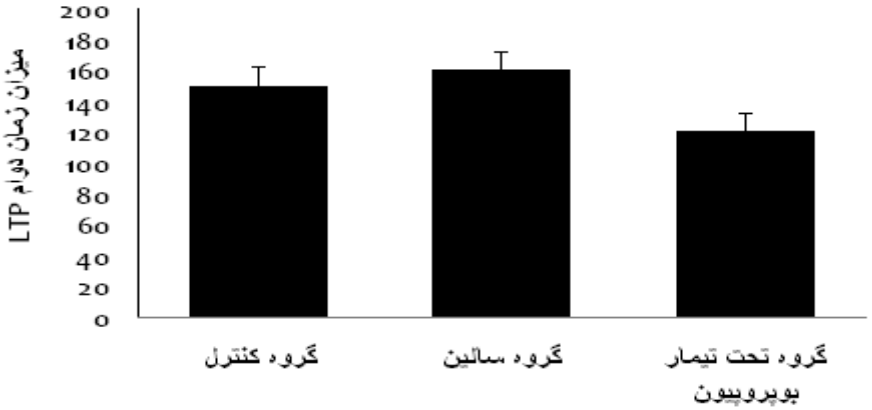


نمودار۲. تغییرات دامنه PS در پاسخ های ارایه شده در اسلایسهای هیپوکامپ موشهای گروه کنترل، تحریک BP در لحظه صفر آغازشده است ، بعد از تحریک کزازی PB دامنه PS در اسلایسها رو به افزایش نهاده است. نقاط ثبت بعد از تحریک نسبت به قبل از تحریک از لحاظ آماری مقایسه شده و با ۰/۰۱ > P دارای اختلاف معنی دار هستند. در قسمت بالای نمودار یک نمونه از منحنی های تحریک – پاسخ آورده شده است. مقادیر بصورت Mean±SEM نشان داده شده است.

www.SID.ir



نمودار۳. تغییرات دامنه PS در پاسخ های ارایه شده در اسلایسهای هیپوکامپ موشهای گروه تحت تیمار. بعد از تحریک کزازی PB دامنه PS در اسلایسها رو به افزایش نهاده است. نقاط ثبت بعد از تحریک نسبت به قبل از تحریک از لحاظ آماری مقایسه شده و با P <۰/۰۱ دارای اختلاف معنی دار هستند. در قسمت بالای نمودار یک نمونه از منحنی های تحریک – پاسخ آورده شده است در این اسلایس القا تقویت طولانی مدت فقط ۷۰ دقیقه دوام داشته است. مقادیر بصورت Mean±SEM نشان داده شده است



نمودار ۴. میزان زمان حضور LTP در اسلایسهای تهیه شده از گروههای آزمایشی. گروه کنترل و سالین نسبت به گروه تیمار با P < ۰/۰۱ تفاوت معنی داری دارد.

۴- بحث

نتایج حاضر پیشنهاد می کند که میزان القا و دوام تقویت طولانی مدت در ناحیه CA1 مقاطع زنده هیپوکامپی تهیه شده از موشهایی که در دوران شیرخواری و جنینی بوپروپیون دریافت کرده بودند کاهش می یابد. مطالعات قبلی نشان داده اند که تیمار طولانی مدت با تیمیپرامین منجر به یک کاهش بسیار در میزان القا تقویت طولانی مدت در موشهای بزرگ سفید آزمایشگاهی می گردد در عین حال تیمار حاد با این دارو نیز توانست است دامنه اسپایک های تجمعی را به صورت وابسته به دوز در اسلایس هـای هیپوکامپ خوکچه های هندی کاهش دهد (۱۸،۱۷). قدرت پاسخ دهی سیناپسها بعد از دریافت تحریک تتانیک جهت القا تقویت طولانی مدت به هر دو

www.SID.ir

سلول پس و پیش سیناپسی وابسته است. کاهش القای LTP می تواند ناشی از چند عامل باشد ۱- کاهش آزاد شدن میانجی از نورونهای پیش سیناپسی ۲- تغییر در تعداد و کارایی گیرنده های گلوتاماتی ۳- تغییرات در چگونگی ارتباط نورونها مانند تغییر در تعداد سیناپسها و توزیع آنها. ۴- همچنین تغییر در بیان برخی ژنها. بررسیها نشان داده که آنتی دپرسانتها بر روی هر کدام از این عوامل می توانند تاثیرداشته باشند که در ذیل به آنها اشاره خواهد شد .

