اثرات استرس شنای اجباری بر تشنجات القاء شده با پنتیلن تترازول در موش صحرایی

تکتم تختی، مسعود فریدونی*، علی مقیمی و مرتضی بهنام رسولی

دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۸

چکیده

مقدمه: اثرات استرس روی صرع بحثهای متفاوتی را بر انگیخته است، برای وضوح بیشتر، تداخل استرس شنای حاد و مکرر بر روی تشنجات صرعی شکل بر انگیخته با پنتیلن تترازول (PTZ) در موش صحرایی مطالعه شد. **روشها:** موشهای صحرایی نر بالغ (۲۵۰-۲۰۰g) نژاد Wistar در گروههای ۷ تا ۱۰ تایی به کار گرفته شد. ۲ گروه کنترل (یک گروه تزریق یک مرحله ای (٤٥mg/kg PTZ i.p) و گروه دیگر تزریق ۳ مرحله ای (۲۵ mg/kg PTZ i.p) در فواصل ۱۵دقیقه ای و دو گروه شاهد تجویز سرم فیزیولوژی مشابه نحوه تجویزPTZ درگروههای کنترل انجام شد. در گروههای تجربی، ۳۰ دقیقه قبل از تجویزPTZ (به روش تجویزPTZ درگروههای کنترل) از تیمار استرس شنای اجباری استفاده شد. در دوگروه دیگر ٢٤ساعت پس از استرس و در دو گروه نهایی ٢٤ساعت بعد از ۳جلسه استرس هریک با فاصله ٢٤ ساعت (استرس مکرر)، تجویز PTZ به روشهای فوق انجام گردید و رفتارهای صرعی شکل بعد از تزریق مورد بررسی قرار گرفت. **نتایج:** استرس شنا۳۰ دقیقه قبل از تجویز یک مرحله ایPTZ ، باعث کاهش تشنج در ۵ دقیقه اول پس از تجویز PTZ شد ($P<0.05$). استرس شنا ٢٤ساعت قبل از تجویز یک مرحله ایPTZ، در دقایق ۱۵- ۱۰پس از تجویز باعث کاهش تشنج شد ($P<0.01$). در تجویز یک مرحله ای PTZ ، ٢٤ ساعت بعد از استرس مکرر، کاهش شدت تشنج در۵ دقیقه اول ($P<0.05$) و دقایق ۱۵-۱۰ ($P<0.01$) مشاهده شد. استرس شنا ۳۰ دقیقه قبل از تجویز ۳ مرحله ایPTZ، منجر به افزایش شدت تشنج در دقایق ۱۵- ۱۰ ($P<0.01$) و ۳۰ -۲۵ ($P<0.05$) شد. استرس شنا ٢٤ ساعت قبل از تجویز۳ مرحله ایPTZ باعث کاهش تشنج در دقایق۱۵- ۲۵ ($P<0.05$) شد. در تجویز ۳ مرحله ایPTZ ٢٤ ساعت بعد از استرس مکرر، کاهش شدت تشنج در دقایق ۲۵- ۱۵($P<0.05$) مشاهده شد. **بحث:** استرس اثرات تقویتی و مهاری بر تشنجات ناشی از PTZ بروز داد. چنانچه فرض شود که PTZ(٤٥ mg/kg) اثر تشنج زایی را اشباع کند، در این حالت است که استرس اثر مهاری دارد وچون PTZ(۲۵ mg/kg) اثر اندکی در بروز تشنج دارد لذا احتمالا بخش تحریکی استرس به اثر PTZ اضافه و آن را تقویت می کند. شاید استرس مکرر سیستمهای جبرانی تعدیل کننده تحریک پذیری سلولهای سیستم عصبی مرکزی را فعال سازد و این شاید حداقل بخشی از مکانیسم مهاری استرس مکرر بر اثر تشنجی PTZ باشد.

واژه های کلیدی: استرس شنای اجباری، پنتیلن تترازول ، تشنج، صرع

* نویسنده مسئول، تلفن: ۸۷٦۲۲۲۷-۰۵۱۱ ، پست الکترونیکی: fereidoni@um.ac.ir

مقدمه

صرع یکی از قدیمی ترین بیماریهایی است که بشر شناخته است. یک حمله صرع عبارت است از حمله غیر قابل کنترل، رفتار غیر طبیعی حس حرکتی یا روانی که به وسیله فعالیت غیر طبیعی بسیار همزمان و فعال الکتروشیمیایی مغز ایجاد می شود. واژه Epilepsy در مورد تشنجهای مکرری به کار می رود که در طول چند ماه تا چند سال ادامه داشته باشد و غالباً دارای الگوی بالینی ثابتی است (۵ و ۱۸). در تحقیقاتی آمده که فاکتورهای هیجانی نیز بر بروز تشنج اثر گذار بوده اند، آنچنان که وقایع پر استرس

بر تشنجات و spike های صرعی شکل بسیار تکرار شونده مؤثر بوده است (۱۸ و ۱۹).

سیستم بیولوژیکی که بیشترین ارتباط را با پاسخهای استرس در پستانداران دارد، محور لیمبیک هیپو تالاموسی _هیپوفیزی _آدرنالی (HPA) است. این سیستم شامل بخشهای مرکزی اعصاب و اندوکرین است. استرس مسیرهایی را فعال می کند که به موجب آن مغز، نورونهای ترشح کنندهCRF در مجموعه پاروسلولار هسته های پاراونتریکولار (PVN) هیپوتالاموس را به عنوان یکی از اجزای کلیدی در پاسخ به استرس فعال می کند (٦ و ٧).

