اثر تزریق نیکوتین در هسته اکومبنس قاعده مغز رت بر فرآیند اضطراب

بتول قربانی یکتا[1*]
محمد ناصحی،[2] شهرزاد خاکپور[1]
محمد رضا زرین دست[3]
یزدان شفی خانی[4]

۱- گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران.
۳- گروه علوم اعصاب، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۴- باشگاه پژوهش‌گران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان دکتر شریعتی، خیابان خاقانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران.
تلفن: ۰۲۱-۲۲۰۰۶۶۶۰
E-mail: bahareh59gh@yahoo.com

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۸

زمینه و هدف: شناخت مسیرهای نورونی درگیر در هسته اکومبنس قاعده مغزی بر اساس گزارش‌های قبلی نقش مهمی در اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی افسردگی، اضطراب و اعتیاد دارد. اما چگونگی این مکانیسم‌ها در مغز روشن نیست. در این راستا نیکوتین به طور مستقیم در هسته اکومبنس مغز تزریق شد تا نقش فرآیندهای شبه اضطرابی آن در این هسته در دستگاه ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (Elevated plus maze) موش صحرایی نر بررسی گردد.

روش بررسی: در این تحقیق از موش‌های صحرایی استفاده شد. پس از بیهوشی ابتدا در ناحیه پوسته هسته اکومبنس مغز، با استفاده از دستگاه استریوتاکسی عمل جراحی و کانول‌گذاری دو طرفه انجام شد. بعد از کانولاگذاری به مدت یک هفته به موش‌های جراحی‌شده اجازه داده شد تا بهبودی کامل را به‌دست آورند. بعد از بهبودی، رفتار اضطرابی و فعالیت حرکتی حیوانات با استفاده از ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع آزمایش‌شده و اثر تزریق داروهای مورد نظر در هسته‌ی اکومبنس بر روی رفتار اضطرابی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: آزمایش‌های انجام گرفته نشان داد که تزریق دو طرفه نیکوتین (Nicotine)، آگونیست گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین دوز ۰/۱ از میان دوزهای (۰/۵ و ۰/۲۵، ۰/۱، ۰/۰۵) میکروگرم بر رت، درون هسته نوکلئوس اکومبنس مغز باعث افزایش معنی‌داری در درصد زمان سپری‌شده در بازوهای باز نسبت به گروه کنترل می‌شود (P=۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: گیرنده‌های نیکوتینی نورون‌های موجود در پوسته هسته اکومبنس قاعده مغز در رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرایی نر موثر است.

کلمات کلیدی: نیکوتین، اضطراب، هسته اکومبنس، موش صحرایی نر.

مقدمه

نوکلئوس اکومبنس (Nucleus Accumbens, NAC) هسته‌ای در مغز است که در انگیزش پاداش، اعمال حرکتی و یادگیری نقش دارد. مطالعات مختلف اثبات می‌نماید که NAC نقش مهمی در اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی افسردگی، اضطراب و اعتیاد دارد. سوءمصرف دارو به مدت طولانی و استرس‌های مزمن باعث کاهش علاقه و لذت می‌گردد که هسته اصلی بیماری‌های افسردگی و اضطراب در انسان و جوندگان می‌باشد.[1] مسیرهای پاداش در ارتباط با اعتیاد منتهی به NAC می‌گردند.[2] اضطراب مزمن باعث تغییر در نوروشیمی NAC و ایجاد فنوتیپ افسردگی می‌گردد.[3]

اختلالات اضطرابی در ۱۸٪ جمعیت شیوع داشته و در طول زندگی ۳۰/۵٪ زنان و ۱۹/۲٪ مردان به آن ابتلا می‌شوند. اضطراب ناشی از تغییر در فعالیت‌های سیستم عصبی مغزی می‌باشد.[4] از سویی دیگر اعتیاد و سوءمصرف دارو نیز باعث تغییرات در نوروشیمی مغزی می‌گردد. ۷۷٪ معتادین در گروه سنی ۲۰-۱۴ سال قرار دارند. طبق گزارش انجمن ملی سوءمصرف مواد مخدر ۲/۵ میلیون جوان ۱۷-۱۲ سال به‌طور مداوم مواد مخدر استفاده نموده و در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-04]