مکانیسمهای مولکولی دخیل در ایجاد تغییرات در شکل پذیری سیناپسی هیپوکامپ توسط آنتی دپرسانتها کاملا درک نشده است. مسیرهای عصبی مختلفی ممکن است در میانجیگری اثرات تیمارهای طولانی مدت آنتی دپرسانتها برشکل پذیری سیناپسی هیپوکامپ وجود داشته باشند. گیرنده های آمینواسید تحریکی و سطح کورتیکواستروئیدها ترنسمیترهای مونوآمین, فاکتورهای تروفیک ودیگر پیامبرهای سلولی قادرند متعاقبا برارتباطات عصبی هیپوکامپ تاثیر داشته باشند. تیمار با آنتی دپرسانت ها احتمالا از طریق گیرنده های سروتونین و نورآدرنالین سطح BDNF[6] را می تواند بالا ببرد (۱۹، ۲۰). اثرات تروفیک داروهای آنتی دپرسانت می تواند به بازسازی مجدد ارتباطات عملکردی از طریق ایجاد نورون زایی و تسهیل تماسهای سیناپسی کمک کند (۲۱). آشکار شده که تیمار با آنتی دپرسانتها قادر است آمینو اسیدهای تحریکی را که شکل پذیری سیناپسی را میانجیگری می کنند و با مکانیسمهای مولکولی مغز مرتبط اند را تغییر دهند (۲۳،۲۲،۱۹). گزارش شده است که تیمار مزمن با آنتی دپرسانتهای مختلف سبب افزایش تولید نورونهای جدید در هیپوکامپ می شود (۲۵،۲۴). احتمال دارد بوپروپیون نیز همانند دیگر آنتی دپرسانتها بتواند از طریق نوروژنز در هیپوکامپ (با توجه به تزریق مزمن) و انتگراسیون آنها در مدارهای موجود هیپوکامپی در اشکال معینی از حافظه و یادگیری نقش داشته باشد.

گزارش شده است تیمار طولانی مدت با آنتی دپرسانتها ممکن است به تغییرات طولانی مدت در آبشارهای سیگنال ترنسداکشن درون سلولی که از طریق گیرنده های مزدوج با G پروتئینها میانجیگری می شوند گردد که این امر بر حساسیت زدایی گیرنده ها تاثیر دارد (۲۶). بوپروپیون قادر است از سدخونی – جفتی عبور کند (۲۷). با توجه به تزریق از روز اول حاملگی دارو بر ساختارهای سیناپسی و سیستم عصبی تاثیر گذارده است. کاهش یکی از پارامترهای تقویت طولانی مدت یا دامنه PS در اثر دارو به این معنا است که خروجی نورون نسبت به ورودی کاهش یافته است این پدیده می تواند ناشی از سازمان دهی مجدد مدارهای نورونی حتی در یک نورون (تغییر در نوع و تعداد گیرنده ها و اتصالات سیناپسی) در طی تیمار نسبتا طولانی با دارو اتفاق افتاده باشد.