نورونهای پاروسلولار PVN هیپوتالاموس محل تجمیع مسیرهای عصبی برای هماهنگ کردن پاسخهای استرس در مغز می باشند طوری که در پاسخ به استرسورهای فیزیکی و روانی، هورمون یا فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRH)را در برجستگی میانی به جریان خون باب هیپوفیزی ترشح می کنند تا به هیپوفیز قدامی برسند، جایی که با تحریک تولید پرواپیوملانوکورتین (POMC) توسط سلولهای تولید کننده (کورتیکوتروف) برای رها سازی ACTH همکاری می کنند. انتقال ACTH در جریان سیستمیک اثرات متقابلی با گیرنده های قشر آدرنال دارد، که باعث استروئیدوژنز و بالا رفتن گلوکوکورتییکوئیدهای پلاسما می شود (٦ و ٧). ایجاد استرس مکرر سطوح CRH، ACTH و گلوکوکورتیکوئیدها را افزایش می دهد که باعث اثرات چند گانه زیان باری می شود (٦ ، ٨). استروئید های فعال عصبی در طی استرس مزمن می توانند به روش مهار فیدبکی کاهش یابند اما همین امر ممکن است منجر به پاسخ دهی شدیدتر محور HPA به حوادث پر استرس حاد و یا جدید شود (۱۸). عملکرد غیر طبیعی HPAدرانواع شرایط نورولوژیکی مانند صرع گزارش شده است. در مدلهای مختلف آزمایشگاهی صرع، برخی عوامل استرس زا می تواند باعث پاسخ دهی شدیدتر حیوان به ترکیبات مختلف تشنج زا شود (۷). گزارشاتی وجود دارند که استرس احتمالاً کنترل تشنج را بدتر می کند از طرفی گزارشاتی نیز مبنی بر اثر کاهشی استرس بر توانایی تشنج زایی وابسته به مهار GABA در موشهای کوچک آزمایشگاهی و صحرایی وجود دارند (۱۰، ۱۳ و ١٤). سروتونین و استرس در اختلالات عاطفی، به ویژه افسردگی درگیر هستند، استرس شنا اغلب به عنوان استرسور بیولوژیکی و به عنوان یک مدل حیوانی نسبتاً مهم برای داروهای ضد افسردگی است (۱۲). همچنین برخی انواع استرسورها مثل استرس شنا به صورت حاد، ایجاد بی دردی فوری می نماید (١٦ و ٢٠). اما استرس شنای مکرر تولید پردردی طولانی مدت گرمایی و شیمیایی می کند (۱۵ و ١٦) که اشاره بر افزایش احتمالی فعالیت پروژکشن نورونهای درد نخایی دارد (۱۵). تغییرات دوجانبه احساس درد (بی دردی و پردردی) بعد از شرایط مختلف استرس ممکن است به وسیله تغییر در فعالیت سیستم سروتونرژیک مرکزی توضیح داده شود. پس شاید استرس شنای مزمن ابتدا افزایش در فعالیت سیستم سروتونین مرکزی ایجاد می کند و سپس با کاهش در آزادسازی در پاسخ به استرس طولانی مدت همراه می شود (۱۷). براساس داده های موجود ، استرس شنا، قدرت تشنج زایی Bicuculline ، آنتاگونیست رقابتی جایگاه اتصالی GABA، را کاهش می دهد. به علاوه مطالعات اشاره دارند بر اینکه به دنبال استرس شنای حاد عملکرد سیستم گابارژیک مغز افزایش می یابد (۱۱). همچنین مشخص شده است که استرس حاد و مزمن می توانند اثرات متفاوتی روی تشنجات تولید شده به وسیله مهار گیرنده های آدرنرژیک α_2 ، داشته باشد (۷).

بنابراین استرس حاد و مزمن اثرات متفاوتی بر روی تشنج دارند، سئوال این است که اگر این تشنجات با مهار گیرنده های GABA ایجاد شود، استرسی مثل استرس شنای حاد ویا مکرر چه اثراتی بر بروز تشنج خواهند داشت؟ با توجه به اینکه قبلاً بر اثر این استرسور در بروز تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول مطالعه چندانی صورت نگرفته

است. در این مطالعه اثرات استرس شنای اجباری بر بروز تشنجات تولید شده به وسیله روشهای حاد و مزمن تجویز پنتیلن تترازول (PTZ)، آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده GABA، بررسی شده است. به علاوه اثرات استرس شنای حاد و مزمن بر بروز تشنجات حاصله ازPTZ با هم مقایسه شده است.

مواد وروشها

حیوانات: از موش صحرایی نر بالغ نژاد Wistar ۳-۲/۵ ماهه و وزن بین۲۵۰-۲۰۰ گرم در گروههای ۱۰ تا ۷ تایی استفاده شد. موشها در دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی گراد و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در قفسهایی از جنس PVC نگهداری می شدند. حیوانات در تمام مدت به جز زمان انجام آزمایشها به آب لوله کشی شهر و غذای فشرده از شرکت جوانه خراسان دسترسی آزاد داشتند. نمونه ها تنها برای انجام آزمایش از قفسها خارج و سپس دوباره به محل خود برگردانده می شدند و جهت سازگاری نمونه ها با محیط دو هفته پس از جابه جایی موش صحراییها از مؤسسه سرم سازی به اتاق حیوانات، انجام کارهای تحقیقاتی شروع شد، آزمایشات با رعایت مقررات بین المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

روش تهیه و تزریق محلول پنتیلن تترازول : محلول پنتیلن تترازول با حل کردن ۱۵۰mg پودر PTZ در ۱۰ سی سی نرمال سالین استریل تهیه می شد. جهت ایجاد تشنجات یک مرحله ای، به ازای هر کیلوگرم وزن موش صحرایی ٤٥ میلی گرم PTZ در یک نوبت به صورت داخل صفاقی تزریق می شد. در آزمایشات سه مرحله ای، به ازاء هر کیلوگرم وزن موش صحرایی ۲۵ میلی گرم PTZ هر ۱۵ دقیقه یک بار و حداکثر ۳ بار (در مجموع ۷۵ mg/kg) به صورت داخل صفاقی تزریق می گردید. در این حالت تزریق دفعات دوم و یا سوم در صورت مشاهده حملات تشنجی تونیک کلونیک جنرالیزه انجام نمی شود.

به علت اینکه مبنای این تحقیق تشنجات ایجاد شده با PTZمی باشد، برای یکدست کردن موشهای صحرایی از تزریق PTZ استفاده شد. به این منظور در ابتدای تحقیق و یک هفته قبل از شروع آزمایشات بر اساس وزن موش ٤٥ mg/kg، PTZ داخل صفاقی تزریق می شد. سپس به مدت ٤٥ دقیقه رفتارهای صرعی شکل موشها مورد مشاهده قرار می گرفت. در نهایت تعداد کل موشها بر اساس زمان شروع تشنجات تونیک- کلونیک و به صورت تصادفی به ٦ گروه ۷-۱۰ تایی تقسیم شدند.

مراحل انجام تزریقات: موش همگون شده و دسته بندی شده در ۳ مجموعه آزمایشی قرار گرفتند.

گروههای مجموعه آزمایشی ۱: در هر موش بعد از ۳۰ دقیقه از استرس شنای اجباری حاد، تزریق PTZ انجام شد. البته در این مجموعه یک گروه تزریق یک مرحله ایPTZ ٤٥ mg/kg و یک گروه تزریق ۳ مرحله ایPTZ mg/kg ۲۵ (هر۱۵ دقیقه یک بار) قرار داشتند. و در هر موش صحرایی بعد از تزریق رفتارهای شبه صرعی مورد بررسی قرار گرفت.

