Archive of SID

پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، صفحات ۱۰۶ تا ۱۱۳

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی تاثیر نیکوتین و نیتریک اکساید بر رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی

زهرا شهاب[۱]، مریم بنانج[۲]، مرتضی پیری*[۳]، مریم السادات شاهین[۴]، محمدرضا زرین‌دست[۵]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۲] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۳] مربی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل
[۴] کارشناس زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری و عضو باشگاه پژوهشگران جوان
[۵] استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: *اضطراب یک حالت روانشناختی و فیزیولوژیکی می باشد که با تغییرات بدنی، هیجانی، شناختی و رفتاری شناسایی می‌شود. اضطراب واکنش طبیعی نسبت به استرس است، اما وقتی شدید می‌شود اختلال اضطرابی نامیده می‌شود. در این مطالعه برهمکنش احتمالی بین نیکوتین و سیستم نیتریک اکساید هیپوکامپ پشتی در زمینه رفتار شبه اضطرابی بررسی شده است.*

روش بررسی: *این مطالعه تجربی بر روی ۲۳۰ موش سوری نر NMRI انجام شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید، به علاوه زایلزین بی‌هوش شدند و سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دو کانول در ناحیه هیپوکامپ پشتی قرار داده شد. تست ماز بعلاوه ای شکل مرتفع برای سنجش رفتارهای شبه اضطرابی مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و به دنبال آن تست LSD برای تحلیل داده‌ها استفاده شد.*

یافته‌ها: *تزریق درون صفاقی نیکوتین (۰/۵ میلی گرم برکیلوگرم؛ $P<0/05$) یا تزریق دوطرفه L-آرژنین (۱ میکروگرم بر موش؛ $P<0/05$) و L-NAME (۵ نانوگرم بر موش؛ $P<0/01$) به هیپوکامپ پشتی باعث القاء اثرات اضطراب زا شد. تزریق درون صفاقی مقدار کم نیکوتین (۰/۱ میکروگرم بر کیلوگرم) قبل از مقادیر مختلف L-آرژنین یا L-NAME اثرات اضطراب‌زای L-آرژنین یا L-NAME را مهار کرد.*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که نه تنها هر دو سیستم نیتریک اکساید و نیکوتینی استیل‌کولین در تعدیل اضطراب در هیپوکامپ پشتی موش‌های کوچک آزمایشگاهی نقش دارند، بلکه بین آنها برهمکنش پیچیده‌ای نیز وجود دارد.*

واژگان کلیدی: *نیکوتین، نیتریک اکساید، رفتار اضطرابی، هیپوکامپ پشتی، موش کوچک آزمایشگاهی.*

مقدمه

اضطراب، پاسخ یک موجود به یک عامل تهدید کننده احتمالی است که می‌تواند هموستاز موجود را دچار اختلال نماید. اضطراب یک حالت ذهنی است که ما آن را بارها تجربه کرده‌ایم. در طول بیست سال گذشته، دانش ما از عوامل موثر زیست شناختی به میزان زیادی افزایش یافته و معیارهای تشخیصی این بیماری از مسائل سایکودینامیک فاصله گرفته و به معیارهای قابل اعتماد و شناخته شده‌تری نزدیک شده است (۱). با توجه به شیوع زیاد این بیماری، از دیرباز تاکنون اضطراب از جمله مباحث مهم روانشناسی و پزشکی بوده و همواره برای کنترل آن راه حل‌ها و داروهای مختلفی با مکانیسم‌های اثر متفاوت ارائه شده است. درک

آدرس نویسنده مسئول: اردبیل ، میدان بسیج ، دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، مرتضی پیری (**e-mail:** biopiri@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۸/۱۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۲/۱۸

www.SID.ir

Archive of SID

بهتر مکانیسم‌های دخیل در اضطراب ما را بـه سـمت یـافتن داروهای جدیدتر و درمان موثرتر هدایت می‌کند (۲، ۳).

نیکوتین یکی از داروهای اعتیادآوری می‌باشد که در سرتاسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این دارو با اثر بر سیـستم عصبی مرکـزی و محیطـی اثـرات فارمـاکولوژیکی زیـادی را ایجاد می‌کند (۴). بسیاری از اثرات نیکوتین به توانـایی ایـن دارو در برهمکنش با سیـستم‌هـای نورترانـسمیتری مختلـف بستگی دارد (۵). مطالعات انجام شده بر روی بیماران مبـتلا به آلزایمر نیز تاییـد کننـده اهمیـت سیـستم کولینرژیـک و گیرنده‌های نیکوتینی در فرآیند اضطراب می‌باشـند. در ایـن بیماران یکی از اولین سیـستم‌هـایی کـه در لـوب پیـشانی و هیپوکامـپ دچـار مـشکل مـی‌شـود، سیـستم کولینرژیـک می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند که این بیماران عـلاوه بـر نقص پیش رونده حافظه، اضطراب فوق العاده شدیدی را نیز تجربه می‌نمایند (۶).

