

## اثر استرس مزمن و تجویز ممانتین داخل آمیگدالی بر تغییرات نسبت وزن و حجم مغز به وزن و حجم غده فوق کلیه در موش آزمایشگاهی

بهاره صادقی<sup>۱</sup>، دکتر حمیرا زردوز<sup>۲</sup>، دکتر هدایت صحرایی<sup>۳</sup>، ناهید سراحیان<sup>۴\*</sup>

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران. ۲- استادیار، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. ۳- استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** حجم و وزن بخش‌هایی از مغز مانند هیپوکمپ بعد از استرس مزمن کاهش پیدا می‌کند و در عوض حجم و وزن غده فوق کلیه افزایش می‌یابد. این مطالعه به منظور تعیین اثر استرس مزمن و تجویز ممانتین داخل آمیگدالی بر تغییرات نسبت وزن و حجم مغز به وزن و حجم غده فوق کلیه روی موش آزمایشگاهی تر انجام شد.

**روش بررسی:** این مطالعه تجربی به کمک دستگاه استریوتکس کانولگذاری یک طرفه و دو طرفه آمیگدال انجام شد. پس از یک هفته بهبودی حیوانات دوزهای متفاوت ممانتین ( $0.1 \mu\text{g}/\text{Mouse}$ ،  $0.5$  و  $1$ ) را پنج دقیقه قبل از شروع استرس دریافت کردند. شوک الکتریکی کف پا به صورت تصادفی و به مدت هفت روز متوالی به حیوانات القاء شد. در پایان روز هفتم، همگی حیوانات کشته شدند و مغز و غده فوق کلیه آنها در فرمالین ۴ درصد فیکس شد. حجم به روش غوطه‌وری در جیوه و وزن توسط ترازوی دقیق تعیین شد.

**یافته‌ها:** استرس موجب کاهش غیرمعنی‌دار میزان حجم مغز به حجم غده فوق کلیه و همچنین وزن مغز به وزن غده فوق کلیه گردید. تجویز ممانتین به داخل آمیگدال موجب مهار اثر استرس گردید ( $P < 0.05$ ). تجویز دوز کم و متوسط آن به آمیگدال راست و یا چپ باعث افزایش نسبت حجم و وزن مغز به حجم و وزن غده فوق کلیه گردید ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** ممانتین به صورت وابسته به دوز و محل تزریق موجب مهار اثر استرس در موش‌های تر می‌شود. در این ارتباط تجویز ممانتین به صورت یک طرفه به آمیگدال راست و یا چپ موثرتر است.

**کلید واژه‌ها:** غده فوق کلیه، مغز، آمیگدال، ممانتین، حجم، وزن

\* نویسنده مسؤل: ناهید سراحیان، پست الکترونیکی sarahiannahid@yahoo.com

نشانی: تهران، نیاوران، سه راه اراج، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، تلفن و نمابر ۰۲۱-۲۶۱۲۷۲۸۶

وصول مقاله: ۱۳۹۳/۱۲/۱۶، اصلاح نهایی: ۱۳۹۴/۴/۲۱، پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۵/۱۳

### مقدمه

در مطالعات متعددی ارتباط بین استرس‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی و پاتوژنز بیماری‌ها به‌طور گسترده مورد بحث قرار گرفته است. به‌طوری که محققان دریافته‌اند؛ استرس‌های متابولیک موجب اختلال در ساختار مغز و عملکرد شناختی در طول زندگی هر فرد می‌شوند (۳). حجم و وزن بخش‌هایی از مغز مانند هیپوکمپ بعد از استرس مزمن کاهش پیدا می‌کند و در عوض حجم و وزن غده فوق کلیه افزایش می‌یابد (۴). غده فوق کلیه نقش مهمی در پاسخ‌دهی به استرس دارد و بزرگ شدن قشر فوق کلیه و افزایش اندازه مدولای فوق کلیه یا محتوای کتکول آمینی آن در انواع مختلف استرس مزمن ثابت شده است (۵). یکی از اولین نشانه‌های تغییرات پاتولوژیکی بعد از قرار گرفتن در معرض استرس، کاهش نورون‌زایی در هیپوکمپ است که این امر کاهش حافظه را نیز به