گروههای مجموعه آزمایشی ۲: در هر موش بعد از ٢٤ ساعت از استرس شنای اجباری حاد، تزریق PTZ انجام شد. گروه بندی و آزمایشات مشابه مجموعه آزمایشی ۱ انجام شد.

گروههای مجموعه آزمایشی ۳: در هر موش ٢٤ ساعت بعد از جلسه سوم استرس شنا، (تکرار استرس هر ٢٤ساعت یک بار) تزریق PTZ انجام شد. گروه بندی و آزمایشات مشابه مجموعه آزمایشی ۱ انجام شد.

گروههای کنترل : یک گروه تزریق یک مرحله ای ٤٥ mg/kg و یک گروه تزریق ۳ مرحله ای PTZ (هر۱۵ دقیقه یک بار) ۲۵ mg/kg انجام شد و با گروههای شم مربوطه که فقط تزریق سالین انجام می شد مقایسه گردید.

کلیه آزمایشات بین ساعت ۱۰ تا ٤ بعد از ظهر انجام می شد.

مراحل مختلف تشنج و مشخصات رفتاری در موش صحرایی : مراحل تشنج مطابق با جدول زیر در فواصل ۵ دقیقه ای ثبت شده و Score of seizure با میانگین گیری از وضعیت تشنجی اعضاء هر گروه محاسبه گردید.

مرحله	مشخصات رفتاری
صفر	رفتارهای معمول حیوان
نیم	افزایش یا کاهش تحرک و شستشوی صورت و بدن
یک	تشنجات منفرد میوکلونیک سر (تیک سر)
دو	تشنجات مکرر سر همراه با تکان های ناگهانی اندام قدامی
سه	تشنج کل بدن و اندام حرکتی قدامی، معمولاً دستها از زمین بلند می شود (تکان سگی)
چهار	تشنجات تونیک- کلونیک ژنرالیزه (حالت کانگورو)
پنج	چرخش و پرش مکرر حیوان و افتادن به پهلو
شش	مرگ

شنای اجباری: این آزمون اولین بار در سال ۱۹۷۷ توسط Porsolt معرفی شد. استرس شنا اغلب به عنوان یک استرسور بیولوژیکی و به عنوان یک مدل حیوانی نسبتاً با اهمیت برای داروهای ضد افسردگی و استرس استفاده می شود (۹). از این آزمون در بررسی اثرات استرس بر درد نیز استفاده می شود (۱۵)، بنابراین از این آزمون در ارتباط با تشنج هم استفاده شده است (۷).

فرآیند استرس: موشهای انتخاب شده برای استرس شنا می بایست هر کدام به صورت انفرادی در یک محفظه استوانه ای شکل به ارتفاع ۵۰ و قطر ٤۰ سانتیمتر که با آب ۱±۲۰ درجه سانتی گراد تا ارتفاع ۳۰ سانتیمتر پر شده و توانایی فرار از آن را ندارد حدود ۱۰ دقیقه شنا کند. بعد از شنا حیوان توسط حوله خشک شده و برای انجام تزریقات آماده می شود.

برای انجام استرس شنای مزمن، هر موش در سه روز متوالی بلافاصله ۲٤ ساعت از هم، در استوانه مخصوص شنا کند و مجموعاً بعد از ۲٤ ساعت پس از آخرین شنا، تجویز دارو انجام می شود و رفتارهای شبه صرعی هر حیوان بررسی می گردد.

تجزیه و تحلیل آماری : داده ها به صورت Mean ± SEM ارائه شده اند. تفاوت بین اثرات استرس بر آستانه درد در طول زمان مطالعه با آزمون ANOVA و بدنبال آن آزمون مقایسه میانگین Newman-Keuls و با $P<0.05$ به عنوان حداقل سطح معنی دار بودن برآورد شد.

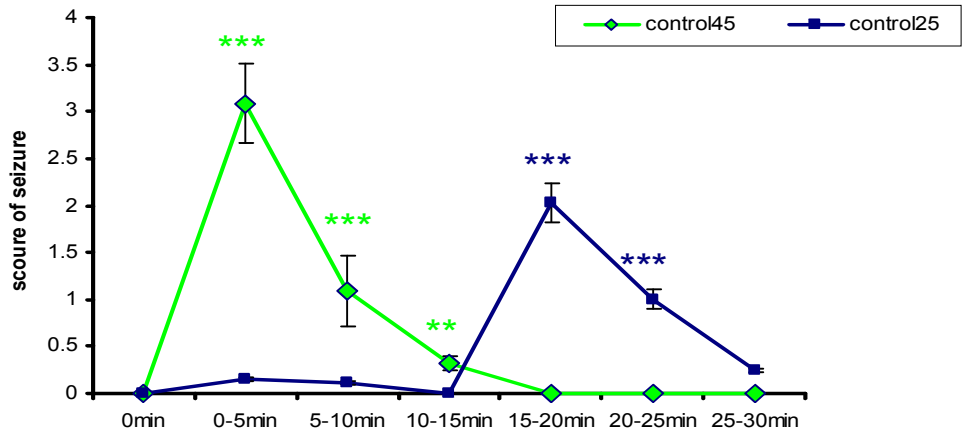
نتایج

با توجه به نمودار شکل۱ مشخص می شود که در گروههای کنترل بیشترین شدت تشنجات برای دوز PTZ ٤۵mg/kg در ۵ دقیقه ابتدایی و بیشترین شدت تشنجات