نیتریک اکساید نوعی میانجی عصبی گازی شکل می‌باشد که به روش آنزیمی بعد از فعال شدن گیرنده NMDA توسـط آنـزیم نیتریک اکساید سنتاز از L – آرژنین سـاخته مـی‌شـود و خـود باعـث افـزایش رهـایش دوپـامین، اسـتیل کـولین و گلوتامـات می‌شود (۷). این میـانجی عـصبی در سیـستم عـصبی مرکـزی اعمال متعـددی را میـانجی‌گـری مـی‌نمایـد. مطالعـات نـشان می‌دهد که نیتریک اکساید در تمـایز عـصبی (۸)، تقویـت دراز مـدت سیناپـسی (LTP) (۹)، تغییـر شـکل سیناپـسی (۱۰) و حافظـه و یـادگیری نقـش دارد (۱۱). در سیـستم عـصبی پستانداران آنزیم نیتریک اکساید سنتاز عصبی در نواحی مختلف سیـستم عـصبی آمیگـدال، هیپوکامـپ و بخـش پـشتی مـاده خاکستری دور قنات سیلویوس بیان می‌شود (۱۲). با توجـه بـه اینکه این نواحی آناتومیکی در رفتارهای شـبه اضـطرابی دخیـل می‌باشند، این احتمال مطرح می‌شـود کـه نیتریـک اکـساید در کنترل رفتارهای شبه اضطرابی نقش داشته باشد (۱۳).

با در نظر گرفتن اهمیت هیپوکامپ پشتی در رفتار اضطرابی و توجه به این نکته کـه گیرنـده‌هـای نیکـوتینی و نیتریـک اکساید سـنتاز بـه مقـدار زیـاد در هیپوکامـپ پـشتی بیـان می‌شوند (۱۴) و برخـی از اثـرات نیکـوتین توسـط نیتریـک اکساید میـانجی‌گـری مـی‌شـود (۱۵)، ایـن احتمـال مطـرح می‌شـود کـه بـین نیکـوتین و سیـستم نیتریـک اکـساید در هیپوکامپ پشتی در زمینه رفتار اضطرابی برهمکنش وجـود داشته باشد. لذا در این مطالعه برای اولین بار برهمکنش بین نیکوتین و سیـستم نیتریـک اکـساید هیپوکامـپ پـشتی در زمینه رفتار اضطرابی بررسی شد.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی که در گروه فارماکولوژی دانـشگاه پزشـکی تهران انجام گرفت، از ۲۳۰ سر موش کوچـک آزمایـشگاهی بـه وزن تقریبی ۲۵–۲۲ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند، استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوان‌خانه تحقیقاتی منتقل شده، در هر قفس ۵ سر موش قرار داده شد. در طـول آزمـایش‌هـا آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت و هر سه روز یک بار قفس موش‌ها تمیز می‌شد. دمای حیوان‌خانـه بـین۳±۲۲ درجـه سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحـی بـه مـدت یـک هفتـه بـه موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیـوان‌خانـه تطبیـق دهند. در طول یک هفته به منظور جلوگیری از تنش کار، هر روز حیوان‌ها Handling می‌شدند. هر حیوان فقط یـک بـار اسـتفاده شده و در گروه هشت تایی قرار داده می‌شد. همه آزمـایش‌هـا در طول روز انجام می‌شد.

برای سنجش اضطراب از مدل رفتاری ماز بعلاوه ای شکل مرتفـع (elevated plus-maze) استفاده شد. تست مـاز بعـلاوه ای شـکل مرتفـع یکـی از تـستهـایی اسـت کـه بـرای شناسـایی اثـرات اضطراب‌زایی و اضطراب‌زدایی داروها مورد استفاده قرار می‌گیـرد (۱۶، ۱۷). اساس این ارزیابی مـدل پلـو (Pellow) و فایـل (File) اسـت کـه بـر پایـه دو غریـزه طراحـی شـده اسـت: یکـی حـس جستجوگرانه جوندگان، و دیگری احتراز از محیط‌های باز و روشن. این ابزار از جنس چـوب و دارای چهـار بـازو بـه شـکل علامـت بعلاوه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته ۴۰ × ۷ سانتی‌متر است که در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیوارهـای بـه بلنـدی ۱۰ سانتی‌متـر قـرار دارد. بـرای جلـوگیری از سـقوط مـوش‌هـای صحرایی، در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه‌هایی به ارتفاع یـک سانتی‌متر از جنس شیشه تعبیـه شـده اسـت. مـاز بـه وسـیله پایه‌هایی در ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر از سطح زمین قرار مـی‌گیـرد. موش‌ها درون محـدوده مرکـزی و رو بـه یـک بـازوی بـاز قـرار می‌گرفتند. نور مناسب به وسیله یک لامـپ ۱۰۰ واتـی کـه در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز ماز قرار داشت، تأمین می‌شـد. در مدت پنج دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلـف ماز حرکت می‌کرد، چهار پارامتر به روش مشاهده اندازه گیـری می‌شد: تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می‌شـد، تعـداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می‌شـد، مـدت زمـانی کـه حیوان در بازوی باز می‌ماند و مدت زمانی که حیوان در بـازوی بسته می‌ماند. منظور از ورود به بازوی باز یا بسته قرار گـرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی مـورد نظـر اسـت. مـدت زمـان ماندن در هر بازو نیز بر همین اساس محاسبه شده است. بـرای

www.SID.ir

Archive of SID

هر حیوان درصد ورود به بازوی باز (Open Arm Entries (%OAE)) و درصد زمان ماندن در بازوی باز (Open Arm Times (%OAT)) به طریق زیر محاسبه شد:

درصد ورود به بازوی باز= تعداد ورودی به بازوی باز تقسیم بر مجموع تعداد ورودی به بازوی باز و تعداد ورودی به بازوی بسته ضرب در ۱۰۰.

