

مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۵، تیر ۱۳۹۵، ۳۳۰-۳۱۹

نقش هسته آکومبانس در پاسخ به استرس مزمن در موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI

فاطمه افتخاری^۱، هدایت صحرایی^۲، هنگامه علی بیگ^۳، ژایلا رضائیان^۱، فاطمه نیکائیلی^۱، فاطمه قمری^۱،
ناهید سراحیان^۴

دریافت مقاله: ۹۴/۳/۲ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۴/۶/۲۱ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۵/۳/۱ پذیرش مقاله: ۹۵/۳/۴

چکیده

زمینه و هدف: نقش بخش‌های مختلف مغز، به خصوص هسته آکومبانس (NAC)، در مدیریت استرس به‌خوبی شناخته نشده است. در این مطالعه نقش NAC در پاسخ به استرس مزمن در موش‌های نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، NAC به کمک دستگاه استریوتکس به‌صورت یک‌طرفه و دوطرفه کانول گذاری شد. پنج دقیقه قبل از القاء استرس، لیدوکائین ۲٪ به داخل آکومبانس حیوانات تزریق شد. استرس توسط دستگاه Communication Box به‌مدت چهار روز متوالی بین ساعات ۹ تا ۱۱ به حیوانات (۸ گروه ۶ تایی) القاء شد. میزان کورتیکوسترون پلازما، آب و غذای دریافتی، تغییرات وزن و زمان تأخیر در غذا خوردن به عنوان معیارهای متابولیکی استرس سنجیده شد. داده‌ها با آنالیز واریانس دوطرفه تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: استرس باعث افزایش میزان کورتیکوسترون پلازما و تأخیر در غذا خوردن ($p < 0.001$) شد، اما بر میزان تغییرات وزن و آبنوشی تأثیر معنی‌داری نداشت. تجویز لیدوکائین نتوانست باعث مهار کامل NAC در میزان کورتیکوسترون پلازما و تأخیر در غذا خوردن در مقایسه با گروه کنترل شود. مهار موقت NAC به‌صورت معنی‌داری منجر به مهار استرس در میزان غذا خوردن ($p < 0.001$) و وزن ($p < 0.05$) حیوانات گردید. هم‌چنین، تجویز لیدوکائین، هم به‌صورت یک‌طرفه - راست و یا چپ- و هم دوطرفه، آبنوشی را کاهش داد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد NAC به عنوان یک ساختار مغزی، نقشی را در میانجی‌گری اثرات استرس مزمن در عملکردهای متابولیکی بازی می‌کند. هم‌چنین، تفاوت‌هایی بین آکومبانس راست و چپ وجود دارد که ممکن است باعث بروز نوعی سوگیری در هسته آکومبانس شود.

واژه‌های کلیدی: استرس مزمن، لیدوکائین، هسته آکومبانس

۱- کارشناس ارشد زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

۲- استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

۴- نویسنده مسئول) کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

تلفن: ۰۲۱-۲۶۱۲۷۲۸۶، ۰۲۱-۲۶۱۲۷۲۸۶ پست الکترونیکی: sarahianahid@yahoo.com

مقدمه

مغز را اصلی‌ترین بخش بدن برای پاسخ‌دهی به استرس می‌دانند و معتقدند که استرس (احتمالاً استرس مزمن) می‌تواند باعث بروز تغییرات ساختاری و شیمیایی در مغز شود [۱]. گلوکوکورتیکوئیدهای ترشح شده از قشر غدد فوق کلیه (کورتیزول - کورتیکوسترون) را اصلی‌ترین عامل بروز این تغییرات می‌دانند. این هورمون‌ها که در حین استرس و در پاسخ به آدرنوکورتیکوتروپیک هورمون (ACTH; Adrenocorticotropic hormone) ترشح شده از هیپوفیز قدامی آزاد می‌شوند، نقش مهمی در بروز پاسخ به استرس در مغز بازی می‌کنند [۱]. البته بایستی عنوان کرد که این هورمون‌ها در اغلب اوقات اثرات تخریبی خود را در مغز با استفاده از واسطه‌ایی مانند سیتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین ۶ و TNF α به انجام می‌رسانند [۲]. در همین راستا گزارش شده است که استرس مزمن اثرات تخریبی شدیدی بر بافت‌های مغز، به خصوص سیستم لیمبیک (هیپوکامپ، هسته آکومبانس، آمیگدال جانبی-میانی و قشر پیش-پیشانی)، می‌گذارد [۱].

هسته آکومبانس (Nucleus Accumbens; NAc) یکی از ساختارهای مغز جلویی (Fore Brain) است که قسمتی از آن را جزو سیستم لیمبیک می‌دانند. این هسته در قسمت قاعده‌ای مغز و در جلو هیپوتالاموس واقع شده است و در بروز رفتارهایی که به نوعی با ادامه حیات فرد ارتباط دارند مانند انگیزش پاداش، اعمال حرکتی و یادگیری نقش مهمی ایفا می‌کند [۳]. تحقیقات نشان داده‌اند که هسته آکومبانس ممکن است در بروز بیماری‌هایی مانند افسردگی، اضطراب و اعتیاد نیز نقشی