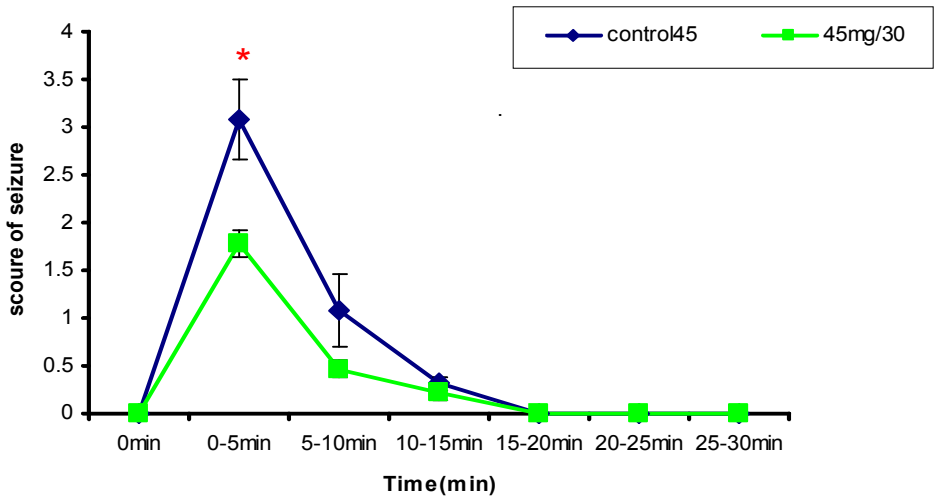
برای دوز mg/kg ۲۵ در دقایق انتهایی است. بنابراین مقایسه ها برای گروههای تجربی که از PTZ دوز mg/kg ٤٥ استفاده شد در ۱۵دقیقه اول انجام گردید و برای دوز mg/kg ۲۵ درکل ۳۰ دقیقه مقایسات انجام شد.

در بررسی انجام شده در این تحقیق، مشخص شد که استرس شنا، ۳۰ دقیقه قبل از تجویز داخل صفاقی (mg/ kg ٤٥) PTZ، شدت تشنجات رفتاری را در دقایق اولیه شروع تشنجات کاهش داد ($P<0.05$)(شکل۲).

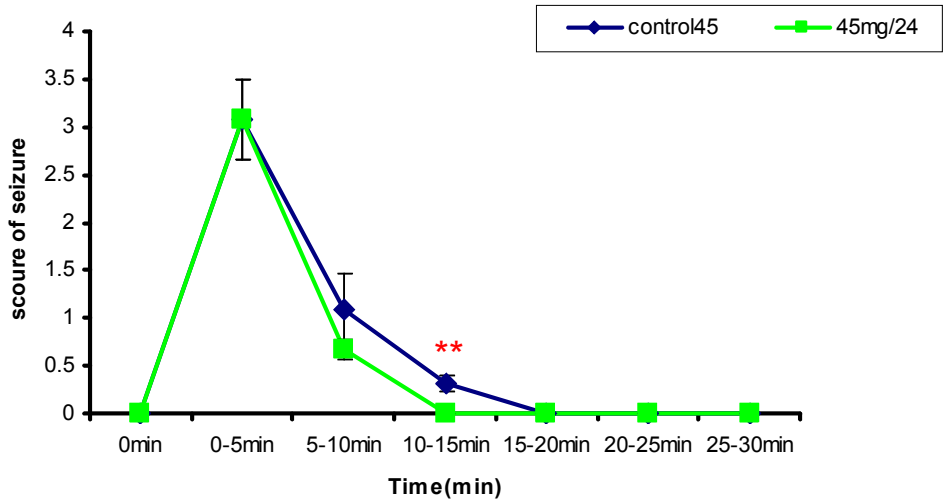
استرس شنا ۲٤ ساعت قبل از تجویز، شدت تشنجات ایجاد شده به وسیله (mg/ kg ٤٥) PTZ را در دقایق ۱۵-۱۰ کاهش داد ($P<0.01$) (شکل۳) و ۲٤ساعت پس از سومین جلسه، استرس روزانه (استرس مزمن) کاهش تشنجات حاصله از PTZ در دقیقه پنجم ($P<0.05$) و ۱۵-۱۰ دقیقه در مقایسه با گروه کنترل ایجاد گردید ($P<0.01$) (شکل٤).



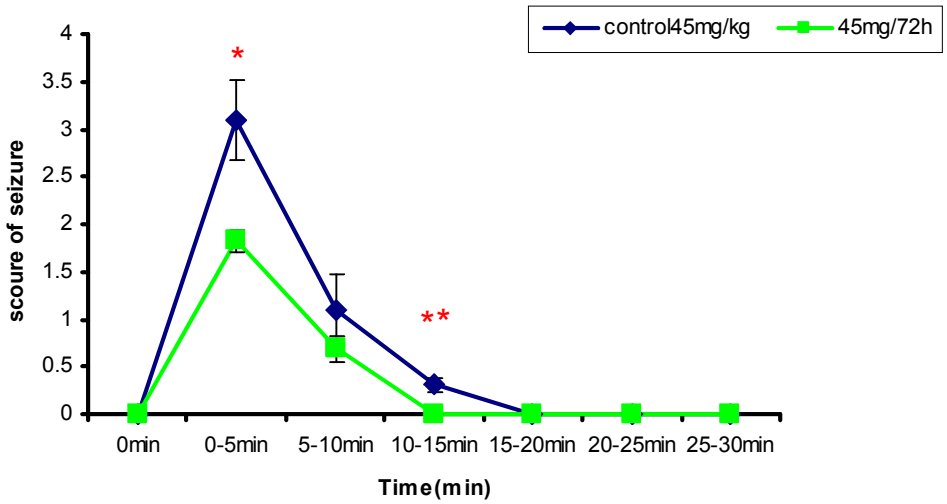
شکل۱ - مقایسه شدت تشنجات دوز سه گانه mg/kg PTZ i.p ۲۵ با فواصل ۱۵ دقیقه با تک دوز .mg/kg PTZ i.p ٤٥. شدت تشنجات دوزmg/kg ٤٥ در ۵دقیقه ابتدایی پس از تجویز PTZ به حد اکثر رسیده اما شدت تشنجات دوز mg/kg ۲۵ در دقایق انتهایی. شدت تشنج در گروههای تجویز حلال یا سالین در تمام مدت صفر و منطبق بر محور افقی نمودار بوده است. $p<0.001$***، $p<0.01$** در مقایسه با زمان صفر در هر نمودار. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است ($n\geq7$)



شکل ۲- اثر استرس شنا ۳۰ دقیقه قبل از تجویز PTZ (45mg/kg i.p). استرس توانسته شدت تشنج ناشی از تجویز PTZ را در ۵ دقیقه ابتدایی در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد. $p<0.05$* . نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است ($n\geq7$)