خانواده‌هایی زندگی می‌کنند که آن‌ها نیز سوء مصرف مواد مخدر دارند.[۴] مطالعات مختلف و تجربیات بالینی نشان داده‌اند که اشتیاق به مصرف می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلف از قبیل شرایط اجتماعی، فشارهای روانی و اضطراب قرار گیرد، اما مشخص نمودن تأثیر سوء مصرف مواد بر جامعه مشکل است زیرا که بسیاری از عوارض آن سال‌ها بعد آشکار می‌شود. لیکن عواقب و خسارت‌های اقتصادی، بهداشتی- روانی و اجتماعی آن بر کسی پوشیده نیست.[۴] اضطراب و افسردگی در تمام مراحل زندگی معتاد مشهود است.[۵] وقوع اضطراب به‌دنبال ترک مصرف مواد مانند سیگار به چشم می‌خورد.[۶] بنابراین به نظر می‌رسد که اضطراب و اعتیاد به یکدیگر مرتبط بوده و مطالعات مختلف مروری تأییدکننده درگیری هسته اکومبنس مغز در فرآیندهای اضطراب و اعتیاد می‌باشد.[۷و۱]

بررسی عوامل نوروترانسمیتری کنترل‌کننده، تنظیم‌کننده و دخیل در این هسته مغزی راه‌گشای گروه کلانی از شیوه‌های کنترل، مهار، درمان اضطراب و اعتیاد خواهد بود. در بین سیستم‌های انتقال‌دهنده عصبی درگیر در این هسته با توجه به تکنیک‌های آزمایشگاهی و امکانات موجود، نیکوتین انتخاب گردید، چرا که نقش نیکوتین در مطالعات گذشته در اعتیاد و اضطراب وجود داشته و هم‌چنین در NAC دارای گیرنده‌های فراوانی می‌باشند.[۲و۱] با توجه به این‌که بخش قابل ملاحظه‌ای از شناخت اخیر ما در مورد سبب‌شناسی، عصب‌شناسی و به خصوص دارو درمانی مشکلات رفتاری بر اساس مدل آزمایشگاهی تجربی رفتار اضطراب در حیوانات می‌باشد، در این مدل‌ها نیکوتین به صورت میکرولیتر در هسته اکومبنس تزریق شده و پاسخ‌های حیوان در شرایط کنترل شده می‌تواند نقطه اتکای قوی را برای نقش هسته اکومبنس و مسیرهای نورونی درگیر آشکار سازد. پاسخ به این پرسش‌ها به درک بهتر مسیرهای نورونی و شناخت صحیح‌تر نوروفیزیولوژی اعتیاد و اضطراب و ساخت داروهایی با کارایی بهتر و اثرات جانبی کم‌تر می‌انجامد. هدف از این تحقیق، بررسی اثرات شبه اضطرابی نیکوتین در هسته اکومبنس است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع بنیادی (Experimental) می‌باشد که در تیرماه سال ۱۳۸۹ تا آذر ۱۳۹۰ در آزمایشگاه علوم اعصاب دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران انجام شده است. موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن حدود ۳۰۰-۲۸۰ گرم از موسسه سرم‌سازی رازی تهیه گردیده و سپس در شرایط استاندارد خانه حیوانات تحت شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. آب و غذای کافی در تمام مدت به اندازه کافی در اختیار جانوران قرار گرفت. آب و غذای فشرده شده مخصوص (پلت) به جز در هنگام جراحی و آزمایش به طور کامل در اختیار حیوانات قرار گرفت. داروها مورد استفاده در این تحقیق که نیکوتین Nicotine بود از شرکت سیگما (Sigma, Poole, Dorset, UK) تهیه گردید.

جراحی و کانول‌گذاری در مغز حیوان: با تزریق درون صفاقی کتامین ۱۰٪ به میزان Ketamine (Trittau Co, Germany) ۵۰mg/kg بیهوشی انجام شد. برای جلوگیری از سفتی عضلات در هنگام بیهوشی، زایلزین Xylazine (Trittau Co, Germany) ۴mg/kg با کتامین به ترتیب با نسبت یک به پنج قبل از تزریق مخلوط شدند. سپس، موهای روی سر از فاصله دو چشم تا دو گوش تراشیده شده و حیوان در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفت، در این وضعیت میله‌های گوشی (Ear bar) در فرورفتگی مربوط به صندوق صماخی و دندان‌های پیشین در داخل سوراخ میله دندانی Incisor bar جاسازی می‌شوند. بر طبق اطلس Paxinos و Watson میله دندانی باید در حدود ۳/۳ میلی‌متر زیر صفر باشد تا سطح جمجمه در داخل دستگاه کاملا به‌صورت افقی قرار بگیرد. با پنبه آغشته به بتادین سطح پوست سر جانور ضد عفونی شده و توسط تیغ جراحی استریل یک برش از فاصله بین چشم‌ها تا گوش‌ها در خط وسط (در امتداد شیار ساژیتال میانی جمجمه) داده شد.