درصد ماندن در بازوی باز= مدت ماندن در بازوی باز تقسیم بر مجموع مدت ماندن در بازوی باز و مدت ماندن در بازوی بسته ضرب در ۱۰۰.

افزایش معنی‌دار این دو پارامتر نشان دهنده کاهش اضطراب در این تست است. البته عامل در صد ورود به بازوی باز (%OAE) نسبت به فاکتور درصد زمان حضور در بازوی باز (%OAT) در ثبت رفتارهای اضطرابی و ضداضطرابی حیوان دارای حساسیت کمتری است.

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از نیکوتین، L- آرژنین و L-NAME که همگی از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه گردیدند. تمامی داروهای فوق بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل حل شدند. pH نیکوتین پس از حل نمودن در سرم فیزیولوژیک با اضافه نمودن سود ۰/۱ نرمال به محدوده خنثی (۷/۴) رسانده شد.

در روش جراحی و کانول‌گذاری در ناحیه هیپوکامپ پشتی (CA1)، موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به علاوه زایلزین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. کانول‌های راهنما (۲۳ G) به صورت دو طرفه یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (۲۰۰۱) قرار داده شدند. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی عبارت بود از: AP=-۲، ML=+۱/۶، V= -۱/۵ (۱۸). بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان‌پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده می‌شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده، به حالت عادی خود برگردد.

برای تزریق درون مغزی دارو، پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن G ۳۰ دندانپزشکی که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد (شماره ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما G ۲۳ قرار داده شده، در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق می‌شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ۴ درصد (۱ میکرولیتر) به داخل هر دو کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شده، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار می‌گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده می‌شد (۱۸). پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر، اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

در آزمایش اول، اثرنیکوتین بر رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی بررسی شد. در این آزمایش چهار گروه حیوان به کار رفت. گروه اول سالین (۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف نیکوتین (۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

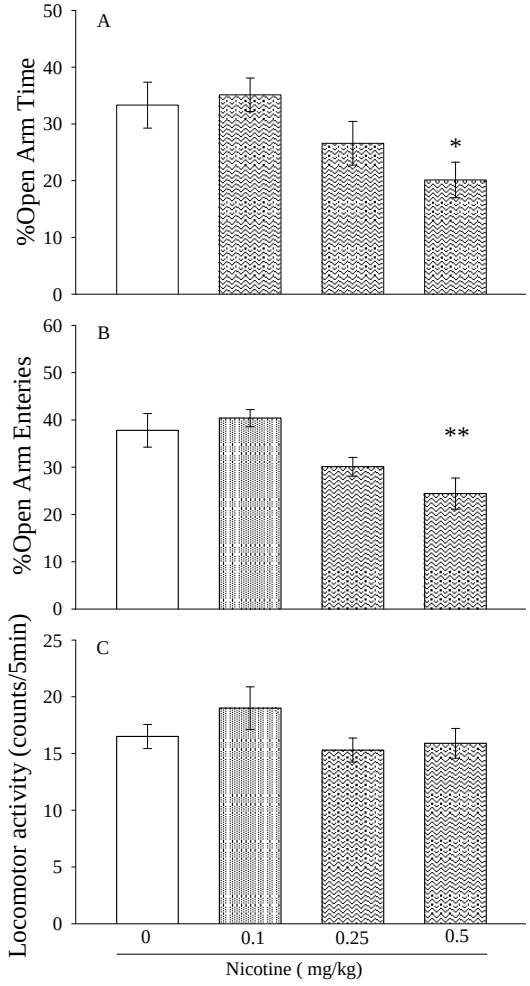
در آزمایش دوم، اثر L- آرژنین در حضور و غیاب مقدار کم نیکوتین بر رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی بررسی شد. در این آزمایش هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه اول نیم ساعت قبل از آزمون اضطراب سالین (۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی و پنج دقیقه مانده به آزمون مقادیر مختلف L- آرژنین (۱، ۰/۵، ۰/۱ و صفر میکروگرم بر موش) را به صورت درون مغزی (هیپوکامپ پشتی) دریافت کردند. چهار گروه بعدی مقدار کم نیکوتین (۰/۱ میلی‌گرم بر موش) را نیم ساعت قبل از آزمون اضطراب به صورت درون صفاقی دریافت کردند و پنج دقیقه مانده به آزمون، مقادیر مختلف L- آرژنین (۱، ۰/۵، ۰/۱ و صفر میکروگرم بر موش) به ناحیه هیپوکامپ پشتی حیوان تزریق شد.

در آزمایش سوم، اثر L-NAME در حضور و غیاب مقدار کم نیکوتین بر رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه اول نیم ساعت قبل از آزمون اضطراب، سالین (۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی و پنج دقیقه مانده به آزمون مقادیر مختلف L-NAME (۵۰، ۱۰، ۵ و صفر نانوگرم بر موش) را به صورت درون مغزی (هیپوکامپ پشتی) دریافت کردند. چهار گروه بعدی مقدار کم نیکوتین

www.SID.ir

Archive of SID

(۰/۱ میلی‌گرم بر موش) را نیم ساعت قبل از آزمون اضطراب به صورت درون صفاقی دریافت کردند و پنج دقیقه مانده به آزمون مقادیر مختلف NAME-L (۵۰، ۱۰، ۵ و صفر نانوگرم بر موش) به ناحیه هیپوکامپ پشتی حیوان تزریق شد.