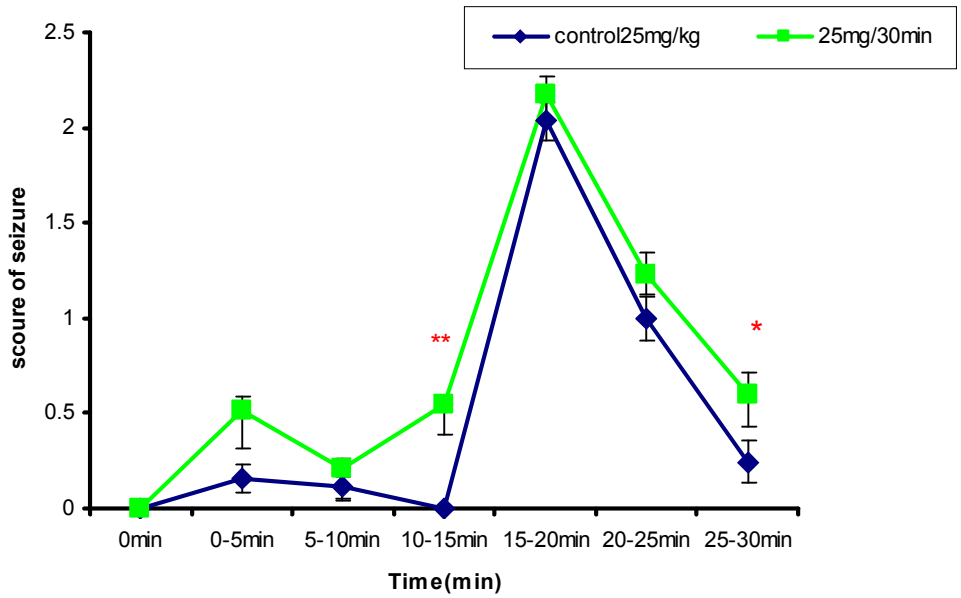
شکل۳- اثر استرس شنا ۲٤ ساعت قبل از تجویز PTZ (45mg/kg i.p).استرس توانسته شدت تشنج ناشی از تجویز PTZ را در دقایق ۱۰ تا ۱۵ در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد. **p<0.01 . نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است (n≥7)



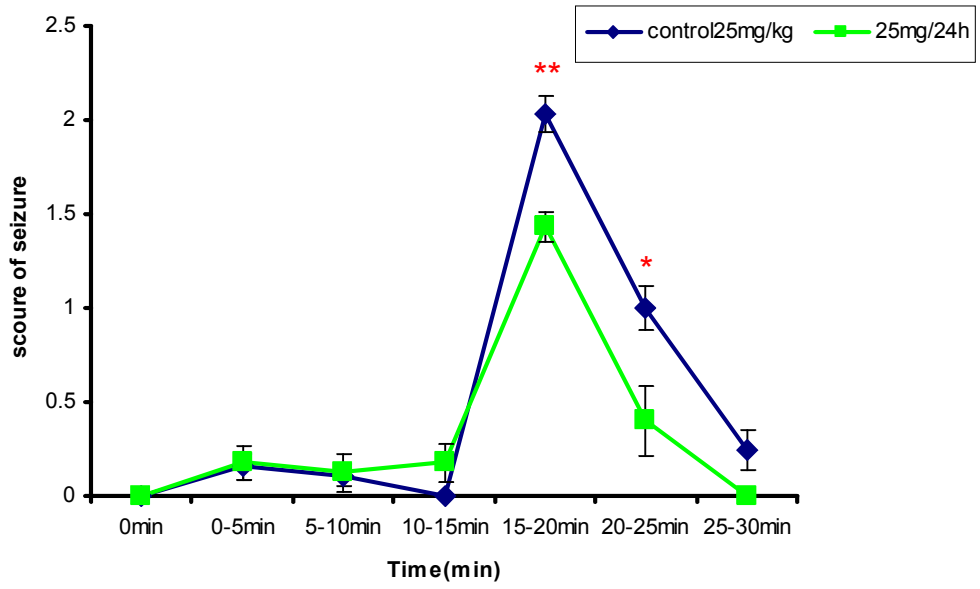
شکل ٤- اثر استرس شنای مکرر قبل از تجویز PTZ (45mg/kg) .استرس مکرر توانسته شدت تشنج ناشی از تجویز ptz را در۵ دقیقه اولیه و دقایق ۱۰ تا ۱۵ در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد **p<0.01، *p<0.05 . نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است (n≥7)

اثر استرس شنا بر روی تشنجات تولید شده به وسیله تجویز دو مرحله ای ۲۵ mg/kg برروی موش نر نشان داد که استرس شنای حاد (۳۰ دقیقه قبل از تجویز PTZ) توانسته شدت تشنجات ناشی از PTZ را در دقایق ۱۵ – ۱۰(P<0.01) و۳۰– ۲۵(P<0.05) افزایش دهد (شکل۵)

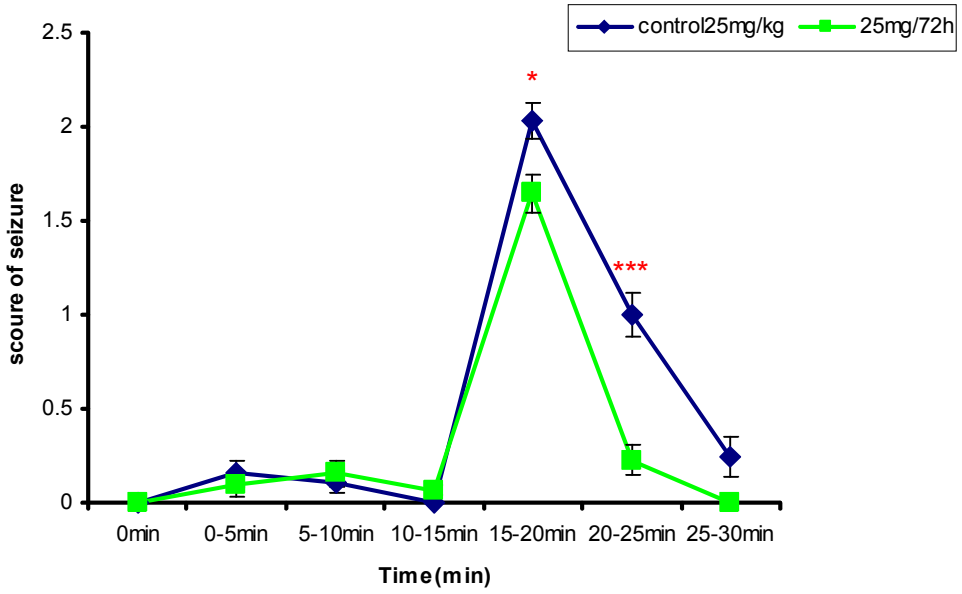
اما تشنجات حاصله از PTZ ٢٤ ساعت بعد از استرس را در دقایق ۲۰– ۱۵(P<0.01) و۲۵–۲۰ (P<0.05) (شکل٦) و٢٤ ساعت بعد از سومین جلسه استرس روزانه را در دقایق ۱۵ –۲۰ (P<0.05) و۲۵–۲۰ (P<0.001) کاهش داده است (شکل۷).