استرس به منزله یک تهدید به منظور یکپارچه‌سازی فیزیولوژیکی و روانی اشخاص است که منجر به پاسخ‌های زیستی و رفتاری در شخص می‌شود (۱). زمانی که یک چالش درونی یا بیرونی به بدن تحمیل می‌شود؛ مجموعه‌ای از سیستم‌ها و فرآیندهایی فعال می‌شوند که سبب ایجاد یک پاسخ هماهنگ به عوامل استرس‌زا می‌گردد که به اصلاح به آن پاسخ استرسی می‌گویند. پاسخ‌های استرسی بخش جدایی‌ناپذیری از هر سیستم بیولوژیکی سازگار است که برای ادامه حیات ضروری هستند. استرس بر پلاستیسیته بسیاری از مناطق مغزی به ویژه آمیگدال، قشر پیش‌پیشانی و هیپوکمپ اثر می‌گذارد. استرس نقش قابل توجهی و اغلب با اثرات ماندگار در شکل‌گیری رفتار و عملکرد مغز دارد (۲).

برابر استرس از خود بروز می‌دهند (۱۳) و از آنجایی که در مطالعات قبلی ما اثر این نوع استرس بر میزان تغییرات حجم و وزن مغز بر حجم و وزن غده فوق کلیه در موش‌های ماده بررسی شد (۱۴)؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر استرس مزمن و تجویز ممانتین داخل آمیگدالی بر تغییرات نسبت وزن و حجم مغز به وزن و حجم غده فوق کلیه روی موش آزمایشگاهی نر انجام شد.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی بالغ (هشت هفته‌ای) نر نژاد NMRI با میانگین وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات در گروه‌های ۶ تایی با دوره روشنائی تاریکی طبیعی و در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. در هر سری آزمایش ۶ سر حیوان در دو گروه آزمایش و کنترل مورد استفاده قرار گرفت (۱۵). حیوانات برای سازش به محیط جدید حدود یک هفته قبل از شروع آزمایش به محل انجام آزمایش منتقل شدند. پروتکل نگهداری حیوانات بر اساس آیین‌نامه نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق پزشکی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) (۱۳۹۲/۲/۹) بود.

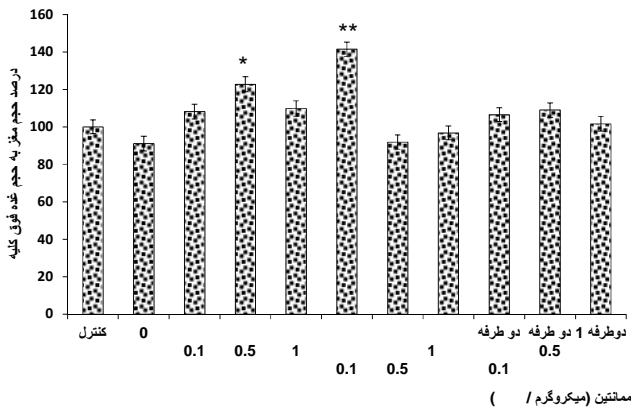
حیوانات توسط کتامین هیدروکلراید (۷-۵۰ mg/kg, i.p) (سیگما-آمریکا) و دیازپام هیدروکلراید (۷-۵ mg/kg, i.p) (سیگما-آمریکا) بیهوش شدند. ممانتین هیدروکلراید (سیگما-آمریکا) در دوزهای مختلف (۰/۵، ۰/۱، ۰/۵)  $\mu\text{g}/\text{Mouse}$  دقیقاً قبل از القا استرس به صورت داخل آمیگدالی تجویز شد. دوزهای تجویزی بر اساس تحقیقات قبلی بود (۱۴).

پس از بیهوشی یک یا دو عدد کانول راهنما از جنس استیل زنگ نزن (سرسوزن شماره ۲۳) توسط دستگاه استریوتکس طبق مختصات اطلس پاکسینو (۱۶) برای آمیگدال (عمق = ۴/۵ میلی‌متر، فاصله از شیار مرکزی = ۲/۵ میلی‌متر، و فاصله طولی = ۰/۸ میلی‌متر) در سر حیوان کار گذاشته شد. کانول راهنما ۵۰۰ میکرومتر بالاتر از آمیگدال قرار گرفت و توسط آکریل و مونومر دندانبزشکی در جای خود محکم شد. پس از جراحی به حیوانات یک هفته اجازه بهبودی داده شد. هنگام تزریق داخل آمیگدالی حیوانات به آرامی با دست مهار شدند و کانول تزریقی (سر سوزن شماره ۳۰ دندانبزشکی) با طول ۵۰۰ میکرومتر بلندتر از کانول راهنما داخل آن قرار گرفت و دارو به آرامی توسط سرنگ هامیلتون با حجم ۵ میکرولیتر (۰/۲۵ میکرولیتر در هر طرف) به مدت ۶۰ ثانیه تزریق شد. پس از اتمام تزریق کانول تزریق به مدت ۶۰ ثانیه برای انتشار دارو در محل باقی ماند و سپس به آرامی خارج شد.