بعد از برش با کنار زدن پوست سر، به‌وسیله پنبه و الکل سفید تمام چربی‌هایی که بین پوست و استخوان جمجمه است به طور کامل برداشته شدند. بعد از این که سطح جمجمه کاملا خشک شد، نقطه برگما (Bregma) محل تقاطع درز تاجی (Coronal suture) و درز سهمی (Sagital suture)، لامبدا (Lambda) و خط وسط آن کاملا مشخص می‌شدند. با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۸۶) مشخصات منطقه هسته نوکلئوس اکومبنس مغز (NAC) مشخص گردید Posterior to mm ۱+=(AP) Bregma از براگما، ۱mm±=(L) Lateral to the Midline از خط وسط و ۷/۳=(V) Vertical to the D

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-04]

Dorsal surface of the skull مشخص شد. سپس با استفاده از جدول و نشان‌دار کردن مکان‌هایی که کانول باید در آن قرار گیرد و با استفاده از مته، این مکان‌ها با دقت سوراخ می‌شدند. قبل از کانول‌گذاری با استفاده از سر مته ۰/۷ دو سوراخ کم عمق در پایین مکان مربوط به کانول، در سمت راست خط میانی و دیگری در سمت چپ خط میانی، ایجاد شده و دو عدد پیچ ظریف استریل شده در آن قرار داده شده و محکم گردیدند. این‌کار به این منظور است که در طول آزمایش سیمان محکم به سطح بچسبد و از آن جدا نشود. سپس با استفاده از دستگاه استریوتاکسی (Stereotactic instrument, Stoelting Co., Illinois, USA) دو کانول Gauge ۲۲ به طول ۱۳ میلی‌متر در داخل سوراخ‌هایی که پیش‌تر توسط سر مته ۰/۷ ایجاد شده بود قرار می‌گرفتند. البته این کار به طور هم‌زمان صورت نمی‌گرفت. ابتدا کانول سمت چپ در مکان خود طبق نقشه قرار داده شد. سپس به‌وسیله آکریل مونومر دندان‌پزشکی کنار کانول پر شد و پس از این‌که به‌طور کامل سفت شد کانول دیگر در جای خود قرار داده شده و با ریختن سیمان در اطراف آن، هر دو کانول محکم به سطح جمجمه اتصال داده شدند.

این کانول‌ها یک میلی‌متر بالاتر از منطقه NAC قرار می‌گرفتند. برای جلوگیری از بسته شدن کانول‌ها یک سیم نازک استریل شده در داخل کانول‌ها قرار داده شد. بعد از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی داروها به حیوان پنج تا هفت روز استراحت (Recovery) داده شد تا استرس و تخریب بافتی احتمالی که توسط جراحی صورت گرفت از بین برود و حیوان به حالت عادی خود برگردد.

تزریق درون مغزی دارو: برای تزریق دارو از کانول شماره ۳۰ دندان‌پزشکی به طول ۱۵ میلی‌متر استفاده می‌شد که دو میلی‌متر بزرگ‌تر از کانول راهنما است و به طور دقیق به NAC رسیده ولی به آن آسیب نمی‌زند. برای تزریق از سرنگ هامیلتون (Hamilton) دو میکرولیتر استفاده شد و مراحل تزریق به این ترتیب بود که بعد از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۳۰ دندان‌پزشکی را در داخل کانول راهنما ۲۲ قرار داده و در هر کانول ۰/۳ میکرولیتر از دارو به مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق شد.

این زمان بدین‌منظور است که دارو در مغز پخش شده و از کانول راهنما بیرون نیاید. در مجموع به هر موش ۰/۶ میکرولیتر دارو درون مغز تزریق گردید. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند. تزریق دارو فقط در ساعت دو بعدازظهر صورت می‌گرفت.

تست رفتاری: برای سنجش ترس مدل رفتاری ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (Elevated plus-maze) مورد استفاده قرار گرفت. این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت مثبت (+) است. ابعاد راهروی باز و بسته ۵۰×۱۰cm بوده و دو طرف و انتهای راهروی بسته دیواره‌ای به بلندی ۴۰cm داشته و برای جلوگیری از افتادن حیوان در دو طرف و انتهای راهروی باز، لبه‌ای به ارتفاع یک سانتی‌متر از جنس شیشه نصب گردید.

چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد ۱۰× ۱۰ سانتی‌متر منتهی می‌شدند. Maze توسط پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰cm از سطح زمین قرار داشت. موش‌ها درون محدوده مرکزی Maze (ماز) قرار داده می‌شوند، به طوری که رو به یک راهروی باز قرار می‌گیرند. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز Maze قرار دارد، تامین می‌شد. در مدت پنج دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف Maze حرکت می‌کرد. پارامترهای زیر به روش مشاهده اندازه‌گیری شد:

- تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهروی باز شد.
- تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهروی بسته شد.
- مدت زمانی که حیوان در راهروی باز باقی ماند.
- مدت زمانی که حیوان در راهروی بسته باقی ماند.

منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می‌گرفت. زمان گذرانده شده در هر راهرو و نیز بر همین اساس محاسبه شد. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز (Open Arm Entries (OAE% و درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز (Open Arm Time (OAT% به طریق زیر محاسبه می‌گردد:

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 در این دو پارامتر نشان‌دهنده کاهش ترس در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-04]

این تست است. میزان فعالیت‌های حرکتی نیز که عبارت بود از تعداد کل دفعات ورود به بازوی باز و بسته ماز اندازه‌گیری گردید.

افزایش معنی‌دار این دو پارامتر نشان‌دهنده کاهش اضطراب در این تست است. البته عامل درصد ورودی به بازوی باز (OAE) به نسبت فاکتور درصد زمان حضور در بازوی باز (OAT) در ثبت رفتارهای اضطرابی و ضد اضطرابی حیوان دارای حساسیت کم‌تری است.

– بررسی برش‌های بافتی به منظور تعیین موقعیت محل تزریق پس از انجام تجربیات رفتاری و ثبت داده‌ها، جهت تعیین صحت مکان تزریق لازم است که مقاطعی از ناحیه‌ی مورد نظر تهیه شده و از نظر آناتومیکی مورد بررسی قرار گیرد. لذا حیوان را با استفاده از اتر کاملا بیهوش نموده و سپس برای انجام عمل تزریق، قفسه‌ی سینه‌ی حیوان را باز کرده و سر سوزن را درون بطن چپ حیوان وارد کرده و سالین گرم را به بطن چپ تزریق می‌نماییم. گرم کردن سالین جهت جلوگیری از تنگ شدن و مسدود شدن عروق صورت می‌گیرد. سپس با استفاده از یک پنس قفلی، بخش سینه‌ای آئورت نزولی را مسدود کرده تا از جریان مایع به بافت‌ها و اندام‌های تحتانی جلوگیری به‌عمل آید. در مرحله ی بعدی شکافی در دهلیز راست قلب حیوان ایجاد می‌کنیم تا خون از این طریق خارج شده و سالین جایگزین آن گردد. سپس سرنگ را از محلول فرمالین ۱۰٪ پر کرده و وارد بطن چپ قلب می‌نماییم. رعشه‌ای که به مدت کوتاهی پس از تزریق فرمالین در دست و پاها تولید می‌شود، نشانه‌ی رسیدن محلول فیکساتور به بافت‌های مغزی می‌باشد. سپس، سر حیوان با استفاده از قیچی قطع‌شده و پوست سر همراه با کلاهک واجد کانولای راهنما و پیچ برنجی برداشته می‌شود در مرحله ی بعد استخوان‌های آهیانه و پس سری حیوان جدا شده و مغز نمایان می‌گردد. با جدا نمودن اتصالات و اعصاب مغزی از قسمت‌های زیرین به‌خصوص اعصاب بویایی، مغز به صورت کامل بیرون آورده شده و در داخل فرمالین قرار می‌گیرد.

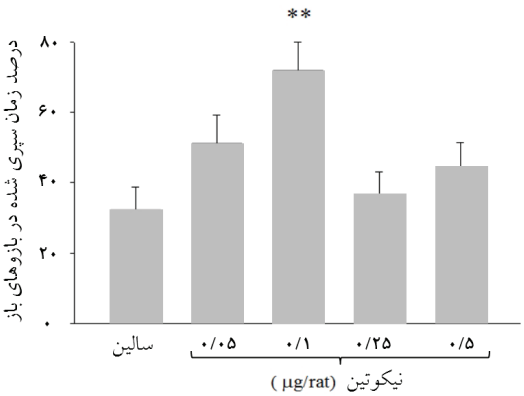
پس از گذشت ۴۸ ساعت برش‌های عرضی با استفاده از تیغ جراحی در محل کاشت کانول تهیه‌شده و مکان تزریق با استفاده از دستگاه استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار می‌گیرد. پس از انجام بررسی‌های بافتی، در صورتی که جایگاه تزریق مطابق با اطلس استریوتاکسی نباشد، داده‌های مربوط به مطالعات رفتاری حیوان مورد نظر از بررسی‌های آماری حذف می‌شوند.