شکل۵- اثر استرس شنا ۳۰ دقیقه قبل از تجویزسه مرحله ای PTZ(25mg/kg).استرس توانسته شدت تشنج ناشی از تجویز PTZ را در در دقایق ۱۰تا۱۵ و۲۵ تا ۳۰در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد $p<0.01$**، $p<0.05$* . نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است (n=8)



شکل٦- اثر استرس شنا ٢٤ ساعت قبل از تجویزسه مرحله ای PTZ(25mg/kg).استرس توانسته شدت تشنج ناشی از تجویز PTZ را در دقـایق۱۵ تـا۲۵ در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد. $p<0.01$**، $p<0.05$* . نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است (n≥7)



شکل۷- اثر استرس شنای مکرر قبل از تجویز سه مرحله ای PTZ (25mg/kg). .استرس مکرر توانسته شدت تشنج ناشی از تجویز PTZ را دردقایق ۲۰ تا ۲۵ در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد. 0.001 >p** *، 0.05>p* . نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است (n≥8)

بحث و نتیجه گیری

در بررسی انجام شده در این تحقیق مشخص شد که استرس شنا، ۳۰ دقیقه قبل از تجویز داخل صفاقیPTZ ٤٥ mg/ kg، شدت تشنجات رفتاری را در دقایق اولیه شروع تشنجات کاهش داد (P<0.05)(شکل۲) که این در راستای تعدادی از گزارشات است (۱۰، ۱۱، ۱۳، ١٤ و ۱۹). البته نژاد موشها، نحوه تجویز دارو، نوع دارو و نوع استرس در گزارشات مختلف و در این تحقیقات متفاوت بود.

در مطالعاتی اشاره شده است که عملکرد سیستم GABA به دنبال استرس شنای حاد، افزایش می یابد (٤). و با توجه به اینکه PTZ آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده GABA است، استرس شنا از طریق افزایش عملکرد این سیستم و لذا افزایش اثر مهاری آن و در نتیجه کاهش اثر PTZ در ایجاد تشنج نقش دارد. نتایج مطالعه اخیر، در راستای یافته های مطالعات قبلی است که بر اثرات ضد تشنجی استرس شنا اشاره دارد اما تشنجات ایجاد شده توسط محققین فوق به وسیله پیکروتوکسین (آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده GABA) ایجاد می شد که در این مطالعه تشنجات به وسیله PTZ و با دوز متفاوت از آنها ایجاد شد (۳، ۵ و ۱۱). برخی پیشنهاد کرده اند که آدرنورسپتور α_2 در اثرات ضد تشنجی استرس شنا درگیر است و برخی دیگر نقش نورواستروئید ها را متذکر شده اند (۱۰ و ۱۹).

نتایج مولکولی استرس نشان داده است که در ارتباط با تعدیل تشنجات، انواع متفاوت سیستمهای نوروشیمیایی، شامل گلوکوکورتیکوئیدها، نورآدرنرژیک و سیستم اپیوئیدی می توانند در این تعدیل نقش داشته باشند و این امر به خوبی در انواع مدلهای حیوانی صرع ثابت شده است (۷). نشان داده شده که انواع شرایط پر استرس بر نورونهای نورآدرنرژیک لوکوس سرولئوس اثر می گذارند، در این ارتباط بر تأثیر فاکتور رها کننده کورتیکوتروپین CRFبر لوکوس سرولئوس اشاره شده است (۱) از طرفی تغییر دادن فعالیت این هسته باعث افزایش رفتارهای استرسی شده است (۲). استرس با تغییر در میزان تخلیه نورونهای لوکوس سرولئوس باعث رها سازی نورآدرنالین

در مناطق مغزی که دارای عصب دهی نورآدرنرژیک است می شود. این مطالعات ارتباط قوی اثرات تعدیل کنندگی از طریق مسیرهای نورآدرنرژیک روی تشنجات حرکتی لیمبیک و صرع را نشان می دهند . برخی مناطق مغزی که در جریان استرس شنا در گیر هستند نیز همان مناطق دارای عصب دهی آدرنرژیک رسیده ازلوکوس سرولئوس هستند (۷).

با توجه به اینکه تزریق (٤٥ mg/ kg) PTZ اینترنورونهای GABA را مهار می کند (۲۱) و استرس شنا ی حاد نیز باعث ۱- افزایش در تعداد جایگاههای اتصالی GABA (۲۲). ۲- افزایش گیرنده های بنزودیازپین هیپو کامپی ۳- افزایش غلظت THDOC تا ۳ برابرمی شود (THDOC به طور خاص به جایگاههایی روی کانالهای کلری ، گیرنده های $GABA_A$ متصل می شود)، بنابراین عملکرد سیستم GABA به دنبال استرس شنای حاد افزایش می یابد و در نتیجه تشنج کاهش می یابد (۲۳).

در همین راستا با توجه به نتایج به دست آمده این تحقِیق از تجویز (٤٥mg/kg) PTZ برروی موش صحرایی نر، مشاهده شد که استرس شنا ٢٤ ساعت قبل از تجویز PTZ، شدت تشنجات ایجاد شده به وسیله PTZ را در دقایق ۱۵- ۱۰ کاهش داده و ٢٤ساعت پس از سومین جلسه، استرس روزانه (استرس مکرر) کاهش تشنجات حاصله از PTZ در دقیقه پنجم و ۱۵-۱۰ در مقایسه با گروه کنترل ایجاد می شود که این هر دو شاید مربوط به اثر تعدیلی ناشی از افزایش فعالیت آدرنرژیک ناشی از اثر طولانی مدت تر استرس شنا در این تحقیق باشد .

در مطالعه ای مشخص شده است که استرس شنای مزمن بعد از ٢٤ ساعت از استرس باعث کاهش عمده در تراکم گیرنده های بنزودیازپین هیپوکامپی می شود که می تواند به افزیش استعداد بروز تشنج منجر شود. کاهش انتخابی بنزودیازپین هیپوکامپی نیز احتمالاً به چگونگی تکرار استرس مکرر در موش وابستگی دارد که این تکرار شاید فرایند عادت پذیری که مطابق با آهنگ سمپاتیک است را فعال کند (۳). مجدد در همین راستا در این تحقیق اثر استرس شنا بر روی تشنجات تولید شده به وسیله تجویز سه مرحله ای PTZ ۲۵ mg/kg i.p بر روی موش صحرایی نر نشان داد که استرس شنای حاد (۳۰ دقیقه قبل از اعمال) توانسته شدت تشنجات ناشی از تجویز PTZ را در دقایق ۱۵-۱۰ و ۳۰- ۲۵ افزایش دهد. اما به هر حال تشنجات حاصله از PTZ، ٢٤ ساعت بعد از استرس را در دقایق ۲۵-۱۵و ٢٤ ساعت بعد از سومین جلسه استرس روزانه را در دقایق۲۰-۱۵ کاهش داده است.