تیمار مزمن ایمیپرامین سیتالوپرام تغییراتی را در بیان زیر واحدهای گیرنده های NMDA در نواحی خاصی ایجاد می کند (۲۸). پیشنهاد شده که در موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی نسبت بین NR2A/NR2B گیرنده های NMDA آستانه تغییرات سیناپتیک که بوسیله ورود کلسیم و آبشار سیگنالینگ درون سلولی ایجاد می شوند را کنترل می کنند اگرچه تنظیم نسبت NR2A / NR2B یک عامل تعیین کننده اصلی ویژگیهای شکل پذیری است اما مطمئنا یکی از فاکتورهای مهم است که در ویژگیهای شکل پذیری سیناپسی اثر دارد (۲۹). مطالعات تکمیلی نیاز است تا از روی تاثیر بوپروپیون روی بیان زیر واحدهای گیرنده های NMDA به تاثیرش بر شکل پذیری سیناپسی پی برد.

مطالعات برهم خوردگی تنظیمات NMDA و AMPA گیرنده را در انتقالات سیناپتیک افراد افسرده را تایید کرده است در یک مطالعه در سال ۲۰۰۳ طی یک تیمار ۱۴ روزه با دو داروی Imipramine (TCA) و Citalopram (مهارگر بازجذب انتخابی سروتونین) در اسلایسهای تهیه شده از قشر فرونتال موش‌های بزرگ سفید آزمایشگاهی کاهش پتانسیل میدانی دیده شده است. البته طی یک تیمار ۱۴ روزه با Imipramine یک کاهش در پتانسیل میدانی در ناحیه CA1 هم گزارش شده که کمتر از ۲روز دوام داشته است. همچنین نتایج نشان از کاهش نسبت گیرنده های NMDA به AMPA/ کاینات در سیناپسها است همچنین کاهش رهایش ترنسمیتر گلوتامات در ترمینال سیناپسی در لایه های II/III سلولهای پیرامیدال قشر فرونتال دیده شده است (۳۰،۳۱). همانطور که میدانیم گیرنده های NMDA نقش اصلی را در ایجاد تقویت طولانی مدت بازی می کنند و بهم خوردن نسبت بین گیرنده های گلوتاماتی می تواند در LTP اثر گذارد.

سطح رهایش سیناپتیک گلوتامات ممکن است به خاطر تغییرات سازشی در طول درمان با آنتی دپرسانتها در هترورسپتورهای مونوآمینی پیش سیناپسی و یا در گیرنده های پس سیناپسی قرار گرفته در ترمینالهای گلوتا ماترژیک تغییر یابد و گزارشاتی مبنی بر تغییر فعالیت این گیرنده ها در طول درمان با آنتی پرسانتها دیده شده است

6- Brain-Derived Neurotrophic Factor

www.SID.ir

(۲۶). بوپروپیون آنتاگونیست گیرنده های نیکوتینی استیل کولین می باشد و قادر است گیرنده های نیکوتینی موجود در نواحی سوما و دندریت سلولهای پیرامیدال و اینترنورونها را مهار نماید و بر میزان رهایش گلوتامات و گابا اثر نماید و تعادل این دو ترنسمیتر را بهم زند این امر می تواند بر تقویت طولانی مدت اثر گذارد.

یکی دیگر از احتمالات در مورد کاهش دامنه اسپایکهای دسته جمعی نقش اینترنورونها در این میان است اینترنورونها با مهار سلولهای هرمی ممکن است پردازش اطلاعات در سلولهای هرمی به سایر قسمتهای مغزی را تنظیم کنند. یک اینترنورون قادر است سلولهای هرمی را بوسیله تماسهای سیناپتیک مهاری هماهنگ کند. تعداد قابل توجهی از سلولهای پیرامیدال بطور همزمان پتانسیل عمل در انتهای جریان سیناپس مهاری ایجاد می کنند که این همزمانی برای پروسه حافظه ضروری است. سیناپسهای مهاری یک تاثیر مستقیم در انتگراسیون سیگنالهای سیناپتیک در سلولهای هرمی دارند (۳۲). احتمال دارد سیناپسهای روی جسم سلولی نورون ها و یا اینترنورونها موجب بروز این نوع پاسخ ها شده اند.