– تحلیل آماری نتایج حاصل و رسم هیستوگرام‌ها: سنجش‌های آماری به‌وسیله نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۸ و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) صورت گرفته و هیستوگرام‌های مربوطه با استفاده از نرم‌افزار Sigma plot ویراست ۱۰، ترسیم گردید.

یافته‌ها

آزمایش های انجام گرفته نشان داد که تزریق دو طرفه درون هسته نوکلئوس اکومبنس مغز داروی نیکوتین (Nicotine)، آگونیست گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین دوز ۰/۱ از میان دوزهای ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر رت باعث افزایش معنی‌داری در درصد زمان سپری‌شده در بازوهای باز نسبت به گروه کنترل می‌شود P=۰/۰۱ (نمودار ۱).

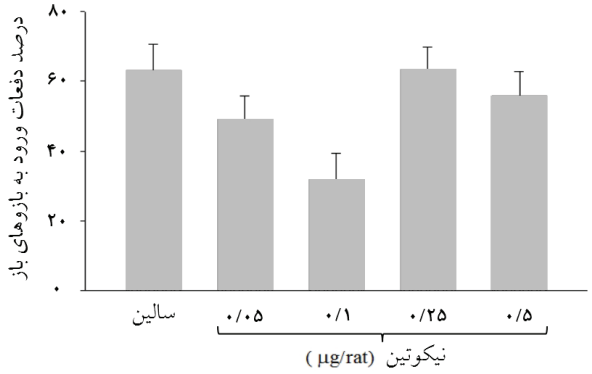
دوزهای ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر رت وقتی که به‌طور دوطرفه درون هسته نوکلئوس اکومبنس مغز تزریق می‌شوند باعث تغییر معنی‌داری در درصد دفعات ورود به بازوهای باز نمی‌شود (نمودار ۲) هیچ‌کدام از دوزهای نیکوتین تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت‌های حرکتی به‌وجود نمی‌آورند (نمودار ۳).



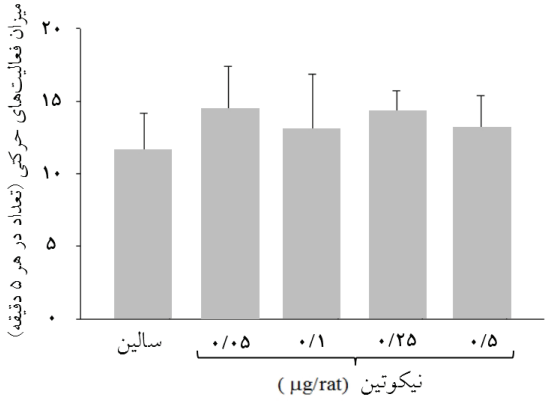
نمودار ۱: اثرات تزریق دو طرفه دوزهای مختلف نیکوتین در هسته نوکلئوس اکومبنس مغز بر درصد زمان سپری شده در بازوهای باز در مقایسه با گروه کنترل که فقط سالین دریافت کرده است.

هر ستون نشان‌دهنده میانگین± خطای استاندارد می‌باشد. ** P<۰/۰۱ اختلاف با گروه کنترل (سالین) را نشان می‌دهد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-04]



نمودار ۲: اثرات تزریق دو طرفه دوزهای مختلف نیکوتین در هسته نوکلئوس اکومبنس مغز بر درصد دفعات ورود به بازوهای باز در مقایسه با گروه کنترل که فقط سالین دریافت کرده است. هر ستون نشان‌دهنده میانگین± خطای استاندارد می‌باشد.



نمودار ۳: اثرات تزریق دو طرفه دوزهای مختلف نیکوتین در هسته نوکلئوس اکومبنس مغز بر میزان فعالیت‌های حرکتی در مقایسه با گروه کنترل که فقط سالین دریافت کرده است. هر ستون نشان‌دهنده میانگین± خطای استاندارد می‌باشد. (میزان فعالیت‌های حرکتی= تعداد کل دفعات ورود به بازوی باز و بسته).