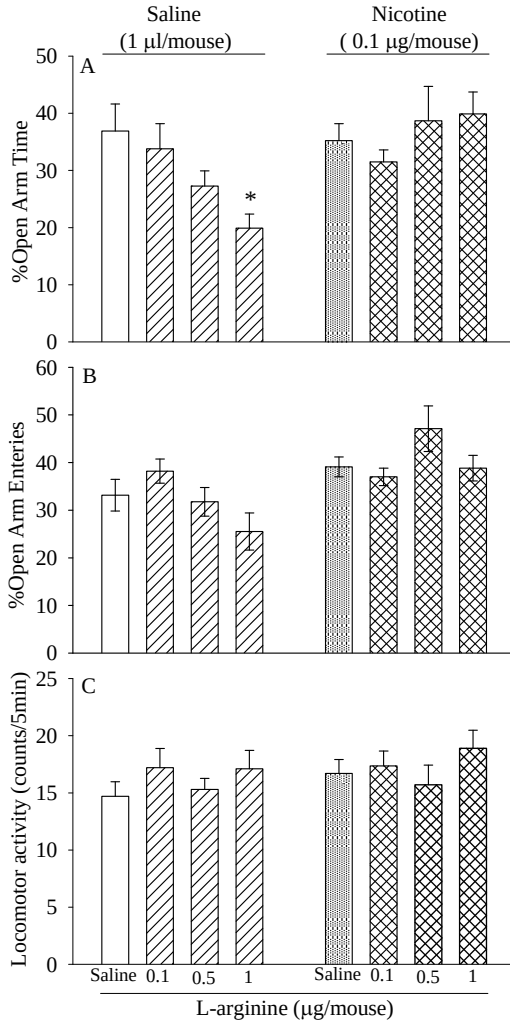


نمودار ۱- اثر تزریق نیکوتین بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز، درصد ورود حیوان به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. $^{*}P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین.

در همه آزمایش‌ها درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز به عنوان ملاک رفتار اضطرابی اندازه‌گیری شد. همچنین میزان فعالیت حرکتی حیوان نیز به صورت همزمان اندازه‌گیری گردید. نمره هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد ثبت گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایش از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون مکمل LSD استفاده گردید.

یافته‌ها

در آزمایش اول به منظور بررسی اثر نیکوتین بر روی رفتار اضطرابی، نتایج آنالیز واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف نیکوتین به ناحیه هیپوکامپ پشتی به صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز [$p<۰/۰۰۱$ ،$F(۳، ۲۸)=۷/۳۹$] و درصد ورود به بازوی باز [$p<۰/۰۰۱$ ،$F(۳، ۲۸)=۱۲/۴۷$] را کاهش می‌دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد [$p>۰/۰۵$، $F(۳، ۲۸)=۰/۹۴$]. این نتایج نشان دهنده اضطراب‌زا بودن نیکوتین می‌باشد. به علاوه آزمون مکمل LSD نشان داد که کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز در دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نظر آماری معنی دار می‌باشد.



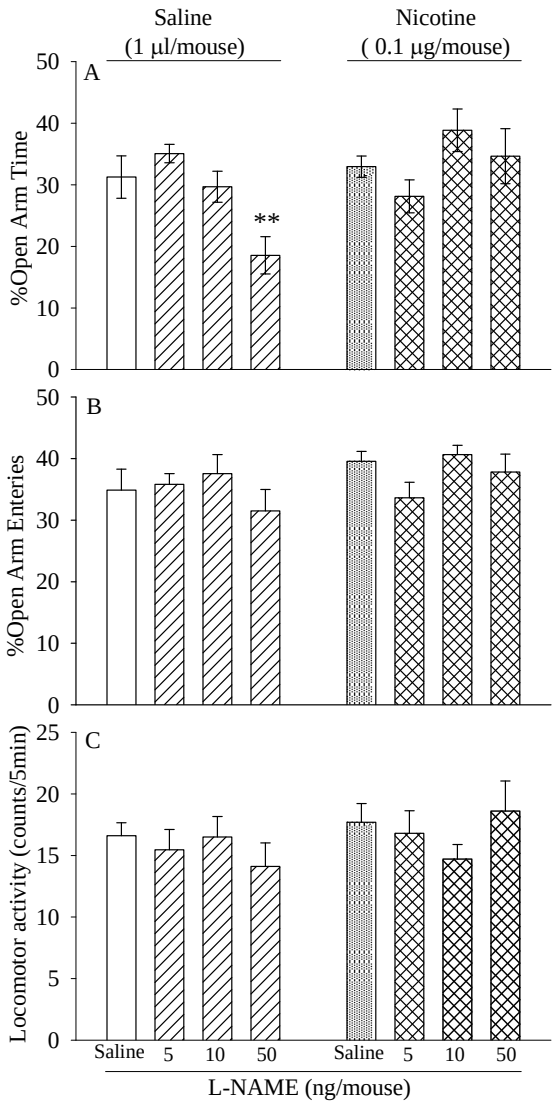
نمودار ۲- اثر تزریق L ـ آرژنین پیش ساز نیتریک اکساید در غیاب و حضور نیکوتین بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز، درصد ورود حیوان به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. $^{*}P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین.