داشته باشد [۴]. مطالعات هیستوشیمی و الکتروفیزیولوژیک و نیز فارماکولوژیک نشان می‌دهند که این هسته شامل سه ناحیه اصلی مرکز (هسته)، پوسته و بخش منقاری است که هر بخش نقش متفاوتی را در اعمال دستگاه عصبی بازی می‌کند. به‌طور مثال بخش مرکز هسته بیشتر در کنترل حرکات نقش دارد، در حالی‌که بخش پوسته در بروز خلق و خوی دخالت دارد [۳]. هم‌چنین، بخش پوسته به علت ارتباطات آناتومیکی که با هیپوتالاموس جانبی دارد، در کنترل رفتارهای تغذیه‌ای نیز نقش مهمی ایفا می‌کند [۵]. تحقیقات نشان‌دهنده وجود یک ارتباط آناتومیک و عملکردی بین قسمت پوسته این هسته (به عنوان بخش مرتبط با خلق و خوی) و هسته مرکزی آمیگدال (به عنوان یکی از مهم‌ترین بخش‌های آمیگدال در کنترل استرس) است که آمیگدال گسترش یافته (Extended Amygdala) نامیده می‌شود؛ به همین دلیل، تصور می‌شود که این بخش از هسته آکومبانس نقشی احتمالی در مدیریت استرس در مغز دارد [۶].

برای بررسی نقش یک بخش از مغز در یک نوع خاص از رفتار، راه‌های زیادی وجود دارد. یکی از مهم‌ترین این راه‌ها آن است که پس از مهار موقت آن بخش خاص مغز توسط داروهایی نظیر موسیمول (آگونیست گیرنده‌های گابا-آ گابائریک) و یا لیدوکائین (یک بی‌حس کننده موضعی) که نورون‌های این ناحیه را به طور موقت از مدار خارج می‌کنند، تغییرات به وجود آمده در رفتار حیوان را مورد مطالعه قرار داد [۵،۷]. لیدوکائین دارویی است که بیش از ۳۰ دقیقه می‌تواند باعث مهار موقت فعالیت عصبی شود [۸]. از آن‌جا که قبلاً مهار هسته آکومبانس با استفاده

حیوانات با استفاده از کتامین هیدروکلراید (سیگما- آمریکا) (۷۵-۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) و دیازپام هیدروکلراید (سیگما- آمریکا) (۷-۵ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند و داروی لیدوکائین هیدروکلراید ۲٪ به عنوان مهارگر هسته آکومبانس به آن‌ها تزریق شد.

به منظور کانول گذاری در داخل آکومبانس پس از بیهوشی، سر حیوان در دستگاه استریوتاکس (68001 Stereotaxic) ثابت شد، با ایجاد یک شکاف یک سانتی متری و مشاهده نقاط برگما و لامبدا یک یا دو عدد کانول راهنما (سر سوزن شماره ۲۳) ۰/۵ میلی متر بالاتر از آکومبانس با استفاده از مختصات اطلس پاکسینوس [۱۰] (برای هسته آکومبانس ۱ میلی متر جلوتر از نقطه برگما $\pm 1/5$ میلی متر از خط وسط و ۴/۵ میلی متر پایین تر از سطح جمجمه) در سر حیوان کاشته شد و کانول‌ها با استفاده از پیچ عینک و سیمان دندانپزشکی در جای خود محکم شدند.

پس از جراحی، حیوانات به مدت هفت روز در محیطی آرام دوره بهبودی را سپری کردند. جهت تزریق از سرسوزن شماره ۳۰ دندانپزشکی و لوله پلی اتیلنی و سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتر استفاده شد. لیدوکائین با حجم تزریق ۰/۵ میکرولیتر (۰/۲۵ میکرولیتر در هر طرف) به صورت درون هسته آکومبانس هر روز ۵ دقیقه قبل از القاء استرس تجویز می‌شد. تزریق مغزی به آهستگی به مدت ۶۰ ثانیه به طول انجامید و در این مدت حیوانات حرکت آزادانه داشتند [۹].

حیوانات جهت القای استرس به دستگاه Communication Box (شرکت برج صنعت، تهران، ایران) منتقل شدند. این دستگاه از ۹ قسمت مجزا (با دیواره‌هایی

از داروی لیدوکائین در این مرکز انجام گرفته است [۷]، در این تحقیق از لیدوکائین به عنوان مهارگر نورونی در هسته آکومبانس استفاده شد، تا با مهار موقت این هسته، به نقش آن در بروز علائم متابولیکی استرس مزمن در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (انستیتو پاستور ایران، تهران) با میانگین وزنی 25 ± 5 گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های شش تایی با دوره تاریکی و روشنایی طبیعی و آب و غذای کافی در دمای $22-24^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. آب و غذای هر حیوان طی آزمایش به صورت روزانه در ساعات مشخصی ثبت می‌شد. تحقیقات در فصل بهار و تابستان ۱۳۹۳ در آزمایشگاه علوم اعصاب دانشگاه بقیه الله انجام گرفت. پروتکل نگهداری از حیوانات مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) بود.

حیوانات به صورت تصادفی در ۸ گروه ۶ تایی قرار گرفتند. به حیوانات گروه کنترل نه استرس القاء شد و نه دارو تجویز شد، حیوانات گروه استرس به مدت چهار روز، هر روز یک ساعت به صورت تصادفی استرس شوک الکتریکی کف پا دریافت کردند (منبع آزاد). شش گروه دیگر از حیوانات به صورت یک طرفه، راست و یا چپ، و نیز به صورت دوطرفه در ناحیه آکومبانس کانول گذاری شدند و داروی لیدوکائین و یا سالین همراه با القای استرس به آنها تجویز شد [۹].