۵- نتیجه گیری

تحقیقات در زمینه اثرات آنتی دپرسانتهای قدیمی تر بر شکل پذیری سیناپسی تغییرات در تعامل سیستمهای نوروترانسمیتری مختلفی شامل دوپامین، گابا و گلوتامات را در بروز اثرات این داروها بر تقویت طولانی مدت را پیشنهاد نموده است. مطالعات در زمینه ایجاد تغییرات پویا در ارتیاطات سیناپسی تحت مکانیسم تقویت طولانی مدت بدنبال تیمارهای آنتی دپرسانتی مثل بوپروپیون به بسط مکانیسمهای عصبی کاهنده وابستگی دارویی می تواند منجر شود. ماده اعتیاد آور نیکوتین شکل پذیری سیناپسی هیپوکامپ را تغییر می دهد و ایجاد این تغییرات در تماسهای سیناپسی از مهم ترین عوارضی است که مصرف مواد وابسته کننده مثل نیکوتین ایجاد می کنند . طراحی داروهایی که بطور انتخابی در جهت بی اثرکردن ، شکل پذیری سیناپسی ایجاد شده توسط نیکوتین عمل نماید می تواند در درمان وابستگی دارویی کمک شایانی کند.

۶- تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از بذل عنایات و توجهات مسئولین محترم شرکت داروسازی عبیدی برای تامین داروی بوپروپیون نهایت قدردانی و تشکر را بنمایند. همچنین این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۵۷۴ انجام شده است. بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

References:

1. Cryan J.F., Gasparini F., van Heeke G., Markou A. Non-nicotinic neuropharmacological strategies for nicotine dependence: beyond bupropion, Drug Discov. Today, 2003, 8: 1025-34.
2. Lief H.I., Bupropion treatment of depression to assist smoking cessation. Am. J. Psychiatry, 1996, 153: 442-448.
3. Tonnesen P., Tonstad S., Hjalmarson A., Lebargy F., Van Spiegel P.I., et al. A multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled, 1-year study of bupropion SR for smoking cessation. J. Intern. Med., 2003, 254: 184-92.
4. Hayford K.E., Patten C.A., Rummans T.A., Schroeder D.R., Offord K.P., Croghan I.T., et al. Efficacy of bupropion for smoking cessation in smokers with a former history of major depression or alcoholism. Br. J. Psychiatry, 1999, 174: 173-8.
5. Sidhpura N.P., Redfern P.R., Wonnacott S. Comparison of the effects of bupropion on nicotinic receptor-evoked [(3)H]dopamine release from rat striatal synaptosomes and slices. Eur. J. Pharmacol., 2007, 567: 102-9.
6. Miller D.K., Sumithran S.P., Dwoskin L.P. Bupropion inhibits nicotine-evoked [(3(H]overflow from rat striatal slices preloaded with [(3)H]dopamine and from rat hippocampal slices preloaded with [(3)H] norepinephrine . J. Pharmacol. Exp. Ther., 2002, 302: 1113-22.
7. Stahl S.M., Pradko J.F., Haight B.R., Modell J.G., Rockett C.B., Learned-Coughlin S., A Review of the Neuropharmacology of Bupropion, a Dual Norepinephrine and Dopamine Reuptake Inhibitor. Prim Care Companion J. Clin. Psychiatry, 2004, 6: 159-166.
8. W.kalivas P. Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress. Neurocircuitry of addiction, 2002, 1358-1368.
9. Gould T.J. Nicotine and Hippocampus-Dependent Learning, Mol. Neurobio, 2006, 34: 93–107.
10. Dani J.A., De Biasi M. Cellular mechanisms of nicotine addiction. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 2001, 70: 439–446.
11. Bliss T.V., Collingridge G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. Nature 1993, 361: 31-9.
12. Kenney J.W., Gould T.J. Modulation of Hippocampus-Dependent Learning and Synaptic Plasticity by Nicotine. Mol. Neurobiol., 2008, 38: 101-121.
13. Watanabe Y., Saito H., Abe K. Tricyclic antidepressants block NMDA receptor-mediated synaptic responses and