www.SID.ir

Archive of SID

در آزمایش دوم برای بررسی اثر تزریق L- آرژنین به هیپوکامپ پشتی در حضور و غیاب نیکوتین بر روی رفتار اضطرابی، نتایج آنالیز واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف L- آرژنین در غیاب نیکوتین به ناحیه هیپوکامپ پشتی به صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز [F(۳، ۲۸)=۷/۳۹ ،p<۰/۰۰۱] را کاهش می‌دهد، اما بر روی درصد ورود به بازوی باز [F(۳، ۲۸)=۱۲/۴۷ ،p<۰/۰۰۱] و فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد [F(۳، ۲۸)=۰/۹۴ ،p>۰/۰۵]. این نتایج نشان دهنده اضطراب‌زا بودن نیکوتین می‌باشد. به علاوه آزمون مکمل LSD نشان داد که کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز در دوز ۱ میکروگرم بر موش از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (شکل ۲ـ پانل چپ). از طرف دیگر نتایج آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مکمل LSD نشان داد که در حضور مقدار کم نیکوتین، تزریق L- آرژنین به هیپوکامپ پشتی اثری بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز [F(۳، ۲۸)=۰/۹۴ ،p>۰/۰۵]، درصد ورو به بازوی باز [F(۳، ۲۸)=۱/۲۶ ،p>۰/۰۵] و فعالیت حرکتی حیوان [F(۳، ۲۸)=۱/۴۸ ،p>۰/۰۵] ندارد، به عبارت دیگر مقدار کم نیکوتین می‌تواند جلوی القای اضطراب با L- آرژنین را بگیرد.

در آزمایش سوم به منظور بررسی اثر تزریق L-NAME به هیپوکامپ پشتی در حضور و غیاب نیکوتین بر روی رفتار اضطرابی، نتایج آنالیز واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف L-NAME در غیاب نیکوتین به ناحیه هیپوکامپ پشتی به صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز [F(۳، ۲۸)=۷/۳۹ ،p<۰/۰۰۱] را کاهش می‌دهد، اما بر روی درصد ورود به بازوی باز [F(۳، ۲۸)=۱۲/۴۷ ،p>۰/۰۰۱] و فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد [F(۳، ۲۸)=۰/۹۴ ،p>۰/۰۵]. این نتایج نشان دهنده اضطراب‌زا بودن نیکوتین می‌باشد. به علاوه آزمون مکمل LSD نشان داد که کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز در دوز ۵۰ نانوگرم بر موش از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (شکل۳ـ پانل چپ). از طرف دیگر نتایج آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مکمل LSD نشان داد که در حضور مقدار کم نیکوتین، تزریق L-NAME به هیپوکامپ پشتی اثری بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز [F(۳، ۲۸)=۱/۳۱ ،p>۰/۰۵]، درصد ورود به بازوی باز [F(۳، ۲۸)=۰/۸۵ ،p>۰/۰۵] و فعالیت حرکتی حیوان [F(۳، ۲۸)=۱/۴۳ ،p>۰/۰۵] ندارد، به عبارت دیگر مقدار کم نیکوتین می‌تواند جلوی القای اضطراب با L-NAME را بگیرد.



نمودار ۳- اثر تزریق L-NAME مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز در غیاب و حضور نیکوتین بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز، درصد ورود حیوان به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. $^{**}P<0/01$ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین.

بحث

در این مطالعه برهمکنش بین سیستم نیتریک اکساید و نیکوتین در زمینه رفتار اضطرابی در ناحیه هیپوکامپ پشتی مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه مشخص نمود که بین این دو سیستم در زمینه رفتار اضطرابی برهمکنش وجود دارد و نیکوتین در مقادیر کم قادر به مهار رفتار اضطرابی القاء شده با سیستم نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی می‌باشد.

یافته‌های ما در بخش اول این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی نیکوتین، زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود

