

Evaluation of Electroconvulsive Therapy on Reserpine-induced Neuronal Degeneration and Depressive and Anxiety like Behaviors in Male Rats

Alizadeh Makvandi A*¹, Khalili M², Roghani M², Amiri Moghaddam S³

1. Department of Physiology, School of Science, Shahed University, Tehran, Iran

2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

3. Department of Pharmacy, School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

* *Corresponding author.* Tel: +986134163154, Fax: +986132241744, E-mail: Aciehalizadeh@yahoo.com

Received: Oct 22, 2019

Accepted: Dec 21, 2019

ABSTRACT

Background & objectives: Depression is a common and debilitating brain disorder and a type of psychiatric syndromes. The most common symptoms of this disease are irritability, worthlessness, sleep problems and anxiety disorders. Reserpine is a drug that can cause depression in animals if used at a very low dose. Electroconvulsive therapy (ECT) is one of the most effective non-pharmacological treatments for depression. In this study, the effect of electroconvulsive therapy on male rats depressed by reserpine in behavioral tests and neural counting in the hippocampus and prefrontal cortex areas was investigated.

Methods: In this experimental study, 40 male rats were used and they were divided into four groups of ten: 1-control group, 2- ECT group, 3- Depressed group induced by reserpine (0.2 mg/kg i.p.), 4- Depressed + ECT group. Open field, sucrose preference, forced swimming and elevated plus maze tests were used to evaluate anxiety and depression-related behavioral function. At the end of the tests, histochemical studies were performed with neuronal counting in the hippocampus and prefrontal cortex.

Results: The results of anxiety and depression behavioral tests showed a significant difference between depressed group and depressed+ECT group ($p < 0.05$). Similarly, studies of the tissue degeneration from hippocampal and prefrontal incisions, showed that ECT could significantly decrease cell death in the depressed+ECT group compared to the depressed group ($p < 0.05$).

Conclusion: According to the results, ECT can reduce the anxiety and depression behaviors induced by reserpine injections in depressed animals and can cause neurogenesis in the hippocampus and prefrontal cortex.

Keywords: Reserpine; Electroconvulsive Therapy; Depression; Male Rats; Hippocampus; Prefrontal

بررسی الکتروشوک درمانی بر دژنراسیون نورونی و رفتارهای افسردگی و اضطراب ناشی از تزریق رزپین در موش صحرایی نر

آسیه علیزاده مکوندی^{۱*}، محسن خلیلی^۲، مهرداد روغنی^۲، سارا امیری مقدم^۳

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۳. گروه داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۶۱۳۴۱۶۳۱۵۴ فاکس: ۰۶۱۳۲۲۴۱۷۴۴ پست الکترونیک: Aciehalizadeh@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: افسردگی یک اختلال مغزی شایع و تضعیف کننده توان مغز و از دیدگاه روان پزشکی نوعی سندروم است. شایع ترین علائم این بیماری بی حوصلگی، احساس پوچی، اختلال در خواب و اضطراب است. رزپین دارویی است که مصرف کم آن می تواند در حیوانات ایجاد افسردگی کند. الکتروشوک درمانی (ECT)، یکی از موثرترین راه های درمانی غیرفارماکولوژیک افسردگی است. در این مطالعه، اثر الکترو شوک درمانی بر موش های صحرایی نر که بوسیله رزپین افسرده شدند در آزمون های رفتاری و شمارش نورونی در ناحیه هیپوکمپ و کورتکس پری فورنتال مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی از ۴۰ سر موش صحرایی نر استفاده شد و آنها به چهار گروه ده تایی تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل، ۲- گروه ECT، ۳- گروه افسرده با رزپین (۲/۰ میلی گرم بر کیلوگرم درون صفاقی)، ۴- گروه افسرده + ECT. آزمون های زمینه باز، ترجیح سوکروز، شنای اجباری و ماز بعلاوه ارتفاع برای ارزیابی اضطراب و عملکردهای رفتاری ناشی از افسردگی مورد استفاده قرار گرفتند. در پایان آزمایشات، بررسی های هیستوشیمی از طریق شمارش نورونی در هیپوکمپ و کورتکس پری فورنتال انجام شد.

یافته ها: نتایج حاصل از آزمون های اضطراب و رفتارهای ناشی از افسردگی، بیانگر وجود تفاوت معنی داری بین گروه افسرده و افسرده + ECT است ($p < 0.05$). همچنین مطالعات دژنراسیون بافتی از برش های هیپوکمپ و قشر پری فورنتال، نشان دادند که ECT می تواند مرگ سلولی را در گروه افسرده + ECT نسبت به گروه افسرده، به میزان معنی داری کاهش دهد ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج، ECT می تواند اضطراب و رفتارهای ناشی از افسردگی را که پیامد تزریق رزپین است در حیوانات افسرده کاهش دهد و باعث نورونیز در هیپوکمپ و قشر پری فورنتال شود.

واژه های کلیدی: رزپین، الکتروشوک درمانی، افسردگی، موش صحرایی نر

پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۳۰

دریافت: ۱۳۹۸/۷/۳۰

مقدمه

ابتلا به افسردگی در زنان ۱/۷ برابر نسبت به مردان است و علت ۵۰ تا ۷۰ درصد خودکشی ها در سطح جهانی مربوط به این اختلال مغزی است [۱].