www.SID.ir

induction of long term potentiation in rat hippocampal slices. Neuropharmacol, 1993, 32: 479– 486.
14. Stewart C.A., Reid I.C. Repeated ECS and fluoxetine administration have equivalent effects on hippocampal synaptic plasticity. Psychopharmacol, 2000, 148: 217–223.
15. Wang T., Kass I.S. Preparation of brain slices. In: Rayne RC, ed. Methods in molecular biology Totowa: Humana Press Inc: 1997, 1-14
16. Crawley J.N., Gerfen C.R., Rogawski M.A., Sibley D.R., Skolnick P., Wray S. Synaptic plasticity in the hippocampal slice preparation. In: Taylor GP, ed. Current protocols in neuroscience John Wiley & Sons, Inc. 2003:1-23.
17. Massicotte G., Bernard J.,Ohayon M. Chronic effects of trimipramine, an antidepressant, on hippocampal synaptic plasticity. Behav. Neural Biol., 1993, 59(2): 100-6.
18. Langosch J.M., Walden J. Effects of the atypical antidepressant trimipramine on neuronal excitability and long-term potentiation in guinea pig hippocampal slices. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 2002, 26: 299–302.
19. Reid I.C., Stewart C.A. Brain Plasticity and Antidepressant Treatments: New Cells, New Connections. Neurotoxi. Res., 2004, 6: 483-491.
20. Stewart C.A., Reid I.C. Antidepressant mechanisms: functional and molecular correlates of excitatory amino acid neurotransmission. Mol. Psychiatry, 2002, 7: S15–S22.
21. Duman R.S., Malberg J., Thome J. Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. Biol Psychiatry, 1999, 46: 1181-91.
22. Nestler E.J. Antidepressant Treatments in the 21st Century. Psychiatry Biol. Psychiatry, 1998, 44: 526–533.
23. Reid I.C., Stewart C.A. Brain Plasticity and Antidepressant Treatments: New Cells, New Connections. Neurotoxi. Res., 2004, 6: 483-491.
24. Castren E. Neurotrophic effects of antidepressant drugs. Current Opinionin Pharmacology, 2004, 4: 58-64.
25. Malberg J.E., Schechter L.E. Increasing Hippocampal Neurogenesis: A Novel Mechanism for Antidepressant. Drugs Current Pharmaceutical Design, 2005, 11: 145-155.
26. Zahorodna A., Bijak M. An antidepressant-induced decrease in the responsiveness of hippocampal neurons to group I metabotropic glutamate receptor activation. Eur. J. Pharmacol., 1999, 386: 173–179.
27. Gentile S. The safety of newer antidepressants in pregnancy and breastfeeding. Drug Saf, 2005, 28: 137-52.
28. Boyer P.A., Skolnick P., Fossom L.H. Chronic Administration of Imipramine and Citalopram Alters the Expression of NMDA Receptor Subunit mRNAs in Mouse Brain. Journal of Molecular Neuroscience, 1998, 10: 219-233.
29. Yashiro K., Philpot B.D. Regulation of NMDA receptor subunit expression and its implications for LTD, LTP and metaplasticity. Neuropharmacol, 2008, 55: 1081-1094.
30. Tokarski K., bobula B., Wabno J., Hess G. Repeated administration of imipramine attenuates glutamatergic transmission in rat frontal cortex. Neurosci, 2008, 153: 789–795.
31. Bobula B., Tokarski K., Hess G. Repeated administration of antidepressants decreases field potentials in rat frontal cortex. Neurosci, 2003, 120: 765–769.
32. Mc Bain C.J., freund T.F., Mody I. Glutamatergic synapes on to hippocampal interneurons: precision timing without lasting plasticity. Trends neurosci, 1999, 22: 228 -35.

www.SID.ir