www.SID.ir

Archive of SID

به بازوی باز را کاهش می‌دهد، بدون اینکه بر روی فعالیت حرکتی حیوان تأثیری بگذارد. این یافته‌ها نشان دهنده اضطراب‌زا بودن نیکوتین می‌باشد. یافته‌های ما توسط مطالعاتی که نشان داده‌اند نیکوتین و سایر آگونیست‌های گیرنده‌های نیکوتینی مانند لوبلین (lobeline) باعث القاء اضطراب در تست ماز بعلاوه ای مرتفع می‌شود، تایید می‌گردد (۱۹). در مورد اثرات نیکوتین بر رفتار اضطرابی گزارشات متناقضی وجود دارد، به گونه‌ای که برای نیکوتین اثرات اضطراب‌زا، اضطراب‌زدا یا بی‌اثر بر روی رفتار اضطرابی گزارش شده است. این تفاوت در پاسخ به نیکوتین می‌تواند نتیجه تفاوت در گونه، نژاد، مقدار نیکوتین، نحوه استفاده از نیکوتین و نوع تست اضطرابی باشد (۲۰). در این میان دوز دارو حائز اهمیت بیشتری می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند که مقادیر کم نیکوتین دارای اثرات ضد اضطرابی می‌باشد، در حالی که مقادیر بالای نیکوتین اضطراب‌زا است (۲۱) . نیکوتین به عنوان یکی از تعدیل کننده در سیستم عصبی مرکزی عمل می‌نماید (۲۲) و آگونیست‌های گیرنده‌های نیکوتینی می‌توانند با اثر بر روی گیرنده‌های پیش‌سیناپسی نیکوتینی و افزایش ورود کلسیم به پایانه آکسونی، رهایش نورترانسمیترهای مختلف از جمله دوپامین، نوراپی نفرین، گلوتامات، گابا و استیل کولین را افزایش دهند (۲۳). هر چند مکانیسم فارماکولوژیکی که از طریق آن نیکوتین اثرات اضطرابی خود را اعمال می‌نماید به طور کامل درک نشده است، اما می‌توان گفت که نیکوتین اثرات اضطراب‌زای خود را به واسطه رهایش گلوتامات یا سایر نورترانسمیترها ایجاد می‌نماید. گلوتامات نقش مهمی در رفتار اضطرابی بازی می‌کند. مطالعات نشان می‌دهند که فعال شدن گیرنده‌های NMDA رفتارهای اضطرابی در حیوانات آزمایشگاهی را افزایش می‌دهند (۲۴). بنابراین این احتمال وجود دارد که بخشی از اثرات نیکوتین بر رفتار اضطرابی از طرق گلوتامات و گیرنده‌های NMDA میانجی‌گری گردد.

با توجه به اینکه فعال شدن گیرنده‌های NMDA باعث فعال شدن آنزیم نیتریک اکساید سنتاز و افزایش تولید نیتریک اکساید می‌گردد و با در نظر گرفتن این نکته که خود نیتریک اکساید نیز باعث رهایش دوپامین، استیل کولین و گلوتامات می‌شود (۲۵). در بخش دوم این مطالعه نقش سیستم نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی بر رفتار اضطرابی و برهمکنش آن با نیکوتین مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه ما نشان داد که تزریق آگونیست یا آنتاگونیست نیتریک اکساید به ناحیه هیپوکامپ پشتی موش سوری باعث کاهش زمان حضور در بازوی باز می‌شود، بدون اینکه بر روی درصد حضور در بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان اثری بگذارد. این نتایج نشان دهنده این است که مهار سیستم نیتریک اکساید یا تحریک سیستم نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی موش سوری باعث القاء اضطراب می‌گردد. نتایج ما در این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که نیکوتین در مقدار کم می‌تواند جلوی اثرات اضطراب‌زایی L- آرژنین و L-NAME را بگیرد. یافته‌های ما در این مطالعه در راستای مطالعات قبلی می‌باشد که گزارش نموده‌اند مقادیر کم نیکوتین دارای اثرات ضد اضطرابی است (۲۰).

مطالعات قبلی نشان می‌دهند که تزریق سیستمیک یا تزریق درون بطنی L- آرژنین رفتار اضطرابی را در ماز بعلاوه ای شکل مرتفع تغییر می‌دهند (۲۶, ۲۷). همچنین گزارش شده است که تزریق درون صفاقی L - آرژنین در موش سوری اضطراب‌زا می‌باشد (۲۸) و قادر است اثرات ضداضطرابی دیازپام را تضعیف نماید (۲۹). مطالعات قبلی ما نیز نشان می‌دهد که تزریق دوزهای بالای L- آرژنین به ناحیه هیپوکامپ پشتی در موش صحرایی باعث القاء اضطراب می‌شود (۱۳). نتایج ما در این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که تزریق L-NAME به عنوان یک مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز، باعث القاء اضطراب می‌گردد. نتایج ما در راستای مطالعات پیشینی است که نشان می‌دهند، تزریق سیستمیک مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز باعث القاء اضطراب در مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع می‌شود (۳۰, ۳۱). این یافته همچنین توسط مطالعاتی که نشان می‌دهند تزریق درون صفاقی NG- نیترو L - آرژنین که یک مهار کننده دیگر نیتریک اکساید سنتاز می‌باشد، باعث القاء اضطراب می‌شود، حمایت می‌گردد (۳۲). بر خلاف اکثر گزارشات فوق، مطالعاتی نیز وجود دارد که بیان کننده اثرات ضد اضطرابی مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز می‌باشند (۳۳، ۳۴). نتایج متناقض به دست آمده در مورد اثرات اضطرابی و ضد اضطرابی داروهای نیتریک اکساید همچنین می‌تواند نتیجه برهمکنش پیچیده نیتریک اکساید با سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف باشد. مطالعات نشان داده‌اند که نیتریک اکساید، رهایش نوروترانسمیترهای مختلف از جمله گلوتامات، استیل کولین، هیستامین، سروتونین، دوپامین و نوراپی‌نفرین را تغییر می‌دهد. اگر چه نیتریک اکساید می‌تواند رهایش گلوتامات را افزایش دهد که نقش تسهیل کننده در واکنش های دفاعی دارد (۳۵)، اما باید توجه داشت که افزایش شدید تولید نیتریک اکساید باعث مهار عملکرد گیرنده‌های NMDA می‌شود. همچنین عملکرد دوگانه نیتریک اکساید بر روی

www.SID.ir

Archive of SID

رهایش گاماآمینوبوتیریک‌اسید و سروتونین گزارش شده است. این عملکرد دوگانه در مورد رهایش گاما آمینو بوتیریک اسید و سروتونین می‌تواند تحت تاثیر محل اثر نیتریک اکساید در مغز و غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها قرار بگیرد (۳۶).