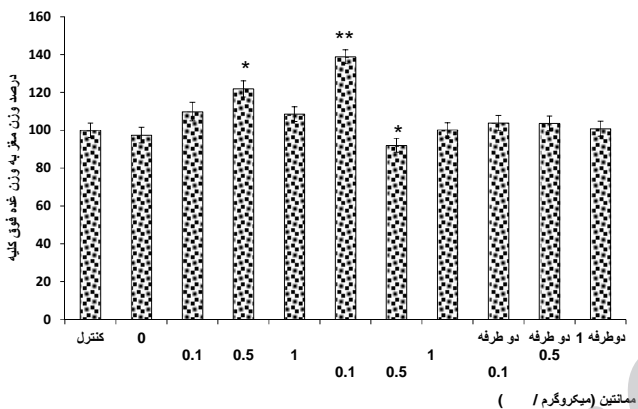
استرس به وسیله دستگاه Communication Box (ساخت شرکت برج صنعت، تهران، ایران) به حیوانات القا شد. این دستگاه

دنبال دارد (۶). در آزمایشی که بر روی میمون‌های متولد شده در طبیعت انجام شد؛ مشخص گردید استرس طولانی مدت (اسارت) موجب هیپرتروفی غده آدرنال می‌شود (۲). شواهد گسترده نشان می‌دهند اثرات هورمون‌های استرسی آزاد شده از غده فوق کلیه (آدرنالین و گلوکوکورتیکوئیدها) بر افزایش تثبیت حافظه به یکپارچگی سیستم نورآدرنژیک آمیگدال بستگی دارد (۷). آمیگدال محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - فوق کلیه (HPA) را فعال می‌کند به خصوص هسته‌های میانی و مرکزی آمیگدال نقش مهمی در کاهش یا افزایش فعالیت محور HPA دارند و آسیب به این هسته‌ها موجب کاهش ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) از هیپوفیز و به دنبال آن کاهش ترشح گلوکوکورتیکوئیدها از غده فوق کلیه می‌شود (۸). آمیگدال ساختار مهمی در یکپارچه‌سازی عوامل حسی و شناختی دارد؛ به خصوص آمیگدال بازولترال که هدف اصلی برای اثرات استرس بر احساسات است. استرس‌های مکرر موجب تغییر مورفولوژی نورون‌های آمیگدال بازولترال در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی بالغ می‌شود (۹). استرس مزمن موجب افزایش تخریب بافت‌های عصبی می‌شود و حجم نواحی لیمبیک مغز (هیپوکمپ، هسته آکومبانس، آمیگدال بازولترال و قشر پیش‌پیشانی) در افراد میانسال و مسن در اثر اختلالات مرتبط با استرس نظیر افسردگی کاهش می‌یابد (۱۰). ممانتین آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده‌های NMDA با میل ترکیبی کم است که گیرنده‌های استیل کولینی را نیز مهار می‌کند. این دارو در حال حاضر برای درمان اختلالات عصبی مانند اشکال مختلف زوال عقل، گلوکوم، افسردگی و دردهای شدید نوروپاتییک تجویز می‌شود. مزیتی که این دارو نسبت به سایر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتاماتی دارد این است که پتانسیل سوء مصرف ندارد و بدون اختلال در فعالیت طبیعی گیرنده موجب مهار آن می‌شود (۱۱).