بحث

بیماری اضطراب یک بیماری در ارتباط با روان بوده و نشانه‌های جسمی، شناختی، رفتاری و ادراکی را داراست. اضطراب می‌تواند توسط بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری‌های مرتبط با غدد درون ریز، اتوایمیون، سوخت و ساز بدن، و اثر سموم و هم‌چنین توسط تأثیرات سوءمصرف داروها ایجاد شود. از سویی دیگر در آزمایش‌های رفتاری در علوم اعصاب ماز به‌علاوه شکل مرتفع در سنجش اضطراب کاربرد دارد که از دو بازوی باز و دو بازوی بسته تشکیل شده است و برای سنجش پارامترهای رفتاری نشان‌دهنده اضطراب در حیوانات آزمایشگاهی به‌کار می‌رود.[8] ارزیابی میزان اضطراب بر پایه درصد تمایل ورود به بازوی باز می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که در عمل حیوانات از ورود به سکوی بازوی باز ماز اجتناب می‌کنند. درصد پایین تمایل به بازوی باز نشان‌دهنده اضطراب بیش‌تر می‌باشد. این مدل برای مطالعه داروهای اضطراب‌آور و اضطراب‌زدا بسیار مناسب است.[9] ما در این پژوهش از این وسیله برای آزمون اثرات داروها استفاده نمودیم. تحقیق ما نشان داد که تحریک گیرنده‌های نیکوتینی این هسته می‌تواند در فرایندهای رفتارهای شبه اضطرابی نقش داشته باشد. تا جایی که ما می‌دانیم تاکنون گزارشی از اثرات تزریق مستقیم عوامل نیکوتینی به تنهایی در پوسته هسته اکومبنس در قاعده مغز موش نر نژاد ویستار بر رفتارهای شبه اضطرابی سنجش شده با این روش مشاهده نشده است.

داده‌های این تحقیق آشکار کرد که با تزریق نیکوتین در پوسته هسته اکومبنس، رفتارهای شبه اضطرابی کاهش می‌یابد. نتایج نشان داد که تزریق پیش از آزمایش مقادیر نیکوتین ۰/۱ میکروگرم در پوسته هسته اکومبنس، درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز را افزایش می‌دهد ولی تأثیری بر سایر پارامترهای رفتاری ندارد که پیشنهاد دهنده اثر اضطراب‌زدایی این دارو می‌باشد. تناقضات مختلفی در اثرات نیکوتین بر پاسخ‌های سیستم عصبی وجود دارد. گزارش‌هایی مانند گزارش‌های Plaza- Zabala[10] یا Newhouse[11] وجود دارند که اثرات اضطراب‌زای نیکوتین را گزارش کرده‌اند، اما برخلاف آن‌ها گزارش‌های Brioni[12] و Chon[13] وجود دارند که اثرات ضد اضطراب نیکوتین را نمایش می‌دهند. علت این تفاوت‌ها ممکن است در نوع تزریق باشد. می‌دانیم که گیرنده‌های نیکوتین با تراکم متفاوتی در اندام‌های مختلف و حتی مغز توزیع شده‌اند. نوع تزریق در این آزمایش‌ها نیز می‌تواند از علت‌های تفاوت باشد. تزریق درون صفاقی یا درون مغزی، نتایج متفاوتی را به همراه دارد. به علاوه تزریق درون مغزی با توجه به منطقه تزریق، نوع گیرنده‌ها، تراکم گیرنده‌ها و پیش یا پس سیناپس بودن آن ها می‌تواند نتایج مختلفی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-04]

داشته باشد. در گزارش ما اثرات ضد اضطرابی را در دوز ۰/۱ میکروگرم بر رت مشاهده کردیم. تا آن‌جا که ما می‌دانیم گزارشی از اثر تزریق نیکوتین به پوسته هسته اکومبنس بر رفتار اضطرابی سنجش شده به‌وسیله دستگاه ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع وجود نداشت و بنابراین این مطالعه نشان داد که این تزریق در دوز ۰/۱ میکروگرم بر رت در شرایط آزمایشگاهی موجود بر نژاد نر ویستار باعث اثرات ضد اضطرابی می‌شود مشاهدات ما بر اساس تزریق در پوسته هسته بود. توجه داریم که اثرات نیکوتین در اضطراب می‌تواند به‌طور کامل در پوسته و هسته مختلف باشد چرا که پوسته و هسته دو مناطق با سازماندهی آناتومیکی مجزا هستند. پیشنهاد می‌شود که برای شناخت بیش‌تر مکانیسم‌های اضطراب منطقه هسته‌ی مرکزی اکومبنس به‌طور جزیی‌تر بررسی شود. هسته اکومبنس ساختاری از هسته‌های مخطط شکمی مغز جلویی می‌باشد.[۱۴] گزارش‌های مختلفی وجود دارد که منطقه هسته اکومبنس در قاعده مغز را در فرآیندهای وابستگی دارویی مؤثر می‌دانند.[۱۵] هسته اکومبنس دو بخش هسته و پوسته داشته که بخش پوسته آن در پاسخ‌های فیزیولوژیک استرس درگیر است.[۱۶] پژوهش بر هسته اکومبنس در قاعده مغز در انسان کم‌تر می‌باشد. Bewernick نشان داد که تحریکات هسته اکومبنس در افراد مقاوم به درمان افسردگی، خاصیت ضد اضطرابی و ضد افسردگی را نشان می‌دهد.[۱۷] در مطالعه ما نیکوتین در دوز خاصی با تحریکات هسته اکومبنس توانست این اثرات را اعمال نماید البته برای درک دقیق این مکانیسم‌ها پژوهش‌های زیادی لازم است. علاوه بر این Schlaepfer نشان داد، تحریک منطقه مخطط شکمی شامل هسته اکومبنس در قاعده مغز باعث تحریکات شناختی در نواحی دیگر مغز می‌شود.[۱۸] Bewernick نشان داد که تحریک الکتریکی هسته اکومبنس باعث تغییرات فعالیت متابولیکی در نواحی قشری و زیر قشری می‌شود که باعث بهبود فرآیندهای شناختی می‌گردد.[۱۷]