بازگردانده می‌شدند و از مدت زمان قرارگیری حیوانات در قفس‌هایشان تا زمانی که اولین موش شروع به غذا خوردن می‌کرد با زمان سنج بر حسب ثانیه ثبت می‌شد و به عنوان زمان تأخیر در غذا خوردن و معیاری از سنجش استرس ثبت می‌گردید [۹].

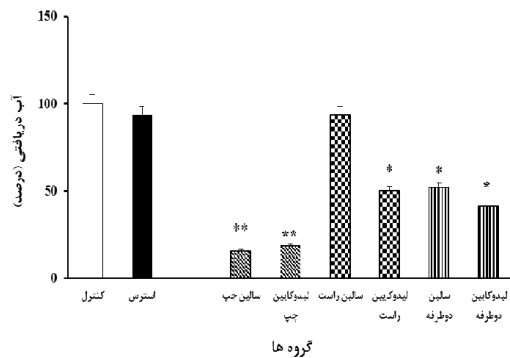
تجزیه و تحلیل اطلاعات: اطلاعات به دست آمده به صورت انحراف معیار \pm میانگین گزارش شدند. بررسی توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (kolmogorov-smirnov) انجام شد و سپس آزمون آنالیز واریانس دوطرفه با در نظر گرفتن سمت کانول و لیدوکائین به عنوان دو فاکتور اصلی و به دنبال آن آزمون توکی (Tukey) به منظور تعیین سطح اختلاف بین گروه‌ها انجام شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمام آزمون‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد.

نتایج

پس از کانول‌گذاری یک‌طرفه و دوطرفه هسته آکومبانس، حیوانات محلول لیدوکائین ۰/۲٪ را ۵ دقیقه قبل از القاء استرس به مدت چهار روز متوالی دریافت کردند. استرس موجب افزایش معنی‌دار میزان کورتیکوسترون پلاسما (22 ± 0.9) در مقایسه با گروه کنترل ($6/78 \pm 0.4$) گردید ($p < 0.01$). از سوی دیگر، مهار هسته آکومبانس به صورت یک‌طرفه راست ($15/4 \pm 0.7$) و یا چپ ($15/2 \pm 0.8$) و دوطرفه (16 ± 0.7) موجب کاهش اثر استرس شد، اما نتوانست باعث مهار کامل اثر استرس در میزان کورتیکوسترون پلاسما در مقایسه با گروه کنترل شود ($p < 0.01$).

از جنس پلکسی‌گلاس و با سوراخ‌هایی ریز به قطر ۲ میلی‌متر) تشکیل شده و کف دستگاه دارای میله‌های استیل زنگ‌نزن متصل به یک ژنراتور است که ولتاژ و مدت زمان شوک (ولتاژ ۶۰ میلی‌ولت، فرکانس ۱۰ هرتز و به مدت ۶۰ ثانیه) توسط رایانه‌ای متصل به ژنراتور کنترل می‌شود. گروه کنترل نیز به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه خاموش قرار گرفتند. دستورالعمل القای استرس به مدت چهار روز متوالی ادامه یافت. در روز آخر آزمایش‌ها از سینوس رتروراوبیتال واقع در گوشه چشم تمامی حیوانات خون‌گیری شد و خون با دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتیفریوژ (Micro 220R. hittich- Germany) شد. پلاسما جهت سنجش هورمون کورتیکوسترون جمع‌آوری گردید و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد، سپس با استفاده از کیت الایزای سنجش هورمون کورتیکوسترون موش بزرگ آزمایشگاهی (DRG- Germany) میزان این هورمون سنجیده شد. هم‌چنین، میزان تغییرات آب و غذای دریافتی، وزن هر ۲۴ ساعت پس از القاء استرس و زمان تأخیر در شروع غذا خوردن بلافاصله پس از القاء استرس و بازگرداندن حیوانات به قفس به عنوان معیارهای متابولیکی استرس در گروه‌های آزمایشی و کنترل اندازه‌گیری شد.

به منظور سنجش آب و غذای دریافتی، به ازای هر حیوان روزانه ۱۰ گرم غذا و ۳۰ سی‌سی آب در قفس‌ها گذاشته می‌شد و میزان آب و غذای دریافتی حیوانات طی ۲۴ ساعت (در زمان مشخصی) به مدت چهار روز متوالی اندازه‌گیری شد. هم‌چنین، وزن حیوانات نیز هر روز به مدت چهار روز متوالی در ساعتی مشخص اندازه‌گیری شد. پس از اتمام القاء استرس، حیوانات به قفس‌هایشان

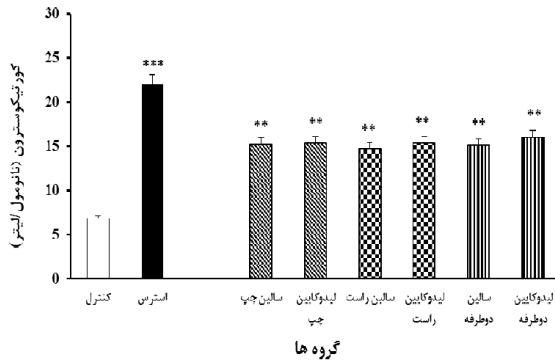


نمودار ۲- تجویز داخل آکومبانیسی لیدوکائین بر میزان آبنوشی پس از القای شوک الکتریکی کف پا. نتایج حاصل برای گروه‌ها در روز اول برابر ۱۰۰ در نظر گرفته شده و برای سایر روزها با توجه به آن محاسبه شده است (درصدگیری). اطلاعات مربوط به تغییرات مزبور در ۶ سر حیوان است. $p < 0.05$ و $p < 0.01$ ** اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل است. آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون مقایسات زوجی توکی