توانایی سیستم عصبی به انتقال سریع اطلاعات حسی و حرکتی پیچیده، از یک بخش از بدن به بخش دیگر تا حدود زیادی وابسته به انتقال دهنده گلوتامات است. نوروترنسمیترهای تحریکی دیگری نیز در مغز وجود دارند؛ اما گلوتامات یکی از شایع‌ترین آنهاست که به صورت گسترده‌ای در مغز توزیع شده است و بیشتر نورون‌ها حاوی غلظت‌های بالایی از گلوتامات هستند (۱۲). فعالیت طبیعی و فیزیولوژیک گیرنده‌های NMDA (N-متیل-D-آسپاراتات) برای فعالیت طبیعی عصبی و محافظت نورونی ضروری است؛ ولی فعالیت بیش از حد آن موجب هجوم بیش از حد یون کلسیم به درون سلول می‌شود که این امر موجب سمیت تحریکی و مرگ سلولی می‌گردد (۱۲). از آنجایی که میزان حساسیت جنس نر و ماده در برابر استرس متفاوت است و گاه حتی جنس نر و ماده پاسخ‌های متضادی در



نمودار ۱: اثر القا استرس مزمن و تجویز ممانتین داخل آمیگدالی بر نسبت درصد حجم مغز به حجم غده فوق کلیه حیوانات (n=6) دوزهای مختلف ممانتین (0/5، 0/1، 1) را 5 دقیقه قبل از القاء استرس دریافت کردند. \* P<0/05، \*\* P<0/01 نسبت به گروه استرس و یا گروه کنترل



نمودار ۲: اثر استرس بر نسبت درصد وزن مغز به وزن غده فوق کلیه و تاثیر تجویز داخل آمیگدالی ممانتین بر این متغیر حیوانات (n=6) دوزهای مختلف ممانتین (0/5، 0/1، 1) را 5 دقیقه قبل از القاء استرس دریافت کردند. \* P<0/05، \*\* P<0/01 نسبت به گروه استرس و یا گروه کنترل

### بحث

این مطالعه نشان داد که استرس موجب کاهش میزان حجم مغز به حجم غده فوق کلیه و همچنین کاهش وزن مغز به وزن غده فوق کلیه می‌شود. البته این کاهش در نسبت حجم و وزن از نظر آماری معنی دار نبود. تجویز ممانتین به عنوان مهار کننده گیرنده‌های NMDA اثر استرس را مهار کرد و بیشترین اثر را در مهار استرس در دوز کم و متوسط آن هم به صورت تجویز در داخل آمیگدال راست و یا چپ داشت. این امر وابسته به دوز بودن ممانتین را نشان می‌دهد. همچنین تجویز ممانتین به آمیگدال به صورت دوطرفه اثری بر مهار یا تقویت اثر استرس نداشت. تحقیقات قبلی نیز ثابت کرده‌اند مهار گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی می‌تواند از اثرات استرس القا شده به موجودات جلوگیری کند (۱۸). در تحقیق قبلی ما که بر روی موش‌های ماده انجام شد؛ مشخص گردید گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی به خصوص در هسته آکومبانس یکی از واسطه‌های مهم

متشکل از ۹ قسمت مجزا (۵۰×۱۶×۱۶ cm) (طول×عرض×ارتفاع) از جنس پلکسی گلاس با سوراخ‌های ریز است و کف دستگاه دارای میله‌های استیل به قطر ۴ میلی‌متر است که در فواصل ۱/۳ سانتی‌متری از هم قرار گرفته‌اند. این میله‌ها به ژنراتوری متصل به کامپیوتر وصل شده و ولتاژ و مدت زمان القا شوک (ولتاژ ۴۰ میلی‌ولت، فرکانس ۱۰ هرتز و به مدت ۱۰۰ ثانیه به صورت تصادفی) توسط کاربر تعیین شد. شوک الکتریکی کف پا به مدت هفت روز به صورت تصادفی بین ساعات ۱۳-۹ القا شد. حیوانات یک ساعت قبل از آزمایش به منظور سازش با محیط به اتاق آزمایش منتقل شدند و پس از ۳۰ دقیقه شوک الکتریکی القا شد. پس از اتمام شوک حیوانات به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه باقی ماندند. سپس به قفس‌های خود منتقل شدند. طی هفت روز القا استرس مرگ و میری در حیوانات دیده نشد. حیوانات گروه کنترل نیز به مدت ۶۰ دقیقه بدون القا شوک در دستگاه قرار گرفتند. حیوانات به صورت تصادفی در گروه‌های کنترل و استرس قرار گرفتند. پس از اتمام هفت روز استرس، حیوانات با دوز بالای کتامین کشته شدند و مغز و غدد فوق کلیه آنها خارج شد و در محلول فرمالین ۴ درصد برای فیکساسیون قرار گرفت. پس از گذشت ۳۰ روز نمونه‌های مغز و غدد فوق کلیه برای اندازه‌گیری از محلول فرمالین خارج شدند و با ترازوی سارتریوس با دقت ۰/۱ میلی‌گرم وزن شدند. سپس حجم آنها نیز به روش غوطه‌وری در جیوه اندازه‌گیری شد (۱۷). نسبت حجم مغز به حجم غده فوق کلیه و همچنین وزن مغز به وزن غده فوق کلیه محاسبه شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماري SPSS-15 و آزمون آنالیز واریانس سه‌طرفه (با در نظر گرفتن سمت، استرس و ممانتین به عنوان سه عامل) و به دنبال آن تست توکی تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردید. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معیار معنی‌داری اختلاف‌ها در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