نقش گیرنده های سروتونرژیک (5-HT_7 ,5-HT_{1A} , 5- HT_{2C}) در موش صحرایی با کنترل تشنج بررسی شده است. برای 5-HT_{1A} یک نقش مثبت و یک نقش منفی ونیز عدم تأثیر درمطالعات مختلف گزارش شده است. ازطرف دیگر به نقش مثبت 5-HT_{2C} و نقش منفی 5-HT_7 در کنترل تحریک پذیری مغز اشاره شده است (۱۲). بنا براین با توجه به نقشهای متفاوت سیستم سروتونرژیک در کنترل تحریک پذیری مغز، می توان این طور تفسیر کرد که استرس شنا ۳۰ دقیقه قبل از اعمال، برروی اثرات ناشی از تجویز PTZ ۲۵mg/kg اثر تقویت کنندگی دارد و باعث افزایش تحریک پذیری مغز می شود و در نتیجه تشنجات حاصله از PTZ را تقویت کرده و افزایش داده است.

همچنین اشاره شده است که استرس شنا می تواند باعث افزایش در رها سازی نوروآدرنالین درون زاد در مناطقی از مغز موش صحرایی که به صورت طبیعی عصب دهی نور آدرنرژیک در یافت می کنند، شود. اوج افزایش در نورآدرنالین پلاسما تقریباً ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بعد از حضور استرس شنا در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد مشاهده شده است. همچنین افزایش در فراوانی جریانهای پیش سیناپسی خودبه خودی و نیز میزان تخلیه نورونهای هیپو کامپی در ۳ تا ۵ دقیقه بعد از تجویز پیلوکارپین گزارش شده. این اثر احتمالاً ناشی از افزایش فعالیت سیناپس های

گلوتامارژیکی است و ایجاد عدم تعادل بین انتقال گابارژیک تحریکی و مهاری می کند (۷).

با توجه به دلایل ذکر شده احتمالاً شاید بتوان گفت که استرس شنای اجباری هم اثرات تحریکی و هم اثرات مهاری بر تشنج القاء شده با PTZ بروز می دهد. که البته شواهد و شباهت زیادی در ارتباط با درد نیز این موضوع را تأیید می کند. داده های قبلی نشان داده است که بعد از ایجاد استرس مهار حرکتی مکرر در موش صحرایی نر، کاهش آستانه درد دیده می شود که می تواند وابسته به تغییرات در فعالیت اپیوئیدی مرکزی و محیطی باشد (۲۰). همچنین استرس شنای مکرر (۱۰-۲۰ دقیقه در روز برای ۳ روز متوالی) ایجاد پردردی تأخیری طولانی مدت گرمایی و شیمیایی پوستی می کند (۱۶).

بنابراین با توجه به تأثیر استرس بر سیستمهای نوروترانسمیتری مختلف، در شرایط استرس حاد چنین پیش بینی می گردد که وقتی عاملی (مثلPTZ ٤٥mg/kg) اثر تشنج زایی را اشباع می کند، اثرات تحریکی که استرس می تواند بر بروز تشنج داشته باشد (که احتمالاً قوی تر از اثر مهاری آن هم هست) قبلاً توسط PTZ اشباع می شود و آنچه که برای عمل کردن باقی می ماند اثر مهاری استرس بر بروز تشنج است، لذا احتمال می رود که در این حالت استرس اثرات تشنج زایی PTZ را مهار کند.

تجویز سه مرحله ای PTZ (۲۵mg/kg) همان طور که شکل (۱) در مقایسه با تک دوز (٤٥mg/kg) آن نشان می دهد، اثر کمتری در برانگیختگی سیستم عصبی برای بروز تشنج دارد شاید به این دلیل که بدن فرصت بیشتری برای کاهش اثر دارو از طریق متابولیزه کردن با دفع آن داشته و دارو به قدر کافی برای بروز اثر شدید در بروز تشنج نداشته است. در گروههای تجربی با تجویز سه مرحله ای PTZ (۲۵mg/kg) با توجه تشنج زایی ضعیف تر، احتمال می رود که بخش تحریکی استرس که احتمالاً قوی تر از اثر مهاری آن است به عملکرد PTZ اضافه شود؛ گرچه بخش مهاری آن کماکان عمل می کند. ولی به دلیل عملکرد ضعیف تر در مقایسه با اثر تحریکی، اثر استرس بر دوز ۲۵mg/kg یک اثر تحریکی و تقویتی برای بروز تشنج خواهد بود. با توجه به اینکه تشنج، تحریک پذیری سلولهای سیستم عصبی مراکز مرتبط با حملات صرعی شکل را افزایش داده است، احتمالاً استرس مزمن سیستمهای جبرانی تعدیل کننده مربوطه را فعال می سازد ، لذا ٢٤ ساعت پس از سومین استرس، یک اثر کاهنده در عملکرد PTZ مشاهده شده است.

منابع

۱- رستمی، پ.، حسینی، الف.، زرین دست، م. ۱۳۸۲. استرس بی‌حرکتی مادر در دوران بارداری و تأثیر آن بر واکنش ترس فرزندان نر موش صحرایی نژاد ویستار قبل و پس از تیمار با تستوسترون. مجله زیست شناسی ایران. ١٦(٤): ٢٧-٢٠

۲- زال خانی، س.، کسمتی، م.، ظفری زنگنه، ف.، راسخ، ع. ۱۳۸٦. بررسی تداخل اثر اکسی توسین و گیرنده های آلفا-۲ آدرنرژیک هسته لوکوس سرولئوس بر اضطراب ناشی از ارتفاع در موش صحرایی نر. مجله زیست شناسی ایران.۲۰(٤): ٤٣٠-٤٣٧

3. Avital, A., Leschiner, S., Spanier, l., Veenman, L., Weizman, A., Gavish, M. 2001. Acute and repeated swim stress effects on peripheral benzodiazepine receptors in the rat hippocampus, adrenal, and kidney. Journal of Neuropsychopharmacology. 25: 669-678.