استرس موجب افزایش معنی‌داری در میزان غذای دریافتی ($232 \pm 9/7$) در مقایسه با گروه کنترل گردید ($p < 0.001$). از سوی دیگر، مهار هسته آکومبانس چه به صورت یک‌طرفه راست ($11/2 \pm 0/9$) و یا چپ ($20/8 \pm 1/5$, $p < 0.001$) و چه به صورت دوطرفه ($45/6 \pm 2/1$) موجب مهار اثر استرس و کاهش میزان دریافت غذا گردید ($p < 0.05$) که در این زمینه نقش هسته آکومبانس راست پررنگ‌تر است ($p < 0.001$).

[Two-Way ANOVA; Lidocaine effect:
 $F(1,42)=4.67$, $P<0.001$, Side effect: $F(2, 42)= 2.54$,
 $p<0.01$, Side \times Lidocaine effects: $F(7, 42)=4.01$,
 $p<0.001$ (نمودار ۳).

[Two-Way ANOVA; Lidocaine effect:
 $F(1,42)=2.11$, $P<0.01$, Side effect: $F(2, 42)= 1.24$,
 $p<0.05$, Side \times Lidocaine effects: $F(7, 42)=3.22$,
 $p<0.01$]

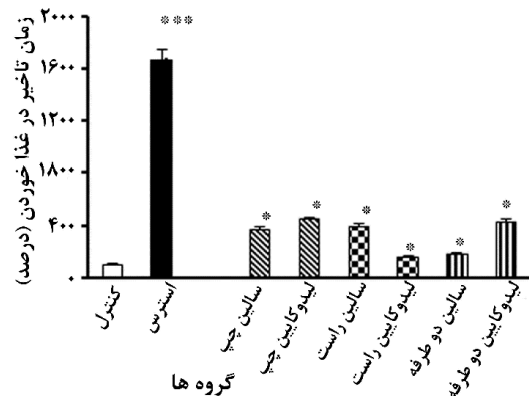


نمودار ۱- مهار هسته آکومبانس و القاء استرس مزمن بر میزان تغییرات کورتیکوسترون پلازما. اطلاعات مربوط به تغییرات مزبور در ۶ سر حیوان است. $p < 0.01$ ** و $p < 0.001$ *** اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل است. آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون مقایسات زوجی توکی

همان‌طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، استرس باعث کاهش میزان آبنوشی شد؛ هرچند این کاهش در میزان دریافت آب از نظر آماری معنی‌دار نبود ($93/75 \pm 4/8$). مهار هسته آکومبانس چه به صورت یک‌طرفه راست ($50 \pm 2/3$, $P < 0.05$) و یا چپ ($18/75 \pm 0/9$, $p < 0.01$) و چه به صورت دوطرفه ($41/25 \pm 2/2$, $p < 0.05$) نیز باعث کاهش میزان آبنوشی گردید.

[Two-Way ANOVA; Lidocaine effect:
 $F(1,42)=3.17$, $P<0.01$, Side effect: $F(2, 42)= 0.24$,
 $p<0.05$, Side \times Lidocaine effects: $F(7, 42)=1.89$,
 $p<0.05$ (نمودار ۲).

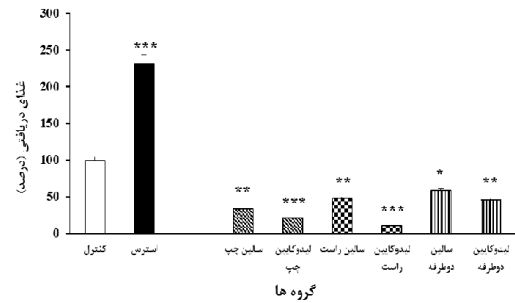
همان‌طور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود، استرس مزمن باعث افزایش معنی‌داری ($p < 0.01$) در زمان تأخیر در شروع غذا خوردن ($166 \pm 75/6$) در مقایسه با گروه کنترل شد. تجویز داخل آکومبانیسی لیدوکائین چه به صورت یک‌طرفه راست ($13/3 \pm 15/8$) و یا چپ ($18/8 \pm 41/6$) و چه به صورت دوطرفه ($4/4 \pm 25/4$) موجب کاهش میزان زمان تأخیر در غذا خوردن شد ($p < 0.05$)، اما نتوانست باعث مهار کامل اثر استرس در مقایسه با گروه کنترل شود [Two-Way ANOVA; Lidocaine effect: $F(1,42)=3.19, p < 0.01$, Side effect: $F(2, 42)= 2.76, p < 0.01$, Side \times Lidocaine effects: $F(7, 42)=2.54, P < 0.05$].