استرس موجب کاهش غیرمعنی‌دار نسبت حجم مغز به حجم غده فوق کلیه گردید. تجویز داخل آمیگدالی ممانتین موجب مهار اثر استرس به صورت وابسته به دوز و سمت تزریق شد. به عبارت دیگر، تزریق دوز ۰/۵ و ۰/۱ ممانتین به آمیگدال راست و چپ بیشترین اثر را بر این روند و افزایش حجم مغز به حجم فوق کلیه نشان داد. نتایج ما به تداخل بین سمت تزریق و ممانتین در کاهش اثرات استرس تاکید دارد (نمودار یک).

استرس موجب کاهش غیرمعنی‌دار وزن مغز به وزن غده فوق کلیه شد. تجویز داخل آمیگدالی ممانتین نیز به جز در دوز متوسط آمیگدال راست موجب مهار اثر استرس شد و تجویز دوطرفه دارو به آمیگدال نیز اثری بر این روند نداشت (نمودار ۲).

گلو تاماتی دارد؛ به نظر می‌رسد با مهار این خروجی‌ها با استفاده از ممانتین، اثرات بعدی مربوط به تحریک شدن مسیر هیپوتالاموس - هیپوفیز - فوق کلیه از بین می‌رود. به این ترتیب، فهم اثرات ممانتین در مهار اثر استرس در کاهش وزن مغز و افزایش وزن غده فوق کلیه قابل درک است. از سوی دیگر، تحقیقات نشان داده‌اند استرس انتقال نوروترنسمیترهای تحریکی را در قشر پیش پیشانی، هیپوکمپ و آمیگدال افزایش می‌دهد (۲۶). با توجه به این که در تحقیقات قبلی نشان داده شده ممانتین قادر به مهار اثر استرس در ترشح گلو کورتیکوئیدها است (۲۷)؛ به نظر می‌رسد تجویز ممانتین با مهار ترشح گلو کورتیکوئیدها باعث مهار اثر استرس در کاهش حجم و وزن مغز می‌شود. امر مهم در این یافته آن است که کاهش حجم مغز باعث کاهش فعالیت‌های شناختی نظیر حافظه و یادگیری می‌شود (۲۸) که در نهایت می‌تواند باعث کاهش توان تصمیم‌گیری فرد گردد و به این ترتیب توانایی فرد را در مواجهه با شرایط مختلف زندگی کاهش می‌دهد (۲۹) و عدم کاهش حجم و وزن مغز ممکن است این تخریب‌ها را کاهش دهد. از سوی دیگر، تحقیقات قبلی نشان داده‌اند تحریک مداوم (مزمن) سلول‌های ناحیه فاسیکولوتای غده فوق کلیه توسط هورمون ACTH باعث افزایش حجم و تعداد (هیپرپلازی) این سلول‌ها می‌گردد که در نتیجه ترشح گلو کورتیکوئیدها از این سلول‌ها در پاسخ به هر نوع استرس افزایش می‌یابد (۲۵). این افزایش هورمون‌های گلو کورتیکوئیدی به معنای افزایش پاسخ‌های استرسی و مهم‌تر از همه کاهش حجم مغز می‌شود. در کار ما، کاهش حجم و وزن غده فوق کلیه و یا عدم افزایش آن در حضور ممانتین، به معنی کاهش فعالیت سیستم استرسی هیپوتالاموس - هیپوفیز - فوق کلیه است که می‌تواند به بهبود شرایط فرد در هنگام استرس کمک کند. البته در این مطالعه میزان هورمون کورتیکوسترون پلاسما سنجیده نشد؛ ولی تحقیقات قبلی ما نشان دادند که استرس شوک الکتریکی کف پا موجب افزایش میزان این هورمون در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌شود (۳۰).

پیشنهاد می‌گردد اثربخشی گیرنده‌های گلو تاماتی NMDA موجود در آمیگدال در بهبود کارهای شناختی مانند حافظه فضایی در تحقیقات بعدی مورد توجه قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که گیرنده‌های گلو تاماتی NMDA موجود در آمیگدال نقش مهمی در کنترل پاسخ‌های استرسی و جلوگیری از تخریب بافت مغز ناشی از استرس دارند و این نقش در مهار کاهش حجم و وزن مغز نشان داده شد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم بهاره صادقی برای اخذ درجه

در بروز اثرات تخریبی استرس مزمن در کاهش حجم و وزن مغز و در مقابل افزایش حجم و وزن غده فوق کلیه هستند (۱۴). یکی از راه‌هایی که هورمون‌های استرسی از طریق آن عملکرد مغز را تنظیم می‌کنند؛ تغییر در ساختارهای نورونی مغز است. مطالعات انسانی نشان داده‌اند افزایش میزان هورمون‌های استروئیدی در اثر استرس موجب کوچک شدن حجم هیپوکمپ و اختلال حافظه می‌شود (۱۹). البته به نظر می‌رسد این تغییرات در حجم هیپوکمپ با ورزش و ایجاد تغییرات مثبت در محیط تا حدودی قابل برگشت باشند (۲۰). استرس بیان چندین عامل رشد مانند عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و عامل رشد شبه انسولینی ۱ (IGF-1) را که می‌تواند بر نورون‌زایی اثرگذار باشد؛ کاهش می‌دهد (۲۱). در افراد مبتلا به اختلال پس از سانحه (PTSD)، مطالعات MRI نشان داده حجم بخش‌هایی از مغز مانند آمیگدال، هیپوکمپ و قشر پیش پیشانی کاهش می‌یابد (۲۲). افرادی که سابقه استرس در دوران کودکی داشته‌اند؛ حجم قشر پیش پیشانی (PFC) و هیپوکمپ کوچک‌تر و فعالیت محور HPA بیشتری را نسبت به سایر افراد دارند (۲۳). در این افراد خطر ابتلا به بیماری آلزایمر نیز افزایش پیدا می‌کند (۲۴). تجویز سیستمیک آنتاگونیست NMDA در جوندگانی که تحت استرس مزمن بودند؛ اثرات ضد استرسی داشت (۱۴). البته در این مطالعه اثر تجویز داخل صفاقی ممانتین بر کاهش اثر استرس در میزان حجم و وزن مغز به غده فوق کلیه بررسی نشد؛ اما تحقیق قبلی ما که بر روی موش‌های ماده انجام شد؛ نشان داد تجویز داخل صفاقی ممانتین هم باعث مهار اثر استرس می‌شود (۱۴). در هر حال این تحقیق نیز نشان می‌دهد که حجم و وزن مغز در موش‌های نر استرس دیده کاهش و در عوض حجم و وزن غده فوق کلیه افزایش می‌یابد. همخوان با نتایج ما، تحقیقات متعددی نشان داده‌اند حجم و وزن غده فوق کلیه در حیوانات استرس دیده به شدت افزایش می‌یابد. این افزایش وزن و حجم بیشتر در ناحیه فاسیکوله این غده رخ می‌دهد و دلیل آن را افزایش اندازه و تعداد سلول‌های این ناحیه در پاسخ به هورمون ACTH ترشح شده از هیپوفیز می‌دانند (۲۵). در تحقیق حاضر نیز همین مکانیسم‌ها ممکن است درگیر بوده و اثرات خود را نشان داده باشند. از سوی دیگر، تجویز داخل آمیگدالی ممانتین، اثر استرس را در کاهش حجم و وزن مغز کاهش داد. آمیگدال نقش مهمی را در تبدیل تحریکات استرسی وارد شده به پاسخ‌های استرسی در مغز در زمان القا استرس ایفا می‌کند. این اثر با تحریک ترشح عامل آزادکننده کورتیکوتروپین (CRF) از هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس است که در نهایت به ترشح ACTH از هیپوفیز قدامی و گلو کورتیکوئیدها از غده فوق کلیه منجر می‌شود (۸). بیشترین اثر آمیگدال در این زمینه از طریق هسته مرکزی آن است و چون این هسته ورودی و خروجی‌های متعدد

علوم اعصاب دانشکده پزشکی دانشگاه بقیه الله (عج) تهران به‌خاطر حمایت مالی سپاسگزاری می‌نماییم.

کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی از گروه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال بود. بدین‌وسیله از مرکز تحقیقات

## References

- McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Dialogues Clin Neurosci*. 2006; 8(4): 367-81.
- Lucassen PJ, Pruessner J, Sousa N, Almeida OF, Van Dam AM, Rajkowska G, et al. Neuropathology of stress. *Acta Neuropathol*. 2014 Jan; 127(1): 109-35. doi: 10.1007/s00401-013-1223-5
- Mattson MP. Energy intake and exercise as determinants of brain health and vulnerability to injury and disease. *Cell Metab*. 2012 Dec; 16(6): 706-22. doi: 10.1016/j.cmet.2012.08.012
- McEwen BS, Gianaros PJ. Central role of the brain in stress and adaptation: links to socioeconomic status, health, and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Feb; 1186: 190-222. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05331.x
- Bali A, Jaggi AS. Preclinical experimental stress studies: protocols, assessment and comparison. *Eur J Pharmacol*. 2015 Jan; 746: 282-92. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.10.017
- Becker S, Macqueen G, Wojtowicz JM. Computational modeling and empirical studies of hippocampal neurogenesis-dependent memory: Effects of interference, stress and depression. *Brain Res*. 2009 Nov; 1299: 45-54. doi: 10.1016/j.brainres.2009.07.095
- Roozendaal B, Barsegyan A, Lee S. Adrenal stress hormones, amygdala activation, and memory for emotionally arousing experiences. *Prog Brain Res*. 2008; 167: 79-97.
- Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005 Dec; 29(8): 1201-13.
- Padival MA, Blume SR, Vantrease JE, Rosenkranz JA. Qualitatively different effect of repeated stress during adolescence on principal neuron morphology across lateral and basal nuclei of the rat amygdala. *Neuroscience*. 2015 Apr; 291: 128-45. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.02.012
- Russo SJ, Nestler EJ. The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2013 Sep; 14(9): 609-25. doi: 10.1038/nrn3381
- Lipton SA. The molecular basis of memantine action in Alzheimer's disease and other neurologic disorders: low-affinity, uncompetitive antagonism. *Curr Alzheimer Res*. 2005 Apr; 2(2): 155-65.
- Chen HS, Lipton SA. The chemical biology of clinically tolerated NMDA receptor antagonists. *J Neurochem*. 2006 Jun; 97(6): 1611-26.
- Luine VN, Beck KD, Bowman RE, Frankfurt M, Macluskus NJ. Chronic stress and neural function: accounting for sex and age. *J Neuroendocrinol*. 2007 Oct; 19(10): 743-51.
- Sarahian N, Sahraei H, Zardoos H, Alibeik H, Sadeghi B. [Effect of intra-accumbens memantine administration on brain and adrenal weight and volume changes following chronic stress in female NMRI mice]. *Modares Journal of Medical Sciences*. 2014; 17(2): 71-82. [Article in Persian]
- Hunter JE, Butterworth J, Perkins ND, Bateson M, Richardson CA. Using body temperature, food and water consumption as biomarkers of disease progression in mice with Eμ-myc lymphoma. *Br J Cancer*. 2014 Feb; 110(4): 928-34. doi: 10.1038/bjc.2013.818
- Paxinos G, Franklin KBJ. The mouse brain in stereotaxic coordinates. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego: Academic Press. 2001.
- Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnani S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2000 Jan-Feb; 43(1): 11-4.
- Martin KP, Wellman CL. NMDA receptor blockade alters stress-induced dendritic remodeling in medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2011 Oct; 21(10): 2366-73. doi: 10.1093/cercor/bhr021
- Lindauer RJ, Olff M, van Meijel EP, Carlier IV, Gersons BP. Cortisol, learning, memory, and attention in relation to smaller hippocampal volume in police officers with posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2006 Jan; 59(2): 171-7.
- Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Feb; 108(7): 3017-22. doi: 10.1073/pnas.1015950108
- Schmidt HD, Duman RS. The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. *Behav Pharmacol*. 2007 Sep; 18(5-6): 391-418.
- Starcevic A, Postic S, Radojicic Z, Starcevic B, Milovanovic S, Ilankovic A, et al. Volumetric analysis of amygdala, hippocampus, and prefrontal cortex in therapy-naive PTSD participants. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 968495. doi: 10.1155/2014/968495
- Danese A, McEwen BS. Adverse childhood experiences, allostasis, allostatic load, and age-related disease. *Physiol Behav*. 2012 Apr; 106(1): 29-39. doi: 10.1016/j.physbeh.2011.08.019
- Rasgon NL, Kenna HA. Insulin resistance in depressive disorders and Alzheimer's disease: revisiting the missing link hypothesis. *Neurobiol Aging*. 2005 Dec; 26 (Suppl 1): 103-7.
- Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC, Herman JP. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006 Nov; 291(5): E965-73.
- Lei Y, Tejani-Butt SM. N-methyl-d-aspartic acid receptors are altered by stress and alcohol in Wistar-Kyoto rat brain. *Neuroscience*. 2010 Aug; 169(1): 125-31. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.05.003
- Sadat Nasihatkon Z, Khosravi M, Bourbour Z, Sahraei H, Ranjbaran M, Hassantash SM, et al. Inhibitory effect of NMDA receptors in the ventral tegmental area on hormonal and eating behavior responses to stress in rats. *Behav Neurol*. 2014 (2014): Article ID 294149. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/294149>
- Elcombe EL, Lagopoulos J, Duffy SL, Lewis SJ, Norrie L, Hickie IB, et al. Hippocampal volume in older adults at risk of cognitive decline: the role of sleep, vascular risk, and depression. *J Alzheimers Dis*. 2015; 44(4): 1279-90. doi: 10.3233/JAD-142016
- Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*. 2009 Jul; 5(7): 374-81. doi: 10.1038/nrendo.2009.106
- Osanloo N, Sarahian N, Zardoos H, Sahraei H, Sahraei M, Sadeghi B. Effects of Memantine, an NMDA antagonist, on metabolic syndromes in female NMRI mice. *Basic Clin Neurosci*. 2015 Oct; 6(4): 239-52.