پاسخ اضطرابی یکسانی که توسط آگونیست و آنتاگونیست نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی موش سوری مشاهده شده است، نشان دهنده نقش تعدیل کننده نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی در زمینه رفتار اضطرابی می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی با سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلفی که در تعدیل اضطراب نقش دارند، برهمکنش دارد (۳۵). نقش تعدیل کننده نیتریک اکساید در زمینه رفتارهای دیگر نظیر حافظه و یادگیری در مطالعات قبلی نشان داده شده است. مطالعات نشان داده‌اند که تزریق آگونیست نیتریک اکساید به هیپوکامپ پشتی در مقادیر متوسط باعث تقویت حافظه می‌شود، درحالی که تزریق مقادیر بالای آن باعث تخریب حافظه می‌گردد (۳۷). بنابراین می‌توان گفت علت پاسخ یکسانی که توسط آگونیست و آنتاگونیست نیتریک اکساید در زمینه رفتار اضطرابی رخ داده است، می‌تواند نقش تعدیل کننده نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی و برهمکنش پیچیده بین نیتریک اکساید و نوروترانسمیترهایی باشد که رفتار اضطرابی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۳, ۳۸).

از یافته‌های این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که علاوه بر اینکه نیکوتین و سیستم نیتریک اکساید هیپوکامپ پشتی رفتار اضطرابی را تحت تاثیر قرار می‌دهند، بین آنها در زمینه رفتار اضطرابی برهمکنش پیچیده‌ای وجود دارد، به گونه‌ای که با وجود اینکه مقادیر بالای نیکوتین اضطراب‌زا می‌باشد، اما مقادیر کم نیکوتین می‌تواند اضطراب ایجاد شده با پیش‌ساز و مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز را مهار نماید.

به منظور مشخص نمودن مکانیسم دقیق برهمکنش نیکوتین و نیتریک اکساید می‌توان اثر نیکوتین بر روی بیان و فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتاز را در هیپوکامپ پشتی بررسی نمود. همچنین به منظور مشخص شدن ابعاد مختلف برهمکنش این دو دارو در مغز در زمینه رفتار اضطرابی می‌توان برهمکنش این دو دارو را در سایر نواحی دخیل در رفتار اضطرابی در مغز بررسی کرد.

REFERENCES

1. Davidson RJ. Anxiety and affective style: role of prefrontal cortex and amygdala. Biol Psychiatr 2002; 51: 68-80.
2. Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Walters EE. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. Arch General Psychiatr 2005; 62: 617.
3. Toubas PL, Abla KA, Cao W, Logan LG, Seale TW. Latency to enter a mirrored chamber: a novel behavioral assay for anxiolytic agents. Pharmacology Biochemistr Behav 1990; 35: 121-26.
4. Le Foll B, Goldberg SR. Effects of nicotine in experimental animals and humans: an update on addictive properties. Handb Exp Pharmacol 2009; 192: 335-67.
5. Balfour DJ. The effects of nicotine on brain neurotransmitter systems. Pharmacol Ther 1982; 16: 269-82.
6. Weiner MF, Koss E, Wild KV, Folks DG, Tariot P, Luszczynska H, et al. Measures of psychiatric symptoms in Alzheimer patients: a review. Alzheimer Dis Assoc Disord 1996; 10: 20-30.
7. Zarrindast MR, Shendy MM, Ahmadi S. Nitric oxide modulates state dependency induced by lithium in an inhibitory avoidance task in mice. Behav Pharmacol 2007; 18: 289-95.
8. Nicotera P, Bonfoco E, Brune B. Mechanisms for nitric oxide-induced cell death: involvement of apoptosis. Adv Neuroimmunol 1995; 5: 411-20.
9. Zarrindast MR, Askari E, Khalilzadeh A, Nouraei N. Morphine state-dependent learning sensitization and interaction with nitric oxide. Pharmacology 2006; 78: 66-71.
10. Wang JH, Ko GY, Kelly PT. Cellular and molecular bases of memory: synaptic and neuronal plasticity. J Clin Neurophysiol 1997; 14: 264-93.
11. Rezayof A, Zare-Chahoki A, Zarrindast MR, Rassouli Y. Inhibition of dorsal hippocampal nitric oxide synthesis potentiates ethanol-induced state-dependent memory in mice. Behav Brain Res 2010; 209: 189-95.
12. Bredt DS, Snyder SH. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. Proc Natl Acad Sci U S A 1990; 87: 682-85.
13. Roohbakhsh A, Moghaddam AH, Massoudi R, Zarrindast MR. Role of dorsal hippocampal cannabinoid receptors and nitric oxide in anxiety like behaviours in rats using the elevated plus-maze test. Clin Exp Pharmacol Physiol 2007; 34: 223-29.
14. LeDoux JE. Emotion circuits in the brain. Ann Rev Neurosci 2000; 23: 155-84.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Shim I, Kim HT, Kim YH, Chun BG, Hahm DH, Lee EH, et al. Role of nitric oxide synthase inhibitors and NMDA receptor antagonist in nicotine-induced behavioral sensitization in the rat. Eur J Pharmacol 2002; 443: 119-24.