نمودار ۵- القاء شوک الکتریکی کف پا و مهار هسته آکومبانس بر زمان تأخیر در شروع غذا خوردن. اطلاعات مربوط به تغییرات مزبور در ۶ سر حیوان است. $p < 0.05$ و $p < 0.001$ اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل است. آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون مقایسات زوجی توکی

بحث

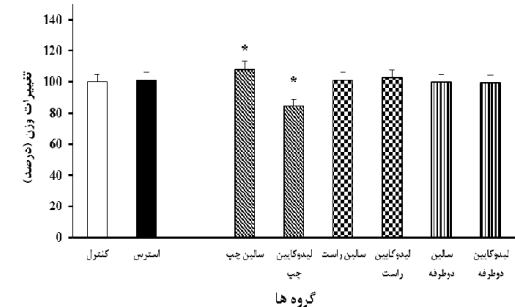
در این مطالعه اثر استرس مزمن ناشی از القاء شوک الکتریکی کف پا در هنگام مهار هسته آکومبانس به صورت یک‌طرفه یا دوطرفه (با تجویز لیدوکائین) در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر با بررسی پاسخ‌های متابولیکی به استرس سنجیده شد. علت بررسی اثر مهار یک‌طرفه هسته



نمودار ۳- تأثیر تجویز داخل آکومبانیسی لیدوکائین و القاء استرس مزمن بر میزان غذای دریافتی. نتایج حاصل برای گروه‌ها در روز اول برابر ۱۰۰ در نظر گرفته شده و برای سایر روزها با توجه به آن محاسبه شده است (درصدگیری). اطلاعات مربوط به تغییرات مزبور در ۶ سر حیوان است. $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل است. آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون مقایسات زوجی توکی

نتایج نشان داد که استرس تأثیر معنی‌داری بر وزن، در مقایسه با گروه کنترل، نداشت ($101/12 \pm 4/4$) از سوی دیگر، فقط تجویز لیدوکائین به هسته آکومبانس سمت چپ ($84/64 \pm 3/9$) باعث مهار اثر استرس شد ($p < 0.05$).

[Two-Way ANOVA; Lidocaine effect: $F(1,42)=0.672, p < 0.05$, Side effect: $F(2, 42)= 0.19, p < 0.05$, Side \times Lidocaine effects: $F(7, 42)=1.01, p < 0.05$]



نمودار ۴- تغییرات وزن در اثر القاء استرس و تجویز داخل هسته آکومبانیسی لیدوکائین. نتایج حاصل برای گروه‌ها در روز اول برابر ۱۰۰ در نظر گرفته شده و برای سایر روزها با توجه به آن محاسبه شده است (درصدگیری). اطلاعات مربوط به تغییرات مزبور در ۶ سر حیوان است. $p < 0.05$ اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل است. آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون مقایسات زوجی توکی

نر نقش محوری ندارد. با توجه به این که بخش پوسته هسته آکومبانس با همکاری بخش مرکزی آمیگدال - که روی هم به عنوان آمیگدال گسترش یافته معروفند - از مهم ترین مناطق مدیریت استرس در مغز است [۶]، شاید گفته فوق کمی تعجب آور باشد؛ اما با توجه به اینکه در این تحقیق کل هسته آکومبانس با تزریق لیدوکائین مهار می شد، شاید اثر مهار بخش مرکزی هسته با اثرات مهار بخش پوسته آن تداخل کرده و نتیجه به دست آمده حاصل برآیند این برهم کنش باشد.

در بخش بعدی از مطالعه حاضر مشخص شد، استرس مزمن منجر به کاهش میزان دریافت آب در موش های نر گردید که این کاهش آبنوشی از نظر آماری معنی دار نبود. ممکن است گفته شود که استرس در این جا از خود اثری نشان نداده است، اما لازم به ذکر است که تغییری که در آبنوشی حیوانات پس از استرس دیده شد، هر چند که از نظر آماری معنی دار نباشد، اما از نظر علمی می تواند بسیار مهم باشد و با توجه به مکانیسم هایی که در ذیل می آید، ممکن است نشان دهنده تغییری در نحوه ترشح هورمون وازوپرسین در هیپوفیز خلفی یا در هسته پاراونتریکول باشد که در هومئوستاز آب نقش مهمی دارند. از آنجایی که آرژنین وازوپرسین (AVP; Arginine Vasopressin) یک نوروهورمون تنظیم کننده هومئوستاز آب است و استرس باعث تحریک ترشح وازوپرسین (VP; Vasopressin) می شود و از آنجایی که بیشترین تعداد نوروهای هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس را در جنس نر، نوروهای حاوی وازوپرسین تشکیل می دهند [۱۴]- [۱۳]، در تحقیق حاضر انتظار داشتیم میزان دریافت آب پس از القاء استرس افزایش پیدا کند ولی این امر در

آکومبانس آن بود که ممکن است بین هسته آکومبانس راست و چپ از نظر پاسخ به استرس تفاوت وجود داشته باشد (سوگیری هسته) که در این مطالعه در علایم متابولیکی استرس مانند تغییرات میزان کورتیکوسترون پلازما، تغییرات وزن و میزان آبنوشی و دریافت غذا و همچنین زمان تأخیر در شروع غذا خوردن مورد بررسی قرار گرفت.