4. Briones-Aranda, A., Rocha, L., Picazo, O. 2005. Alterations in GABAergic function following forced swimming stress. Journal of Pharmacology biochemistry and behavior. 80: 463-470.

5. Lai, C., Trimble, M. 1997. Stress and epilepsy. Journal of epilepsy. 10:177-186.

6. Lopez, F., Stanley, W. 1999. Role of biological and psychological factors in early development and their impact on adult life. Society of biological psychiatry. 46:1461–1471.

7. Meldrum, s., Nafziger, J. 2004. Alpha2-adrenergic inhibition prevents the accompanied anticonvulsant effect of swim stress on behavioral convulsions induced by lithium and

pilocarpine Pharmacology. Journal of Biochemistry and Behavior. 79:309–316.

8. Miller, D., Dubravka, S. 2003. Effects of aging and stress on hippocampal structure and function. Journal of Metabolism. 52:17-21.

9. Pericic, D., Lazic, J., jazvinscak, M. 2005. Stimulation of 5-HT $_{1A}$ receptors increases the seizure threshold for picrotoxin in mice. Journal of pharmacology. 527:105-110.

10. Pericic D. 2002. Interaction of stress and noradrenergic drugs in the control of picrotoxin-induced seizures. Epilepsy Research. 51:179-187.

11. Pericic, D., Dubravka, S., Mirkovic, K. 2001. Swim stress alters the behavioural response of mice to GABA-related and some GABA-unrelated convulsants. Epilepsy Research. 43:145-152.

12. Pericic, D., Dubravka, S. 2005. Anticonvulsant effects of acute and repeated fluoxetine treatment in unstressed and stressed mice. Brain Research.1033:90-95.

13. Pericic, D., Dubravka, S., Mirkovic, K. 2000. Beta-1 adrenoceptor antagonists potentiate the anticonvulsive effect of swim stress in mice. Journal of Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 67:507-510.

14. Pericic, D., Strac, D., Vlaini, C. 2006. Zimelidine decreases seizure susceptibility in stressed mice. Journal of neural transmission. 113:1863-1871.

15. Quintero, L., Silva, J., Arcaya, J., Lorena-Suhaibarb, P., Suarez-Rocaa, H. 2003. Repeated swim stress increases pain induced expression of c-Fos in the rat lumbar cord. Brain Research. 965:259–268.

16. Quinteroa, L., Avilaa, C., Arcayaa, J., Maixnerb, W., Suarez-Rocaa, H. 2000. Long-lasting delayed hyperalgesia after subchronic swim stress. Journal of Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 67:449-458.

17. Rajesh, R., Khemraj, H., Chandrabhan, T. 2004. Essentiality of central GABAergic neuroactive steroid allopregnanolone for anticonvulsant action of fluoxetine against pentylenetetrazole-induced seizures in mice. Brain Research. 1023:102-111.

18. Reddy, D. 2006. Physiological role of adrenaldeoxycorticosterone-derived neuroactive steroids in stress-sensitive conditions. Journal of Neuroscience. 138:911-920.

19. Sheryl, R., Haut, A., Vouyiouklis, M., Shinnara, S. 2003. Stress and epilepsy: a patient perception survey. Epilepsy & Behavior. 4:511–514.

20. Silva, T., Iraci, L., Bassani, M. 2003. Long-lasting delayed hyperalgesia after chronic restraint stress in rats-effect of morphine administration. Neuroscience Research. 45:277-283.

21. Nedermryer, E. 1990. the epilepsies: Diagnosis and management. Epilepsy Research. 35:256-258.

22. Pericic, D., Svob, D. 2002. Interaction of stress and noradrenergic drugs in the control of picrotoxin-induced seizures. Epilepsy Research. 51:179-187.

23. Quinteroa, L., Avilaa, C., Arcayaa, J., Maixnerb, W., Suarez-Rocaa, H. 2000. Long-lasting delayed hyperalgesia after subchronic swim stress. Journal of Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 67:449-458.

Forced swim stress effects on pentylenetetrazole induced seizure in rat

Takhty T., Fereidoni M., Moghimi A. and Behnam-Rasouli M.

Biology Dept., Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of IRAN

Abstract

Introduction: Stress effects on epilepsy excite different dissections. To clarify more, we studied the influences of acute and repeated stress on convulsions epilepsy elicited by pentylenetetrazole (PTZ). **Methods**: Adult male Wistar rats (200-250g, $10 \geq n \leq 7$) were used. Two PTZ control groups, first with one session of injection (45 mg/Kg PTZ i.p.) and second with 3 session of injection (25 mg/Kg PTZ, with 15 minute interval) and two sham groups with vehicle (saline) injection instead of PTZ were used in this study. Three experimental categories, each one contain the above groups of PTZ were designed, animals in the first categories expose to forced swim stress 30 min before PTZ treatments. Treating of PTZ was done for the second categories 24 h after swimming and for third one 24 h after 3rd sessions of swimming (24h interval between each session), after PTZ treatments the epilepsy behaviors were recorded. **Results**: Forced swimming 30 min before one session of PTZ, reduced seizure ($P<0.05$) 5 min after PTZ injection, Swim stress 24 min before one session of PTZ, reduced seizure ($P<0.01$) during 10-15 min after PTZ injection. In one session of PTZ treating, 24h after repeated swim stress, reduced seizure during 5 ($P<0.01$) and 10-15 min ($P<0.01$) after PTZ injection was observed. Forced swimming 30 min before three session of PTZ, increased seizure 5-10 ($P<0.01$) and 25-30 min ($P<0.05$) after PTZ injection, Swim stress 24 min before three session of PTZ, reduced seizure ($P<0.05$) during 15- 25 min after PTZ injection. In three session of PTZ treating, 24h after repeated swim stress, reduced seizure during 15-25 ($P<0.05$) after PTZ injection was observed. **Conclusions**: Stress elicited both exciting and inhibitory effects on PTZ induced seizure. If it supposes that PTZ (45 mg/kg) saturates excitatory effects, so the inhibitory effects remains for stress, but PTZ (25 mg/Kg) has little influence on nervous system for revealing epilepsy, thus exciting part of stress can add to functions of PTZ and strength its effects. It may that repeated stress ability for recruitment of compensatory systems which regulates increased neurons excitation, at least in part, is responsible for inhibitory effect of repeated stress on PTZ induced seizure.

Keywords: Swim stress, pentylenetetrazole, epilepsy, seizure