Original Paper

## Effect of chronic stress and intra-amygdal memantine administration on alterations of brain's volume and weight to volume and weight ratio of the adrenal gland in male mice

Sadeghi B (M.Sc)\*<sup>1</sup>, Zardooz H (Ph.D)<sup>2</sup>, Sahraei H (Ph.D)<sup>3</sup>, Sarahian N (M.Sc)\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>M.Sc in Physiology, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. <sup>3</sup>Professor, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

---

### Abstract

**Background and Objective:** After chronic stress, brain volume and weight reduces and in turn, adrenal weight and volume increases. This study was performed to determine the effect of chronic stress and memantine administration within amygdala on the alterations of brain's volume and weight ratio to volume and weight of the adrenal gland on male mice.

**Methods:** In this experimental study, bi- or unilateral amygdala cannulation was performed stereotaxically. A week after recovery, animals were received different doses of memantine (1, 0.5, and 0.1 µg/mouse), five min before stress induction. Electric foot shock induced to animals for seven consecutive days. At the end of the seventh day, animals were sacrificed and their brain and adrenal glands were fixed in formalin 4%. The volume and weight was determined by mercury immersion and accurate balance respectively.

**Results:** Stress non- significantly reduced brain's volume ratio to volume of the adrenal gland and brain's weight ratio to weight of the adrenal gland. Memantine administration within amygdala inhibited stress effect. Memantine administration in low and medium doses within right and left amygdala significantly increased brain's volume and weight ratio to volume and weight of the adrenal gland ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Memantine dose and side dependently inhibits the effect of induced stress in male mice. Also, unilateral memantine administration within the left and right amygdala was more effective.

**Keywords:** Adrenal Gland, Brain, Amygdala, Memantine, Volume, Weight

---

\* Corresponding Author: Sarahian N (M.Sc), E-mail: sarahiannahid@yahoo.com

Received 7 Mar 2015

Revised 12 Jul 2015

Accepted 4 Aug 2015