در اولین بخش مطالعه، نتایج حاصل از تحقیق نشان داد استرس موجب افزایش قابل توجهی در میزان کورتیکوسترون پلازما گردید. در این زمینه، نتایج ما با نتایج کار دیگر محققان هم خوانی دارد [۱۱]. در تحقیقات متعدد نشان داده شده است که افزایش سطح پلاسمایی هورمون های گلوکوکورتیکوئیدی یکی از مهم ترین نشانه های تشخیص استرس است [۱۲]، و این یافته تأییدی بر روش به کار رفته در القاء استرس مزمن است. ممکن است این سؤال مطرح شود که از نظر عددی، مقدار گزارش شده در این تحقیق از مقادیر گزارش شده در تحقیقات قبلی کمتر است؟ در پاسخ باید گفت که اولاً، تغییر در غلظت هورمون مهم است و مقدار عددی آن ممکن است متفاوت باشد و ثانیاً، در تحقیق قبلی استرس به موش های بزرگ آزمایشگاهی وارد شده ولی در این تحقیق از موش های کوچک آزمایشگاهی استفاده شده است. از سوی دیگر، مهار موقت هسته آکومبانس منجر به کاهش کمی در میزان کورتیکوسترون پلازما گردید ولی نتوانست باعث مهار کامل اثر استرس در مقایسه با گروه کنترل شود. به نظر می رسد که هسته آکومبانس حداقل در مهار اثر استرس در افزایش غلظت هورمون کورتیکوسترون پلازما در موش های کوچک آزمایشگاهی

تحقیق ما معکوس شد. البته بایستی اشاره کرد که نتایج محققان نیز در این زمینه دارای تناقض است [۱۵]. همچنین، به نظر می‌رسد که برخی حیوانات ممکن است در مقابل اثرات استرس در القاء پرنوشی مقاوم باشند. از سویی دیگر، القاء استرس در تحقیق ما به صورت مزمن صورت گرفت ممکن است این کاهش در میزان آبنوشی به دلیل تطابق حیوانات با استرس باشد [۱۶]. به هر حال، بررسی بیشتر در این زمینه با بکارگیری ابزاری مانند قفس متابولیک و یا سنجش میزان ادرار حیوانات در زمان‌های پس از استرس، ممکن است در این زمینه مفید باشد. در ادامه تحقیق مشاهده شد که مهار موقت هسته آکومبانس، اثر استرس در کاهش آبنوشی را تقویت نمود. در این زمینه، نقش آکومبانس سمت چپ در تشدید علایم استرس بیشتر مشهود بود که این امر می‌تواند نشان‌دهنده تفاوت در آکومبانس چپ و راست (سوگیری هسته آکومبانس) باشد. با توجه به آنچه در این بخش دیده شد، به نظر می‌رسد که بررسی‌های دقیق‌تری برای تعیین اثرات استرس بر آبنوشی حیوانات و نقش هسته آکومبانس در این زمینه مورد نیاز است. استفاده از روش خود-تجویزی که به جای دارو، آب در محل پوزه حیوان استرس‌دیده قرار گیرد و سنجش دقیق میزان آب دریافتی روش خوبی در این باره است. البته بررسی سایر روش‌های القاء استرس نیز در این زمینه مهم است.

استرس مزمن در موش‌های نر موجب افزایش زیادی در میزان دریافت غذا گردید. در بیشتر تحقیقاتی که بر روی جوندگان نر و ماده صورت گرفته، مشخص شده است که استرس منجر به کاهش غذای دریافتی در موش‌های نر می‌شود [۱۷] که این امر نیز در تحقیق ما معکوس شد.

البته باید در نظر داشت که اثر استرس در رفتار تغذیه‌ای به صورت دوگانه است و ممکن است در برخی افراد، استرس منجر به پرخوری و در برخی دیگر منجر به کاهش غذای دریافتی شود [۱۸].

تحقیقات زیادی گزارش داده‌اند که محور هیپوتالاموس-هیپوفیز - فوق کلیه (HPA; Hypothalamus-Pituitary-Adrenal) پاسخ‌های استرسی و تغذیه‌ای را تنظیم می‌کند. این سیستم شامل نورون‌های حاوی فاکتور آزادکننده کورتیکوتروپین (CRF; Corticotropin Releasing Factor) و نورون‌های حاوی یوروکورتین هستند و عملکرد این نوروترانسمیترها در پاسخ به استرس ممکن است به صورت کاهش یا افزایش در مصرف غذا باشد [۱۹]. البته باید در نظر داشت این افزایش میزان غذای دریافتی در تحقیق ما، باز هم ممکن است به دلیل تطابق با استرس صورت گرفته باشد [۱۶]. از سوی دیگر، مهار موقت هسته آکومبانس به صورت یک‌طرفه و دوطرفه منجر به مهار اثرات استرس در میزان دریافت غذا شد و میزان دریافت غذا را به میزان زیادی کاهش داد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، هسته آکومبانس در زمینه دریافت غذا نیز سوگیری دارد و مهار آکومبانس راست بیشتر از آکومبانس چپ باعث مهار اثر استرس شد. متأسفانه به دلیل آن که ایزولاسیون حیوانات، خود نوعی استرس محسوب می‌شود و در این تحقیق امکان استفاده از قفس متابولیک برای مدت طولانی (مثلاً ۲۴ ساعت) وجود نداشت، به همین دلیل، امکان بررسی دقیق آنچه اتفاق افتاد و توضیح نتایج حاصل وجود ندارد. البته بررسی تغییرات وزن حیوانات می‌تواند نشانه خوبی

برای درستی ادعای فوق (افزایش میزان غذای دریافتی توسط حیوانات استرس دیده) باشد.