هم‌راستا با مشاهدات ما گزارشاتی می‌باشد که از نظر آناتومیک ناحیه پوسته هسته اکومبنس در قاعده مغز را بررسی کرده و عنوان می‌نماید که هسته اکومبنس در قاعده مغز چندین فیبر از نواحی مختلف مانند هسته رافه پشتی، لوکوس سرلئوس (Locus coeruleus)، هیپوتالاموس جانبی و قسمت‌هایی از آمیگدال دریافت می‌کند.[۱۹] تمام این نواحی در استرس و پاسخ‌های اضطرابی نقش دارند،[۲۰] با ادامه مطالعه‌ها بر اساس این یافته‌ها در کنار دیگر گزارشات شاید بتوان بهتر اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی افسردگی، اضطراب را بررسی نمود. بررسی عوامل نوروترانسمیتری کنترل کننده و تنظیم‌کننده و دخیل در این هسته مغزی راه‌گشای گروه کلانی از شیوه‌های کنترل، مهار و درمان اضطراب خواهد بود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی نقش سیستم‌های کولینرژیک وگابارژیک در هسته آکومبنس در تعدیل اضطراب در موش بزرگ آزمایشگاهی نر" مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران در سال ۱۳۹۰ به کد ۵۱۳۶۱۸۹۰۵۰۷۰۰۰۶ می‌باشد که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی اجرا شده است.

References

1. Shirayama Y, Chaki S. Neurochemistry of the nucleus accumbens and its relevance to depression and antidepressant action in rodents. *Curr Neuropharmacol* 2006;4(4):277-91.
2. Di Chiara G, Loddo P, Tanda G. Reciprocal changes in prefrontal and limbic dopamine responsiveness to aversive and rewarding stimuli after chronic mild stress: implications for the psychobiology of depression. *Biol Psychiatry* 1999;46(12):1624-33.
3. Barr AM, Markou A, Phillips AG. A 'crash' course on psychostimulant withdrawal as a model of depression. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23(10):475-82.
4. Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Merikangas KR, Walters EE. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 2005;62(6):617-27.
5. Corbin WR, Farmer NM, Nolen-Hoekesma S. Relations among stress, coping strategies, coping motives, alcohol consumption and related problems: A mediated moderation model. *Addict Behav* 2013;38(4):1912-9.
6. Alterman AI, Hall JG, Purtill JJ, Searles JS, Holahan JM, McLellan AT. Heavy drinking and its correlates in young men. *Addict Behav* 1990;15(1):95-103.
7. Anthenelli RM, Schuckit MA. Affective and anxiety disorders and alcohol and drug dependence: diagnosis and treatment. *J Addict Dis* 1993;12(3):73-87.
8. Xi ZX, Spiller K, Gardner EL. Mechanism-based medication development for the treatment of nicotine dependence. *Acta Pharmacol Sin* 2009;30(6):723-39.
9. Zarrindast MR, Babapoor-Farrokhran S, Babapoor-Farrokhran S, Rezayof A. Involvement of opioidergic system of the ventral hippocampus, the nucleus accumbens or the central amygdala in anxiety-related behavior. *Life Sci* 2008;82(23-24):1175-81.
10. Plaza-Zabala A, Martín-García E, de Lecea L, Maldonado R, Berrendero F. Hypocretins regulate the anxiogenic-like effects of