16. Bergink V, van Megen HJG. Glutamate and anxiety. Eur Neuropsychopharmacol 2004; 14: 175-83.

17. Rezvanfard M, Zarrindast MR, Bina P. Role of ventral hippocampal GABA(A) and NMDA receptors in the anxiolytic effect of carbamazepine in rats using the elevated plus maze test. Pharmacology 2009; 84: 356-66.

18. Paxinos G, Franklin KBJ. The Mouse brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. New York: Academic Press; 2001.

19. Brioni JD, O'Neill AB, Kim DJ, Decker MW. Nicotinic receptor agonists exhibit anxiolytic-like effects on the elevated plus-maze test. Eur J Pharmacol 1993; 238: 1-8.

20. Chae Y, Yeom M, Han JH, Park HJ, Hahm DH, Shim I, et al. Effect of acupuncture on anxiety-like behavior during nicotine withdrawal and relevant mechanisms. Neurosci Lett 2008; 430: 98-102.

21. Ouagazzal AM, Kenny PJ, File SE. Stimulation of nicotinic receptors in the lateral septal nucleus increases anxiety. Eur J Neurosci 1999; 11: 3957-62.

22. Role LW, Berg DK. Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. Neuron 1996; 16: 1077-85.

23. O'Neill AB, Brioni JD. Benzodiazepine receptor mediation of the anxiolytic-like effect of (-)-nicotine in mice. Pharmacol Biochem Behav 1994; 49: 755-57.

24. O'Tuathaigh CMP, O'Connor AM, O'Sullivan GJ, Lai D, Harvey R, Croke DT, et al. Disruption to social dyadic interactions but not emotional/anxiety-related behaviour in mice with heterozygous knockout of the schizophrenia risk gene neuregulin-1. Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatr 2008; 32: 462-66.

25. West AR, Galloway MP. Inhibition of glutamate reuptake potentiates endogenous nitric oxide-facilitated dopamine efflux in the rat striatum: an in vivo microdialysis study. Neurosci Lett 1997; 230: 21-24.

26. Faria MS, Muscara MN, Moreno Junior H, Teixeira SA, Dias HB, De Oliveira B, et al. Acute inhibition of nitric oxide synthesis induces anxiolysis in the plus maze test. Eur J Pharmacol 1997; 323: 37-43.

27. Volke V, Soosaar A, Koks S, Bourin M, Mannisto PT, Vasar E. 7-Nitroindazole, a nitric oxide synthase inhibitor, has anxiolytic-like properties in exploratory models of anxiety. Psychopharmacology (Berl) 1997; 131: 399-405.

28. Kurt M, Bilge SS, Aksoz E, Kukula O, Celik S, Kesim Y. Effect of sildenafil on anxiety in the plus-maze test in mice. Pol J Pharmacol 2004; 56: 353-57.

29. Volke V, Soosaar A, Koks S, Vasar E, Mannisto PT. L-Arginine abolishes the anxiolytic-like effect of diazepam in the elevated plus-maze test in rats. Eur J Pharmacol 1998; 351: 287-90.

30. Czech DA, Jacobson EB, LeSueur-Reed KT, Kazel MR. Putative anxiety-linked effects of the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME in three murine exploratory behavior models. Pharmacol Biochem Behav 2003; 75: 741-48.

31. Pokk P, Vali M. The effects of the nitric oxide synthase inhibitors on the behaviour of small-platform-stressed mice in the plus-maze test. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr 2002; 26: 241-47.

32. Monzon ME, Varas MM, De Barioglio SR. Anxiogenesis induced by nitric oxide synthase inhibition and anxiolytic effect of melanin-concentrating hormone (MCH) in rat brain. Peptides 2001; 22: 1043-47.

33. Forestiero D, Manfrim CM, Guimaraes FS, de Oliveira RM. Anxiolytic-like effects induced by nitric oxide synthase inhibitors microinjected into the medial amygdala of rats. Psychopharmacology (Berl) 2006; 184: 166-72.

34. Guimaraes FS, Beijamini V, Moreira FA, Aguiar DC, de Lucca AC. Role of nitric oxide in brain regions related to defensive reactions. Neurosci Biobehav Rev 2005; 29: 1313-22.

35. Moreira FA, Molchanov ML, Guimaraes FS. Ionotropic glutamate-receptor antagonists inhibit the aversive effects of nitric oxide donor injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. Psychopharmacology (Berl) 2004; 171: 199-203.

36. Trabace L, Kendrick KM. Nitric oxide can differentially modulate striatal neurotransmitter concentrations via soluble guanylate cyclase and peroxynitrite formation. J Neurochem 2000; 75: 1664-74.

37. Huang AM, Lee EH. Role of hippocampal nitric oxide in memory retention in rats. Pharmacol Biochem Behav 1995; 50: 327-32.

38. Philippu A, Prast H. Importance of histamine in modulatory processes, locomotion and memory. Behav Brain Res 2001; 124: 151-59.

www.SID.ir