در بخش بعدی از تحقیق حاضر مشخص شد، استرس مزمن منجر به افزایش بسیار کم و ناچیزی در وزن موش‌های نر شد که این افزایش وزن از نظر آماری معنی‌دار نبود. تحقیقات نشان دادند که استرس مزمن در انسان باعث افزایش وزن و در موش‌ها منجر به کاهش وزن می‌گردد [۲۰]، که این نتیجه با نتایج تحقیق ما هم‌خوانی ندارد. در رابطه با تأثیر مسیر HPA بر فعالیت تغذیه‌ای موجودات زنده اعتقاد بر این است که وجود غلظت بالایی از کورتیزول در پلاسما و به تبع آن در مغز موجب حساس شدن زیاد دستگاه پاداش مغزی شده و این حساسیت زیاد با افزایش فعالیت‌های تغذیه‌ای و گرایش به مواد غذایی ویژه مانند چربی نمود پیدا می‌کند [۲۱]. در تحقیق قبلی ما که بر روی موش‌های ماده صورت پذیرفت نیز استرس موجب افزایش وزن در موش‌ها شد [۹]. افزایش وزن در تحقیق ما ممکن است به دلیل پرخوری ناشی از استرس باشد. از سویی دیگر، تجویز لیدوکائین به آمیگدال چپ موجب مهار اثر استرس شد و وزن حیوانات را کاهش داد و مهار موقت هسته آکومبانس به‌صورت دوطرفه و مهار آکومبانس راست تأثیری بر میزان تغییرات وزن نداشت. تحقیق حاضر نشان‌دهنده سوگیری هسته آکومبانس و تأثیر بیشتر آکومبانس چپ در زمینه تغییرات وزن است.

در قسمت پایانی این تحقیق مشخص شد استرس باعث افزایش معنی‌دار زمان تأخیر در شروع غذا خوردن گردید. نتیجه تحقیق حاضر با نتایج کار محققان دیگر هم‌خوانی دارد [۲۲]. از سوی دیگر، مهار هسته آکومبانس تا حدودی باعث مهار زمان تأخیر در غذا خوردن شد (ولی

نتوانست باعث مهار کامل آن شود) که در این زمینه نقش هسته آکومبانس راست پررنگ‌تر بود (مهار آکومبانس راست موجب مهار بیشتر اثر استرس در این زمینه شد). محققان معتقدند CRF ترشح شده از هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس موجب کاهش اشتها می‌شود [۲۳] و لذا افزایش زمان تأخیر در غذا خوردن در زمان استرس قابل پیش‌بینی بود. از سویی دیگر، با تجویز لیدوکائین و مهار موقت تمام گیرنده‌های موجود در هسته آکومبانس و در نتیجه کاهش ترشح CRF، کاهش در زمان تأخیر در غذا خوردن نیز طبیعی است.

نتیجه‌گیری

در یک جمع‌بندی کلی به نظر می‌رسد که آکومبانس راست و چپ در برابر استرس و پاسخ به علائم متابولیک استرس یکسان عمل نمی‌کنند و جانبی‌گرایی در هسته آکومبانس دیده می‌شود. به طوری که آکومبانس راست پاسخ‌های قوی‌تری در زمینه دریافت غذا و زمان تأخیر در غذا خوردن از خود نشان داد و آکومبانس چپ نیز پاسخ‌های بهتری در تغییرات وزن و میزان آبنوشی از خود بروز داد. البته باید در نظر گرفته شود که علاوه بر تأثیر جنسیت، پاسخ‌های متابولیکی بین استرس‌های حاد و مزمن نیز ممکن است متفاوت باشد و در تحقیقات بعدی می‌توان به نقش این هسته در استرس حاد نیز پرداخته شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) انجام شد. بدینوسیله از ریاست مرکز علوم اعصاب دانشگاه بقیه‌الله تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- [1] McEwen BS. The Brain on Stress: Toward an Integrative Approach to Brain, Body and Behavior. *Perspect Psychol Sci* 2013; 8(6): 673-5.
- [2] Yin J, Yuan Q. Structural homeostasis in the nervous system: a balancing act for wiring plasticity and stability. *Front Cell Neurosci* 2015; 8: 1-8.
- [3] Volkow ND, Morales M. The Brain on Drugs: From Reward to Addiction *Cell* 2015; 162(4): 712-25.
- [4] Berridge KC, Kringelbach ML. Pleasure systems in the brain. *Neuron* 2015; 86(3): 646-64.
- [5] Stratford TR, Wirtshafter D. Injections of muscimol into the paraventricular thalamic nucleus, but not mediodorsal thalamic nuclei, induce feeding in rats. *Brain Res* 2013; 1490: 128-33.
- [6] Stamatakis AM, Sparta DR, Jennings JH, McElligott ZA, Decot H, Stuber GD. Amygdala and bed nucleus of the stria terminalis circuitry: Implications for addiction-related behaviors. *Neuropharmacology* 2014; 76: 320-8.
- [7] Esmaeili MH, Sahraei H, Ali-Beig H, Ardehali-Ghaleh M, Mohammadian Z, Zardoos H, et al. Transient inactivation of the nucleus accumbens reduces both the expression and acquisition of morphine-induced conditioned place preference in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 102(2): 249-56.
- [8] Mrose HE, Ritchie JM. Local Anesthetics: do benzocaine and lidocaine act at the same single site? *J Gen Physiol* 1978; 71(2): 223-5.
- [9] 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 and Clinical Neuroscience* 2015; 6(4): 239-52.
- [10] Paxinos G, Franklin KBJ. The mouse brain in stereotaxic coordinates. Second Ed. 2001, San Diego, Academic Press.
- [11] Hooshmandi Z, Rohani AH, Eidi A, Fatahi Z, Golmanesh L, Sahraei H. Reduction of metabolic and behavioral signs of acute stress on male Wistar rats by saffron water extract and its constituent safranal. *Pharm Biol* 2011; 49(9): 947-54.
- [12] Miller DB, O'Callaghan JP. Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism* 2002; 51(6): 5-10.
- [13] Knepper MA. Molecular physiology of urinary concentrating mechanism: regulation of aquaporin water channels by vasopressin. *Am J Physiol* 1997; 272 (1 Pt 2): F3-F12.
- [14] Mulder AH, Geuze JJ, de Wied D. Studies on the subcellular localization of corticotrophin releasing factor (CRF) and vasopressin in the median eminence of the rat. *Endocrinology* 1970; 87(1): 61-79.