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-04]

nicotine and induce reinstatement of nicotine-seeking behavior. *J Neurosci* 2010;30(6):2300-10.
11. Newhouse PA, Sunderland T, Narang PK, Mellow AM, Fertig JB, Lawlor BA, Murphy DL. Neuroendocrine, physiologic, and behavioral responses following intravenous nicotine in nonsmoking healthy volunteers and in patients with Alzheimer's disease. *Psychoneuroendocrinology* 1990;15(5-6):471-84.
12. 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):1-8.
13. Cohen A, Young RW, Velazquez MA, Groysman M, Noorbehesht K, Ben-Shahar OM, Ettenberg A. Anxiolytic effects of nicotine in a rodent test of approach-avoidance confli-ct. *Psychopharmacology (Berl)* 2009;204(3):541-9.
14. Soria-Gómez E, Matias I, Rueda-Orozco PE, Cisneros M, Petrosino S, Navarro L, et al. Pharmacological enhancement of the endocannabinoid system in the nucleus accumbens shell stimulates food intake and increases c-Fos expression in the hypothalamus. *Br J Pharmacol* 2007;151(7):1109-16.
15. Abercrombie ED, Keefe KA, DiFrischia DS, Zigmond MJ. Differential effect of stress on in vivo dopamine release in striatum, nucleus accumbens, and medial frontal cortex. *J Neurochem* 1989;52(5):1655-8.
16. Nicola SM, Surmeier J, Malenka RC. Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Annu Rev Neurosci* 2000;23:185-215.
17. Bewernick BH, Kayser S, Sturm V, Schlaepfer TE. Long-term effects of nucleus accumbens deep brain stimulation in treatment-resistant depression: evidence for sustained efficacy. *Neuropsychopharmacology* 2012;37(9):1975-85.
18. Schlaepfer TE, Cohen MX, Frick C, Kosel M, Brodesser D, Axmacher N, et al. Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia in refractory major depression. *Neuropsychopharmacology* 2008;33(2):368-77.
19. Brog JS, Salyapongse A, Deutch AY, Zahm DS. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J Comp Neurol* 1993;338(2):255-78.
20. Picciotto MR, Brunzell DH, Caldarone BJ. Effect of nicotine and nicotinic receptors on anxiety and depression. *Neuroreport* 2002;13(9):1097-106.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-04]

TUMJ Tehran University Medical Journal, May 2013; Vol. 71, No. 2: 71-78 Original Article

The effects of nicotine injection in rat nucleus accumbens on anxiety

Batool Ghorbani Yekta Ph.D.[1*]
Mohammad Nasehi Ph.D.[2]
Shahrzad Khakpour Ph.D.[1]
Mohammad Reza Zarrindast Ph.D.[3]
Yazdan Shafieekhan[4]

1- Department of Physiology, Medical Sciences Research Center, Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Tehran, Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Garmsar branch, Semnan, Iran.
3- Department of Neuroscience, School of Advanced Medical Technologies and Department of Pharmacology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4- Young Researchers Club, Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Khagani St., Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 22006660
E-mail: bahareh59gh@yahoo.com

Abstract

Received: January 07, 2013 Accepted: February 06, 2013

***Background*:** Previous reports showed that nucleus accumbens involved in the etiology and pathophysiology of major depression, anxiety and addiction. It is not clear that how these mechanisms occur in the brain. In the present study, the influence of direct nicotine injection in the nucleus accumbens in rats' anxiety-related behavior was investigated.

***Methods*:** Wistar rats were used in this study. Male Wistar rats bred in an animal house, in a temperature-controlled (22±2 °C) room with a 12 hour light/darkcycle. Rats were anesthetized using intraperitoneal injection of ketamine hydrochloride and xylazine, then placed in an stereotactic instrument for microinjection cannula implantation The stainless steel guide cannula was implanted bilaterally in the right and left dorsal the nucleus accumbens shell according to Paxinos and Watson atlas. After recovery, anxiety behavior and locomotor activity were tested. We used the elevated plus maze to test anxiety. This apparatus has widely been employed to test parameters of anxiety-related behaviors including the open armtime percentage (%OAT), open arm entries percentage (%OAE), locomotor activity and we record effect of drugs after injection directly in the nucleus accumbens on anxiety-related behavior.

***Results*:** Experiments showed that bilateral injections into the nucleus accumbens Nicotine, acetylcholine receptor agonist, dose 0.1 of the dose (0.05 and 0.1, 0.25, 0.5) microgram per rat caused a significant increase in the percentage of time spent in the open arms (%OAT), compared to the control group. We did not record any significant change locomotor activity and open arm entries percentage (%OAE) in rats.

Conclusion: Nicotinic receptors in the nucleus accumbens shell involved to anxiety-like behavior in male rats.

Keywords: Anxiety, male rat, nicotine, nucleus accumbens.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-04]