- [15] Sarahian N, Sahraei H, Zardoos H, Alibeik H, Sadeghi B, Javadifar T, et al. Comparative effect of memantine intraperitoneal and intra accumbal on responding to acute stress in female NMRI mice. *Physiol Pharmacol* 2014; 18(4): 383-96. [Farsi]
- [16] Dalman MF, Pecoraro N, La Fleur SE. chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behavior, Immunity* 2005; 19(4): 275-80.
- [17] Sadeghi B, Sahraei H, Zardoos H, Alibeik H, Sarahian N. Effects of intra-amygdala memantine infusion on metabolic symptoms induced by chronic stress in male NMRI mice. *Koomesh* 2015; 16(3): 376-83. [Farsi]
- [18] Gluck ME. Stress response and binge eating disorder. *Appetite* 2006; 46(1): 26-30.
- [19] Maniam J, Morris MJ. The link between stress and feeding behaviour. *Neuropharmacology* 2012; 63(1): 97-110.
- [20] Foster TC. Calcium homeostasis and modulation of synaptic plasticity in the aged brain. *Aging Cell* 2007; 6(3): 319-25.
- [21] Bose M, Oliván B, Laferrère B. Stress and obesity: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in metabolic disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16(5): 340-6.
- [22] Merali Z, Graitson S, Mackay JC, Kent P. Stress and eating: a dual role for bombesin-like peptides. *Front Neurosci* 2013; 7: 193 [23] Stengel A, Taché Y. CRF and urocortin peptides as modulators of energy balance and feeding behavior during stress. *Front Neurosci* 2014; 8: 52.

Role of Nucleus Accumbens in Response to Chronic Stress in Small Male NMRI Mouse

F. Eftekhari¹, H. Sahraei², H. Alibeik³, J. Rezaeian¹, F. Nikaeili¹, F. Ghamari¹, N. Sarahian⁴

Received: 23/05/2015 Sent for Revision: 12/09/2015 Received Revised Manuscript: 21/05/2016 Accepted: 24/05/2015

Background and Objectives: Role of different parts of the brain in stress management, especially nucleus accumbens (NAc), is not well known. In this study the role of NAc in response to chronic stress in male mice were evaluated.

Materials and Methods: In this experimental study, intra-accumbal uni- and bi-lateral cannulation was performed by stereotaxic instrument. Five minutes before stress induction, 2% lidocaine solution was administered to the animals intra-accumbally. Stress by Communication Box induced to the animals between 9-11 am for 4 consecutive days (8 groups of 6). Plasma corticosterone, food and water intake, animals' weight gain, and delay time in food intake were measured as stress metabolic signs. Data were analyzed using two-way analysis of variance.

Results: Stress increased plasma corticosterone and delayed the eating time ($p < 0.001$) and had no significant impact on weight changes and water intake. Lidocaine administration could not completely inhibit the plasma corticosterone levels and delays to eating time, compared with the control group. NAc transient inactivation inhibited stress in animals' food intake ($p < 0.001$) and weight ($p < 0.05$), significantly. As well as, lidocaine administration either unilateral of right or left side or bilateral decreased water intake ($p < 0.05$).

Conclusion: It seems that NAc, as a brain structure, plays a role in mediation of chronic stress effects on metabolic functions. There are also some differences between the right and left sides of the NAc which may reflect a kind of side bias in the functions of the NAc.

Key words: Chronic stress, Lidocaine, Nucleus accumbens

Funding: This research was funded by Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (AS) University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Baqiyatallah (AS) University of Medical Sciences approved the study.

How to cite this article: Eftekhari F, Sahraei H, Alibeik H, Rezaeian J, Nikaeili F, Ghamari F, Sarahian N. Role of Nucleus Accumbens in Response to Chronic Stress in Small Male NMRI Mouse. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2016; 15(4): 319-30. [Farsi]

1- MSc in Biology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

2- Prof., Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (AS) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Assistant Prof., Dept. of Biology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

4- MSc, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (AS) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Corresponding Author) Tel: (021) 26127286, Fax: (021) 26127286, E-mail: sarahiannahid@yahoo.com