افسردگی و اضطراب از شایع ترین اختلالات مغزی در سطح جهانی است. طبق آمار گزارش شده، استعداد

از علائم افسردگی می‌توان به احساس غیرمفید بودن، احساس بی‌ارزشی، خستگی، اختلال در خواب، افکار مزاحم مربوط به خودکشی، اختلال در حافظه، اضطراب و دردهای ماهیچه‌ای اشاره کرد که منجر به کاهش کیفیت زندگی و یا مرگ و میر این افراد می‌شود [۲]. باید توجه داشت معمولاً افسردگی و اضطراب در کنار هم هستند که می‌تواند ناشی از عمر طولانی، بیکاری، مهاجرت و مصرف مواد شیمیایی گوناگون باشد [۳]. نظریه‌های زیادی برای توضیح پاتوفیزیولوژی افسردگی و اضطراب بیان شده است، از جمله می‌توان به تئوری مونوآمین‌ها، تئوری نوروترانسمیترهای آمینواسیدی و آتروفی نورونی و کاهش ارتباطات سیناپسی در نواحی کلیدی کورتیکال و لیمبیک و در معرض استرس قرار گرفتن و فعال شدن محور استرس اشاره کرد [۳-۶].

بر اساس تئوری مونوآمین‌ها، کاهش سطح مونوآمین‌های مغزی یعنی نورآدرنالین، سروتونین و دوپامین باعث بروز افسردگی می‌شوند [۴]. مونوآمین‌ها در ساختارهای سیستم عصبی مرکزی نظیر پری‌فورتال، کورتکس گیجگاهی، ساختارهای لیمبیک (هیپوکمپ و آمیگدال) و هسته‌های قاعده‌ای، مسئول شکل‌گیری ارتباط فورتال-ساب کورتیکال برای کنترل وظایفی در ارتباط با حرکت، انگیزش و پاداش هستند [۳]. علیرغم وظایف متعدد و مهمی که مونوآمین‌ها در بدن دارند، اما مطالعات نشان داده، مونوآمین‌ها، قابلیت خود اکسایشی (اتواکسیداسیون) در سیتوزول دارند، و در نتیجه متابولیسم و خوداکسایشی مونوآمین‌ها در سیتوزول، گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) تولید می‌شوند که افزایش آن‌ها باعث استرس اکسیداتیو می‌شود. استرس اکسیداتیو، یکی از علل اصلی در فرآیندهای مولکولی منتهی شونده به افسردگی است. از نظر فیزیولوژی، فاکتورهای متعددی نورون‌ها را در برابر عوامل آسیب رسان داخلی و خارجی حفظ می‌کنند. یکی از این فاکتورها، ناقل غشایی (ترانسپورتر) سروتونین و

کاتکولآمین‌ها در وزیکول‌های انتهایی پیش‌سیناپسی (VMAT₂)، که تنظیم‌کننده محیط سیتوزولی نورون‌ها است، می‌باشد. این ناقل مستقر در غشاء وزیکول‌ها، موجب ذخیره مونوآمین‌ها در وزیکول‌های سیناپسی پس از ساخت، برای تنظیم آزادسازی به درون شکاف سیناپسی می‌باشد، همچنین پس از آزادسازی، باعث بازجذب آن‌ها به درون نورون‌ها می‌شود، بنابراین بیان VMAT₂ نقش مهمی در حفظ سلامت نورون‌ها دارد و برای مهار اکسیداسیون ضروری است. از این رو اختلال در بیان VMAT₂، مکانیزم بازجذب فعال مونوآمین‌ها را متوقف و مانع ذخیره سازی آن‌ها می‌شود و همین امر باعث تجزیه مونوآمین‌ها تحت تاثیر آنزیم مونوآمین‌اکسیداز و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بدن می‌شود، که می‌تواند منتهی به استرس اکسیداتیو و بروز علائم افسردگی شود [۷]. از شاخص‌های استرس اکسیداتیو و افسردگی، افزایش بیومارکر مالون دی‌آلدئید (MDA) و کاهش سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن مثل سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و گلوتاتیون (GSH) است [۹،۸]. همچنین مطالعات نشان داده که فعال شدن مزمن محور استرس و رهایش کورتیزول باعث تخریب نورونی در هیپوکمپ، کورتکس پری‌فورتال و کاهش BDNF و محدود کردن نورونزیز می‌شود [۳].

برای درمان افسردگی از درمان‌های دارویی و غیردارویی استفاده می‌شود اما درمان اساسی افسردگی ترکیبی از روان‌درمانی و دارودرمانی است [۱۰،۱۱]. الکتروشوک‌درمانی "ECT" به عنوان موثرترین و رایج‌ترین درمان برای افسردگی، در مقایسه با دارودرمانی، در بیمارانی است که نسبت به دارو مقاومت نشان می‌دهند [۱۱]. لو^۱ و همکاران در تاثیر الکتروشوک درمانی در درمان رت‌های افسرده معلوم کردند که ECT می‌تواند باعث بهبود علائم

¹ Luo

مطالعه یک پژوهش تجربی بود که آزمایشات در دو بخش طراحی شدند. در بخش اول آزمایشات، دو گروه از حیوانات سالیان دریافت کردند گروه اول یا کنترل یک روز بعد از آخرین دریافت دارو، وارد تست‌های رفتاری با فاصله زمانی شدند. گروه دوم بعد از دریافت سالیان، الکتروشوک درمانی دریافت کردند و بعد از اعمال ECT وارد تست‌های رفتاری افسردگی و اضطراب با فاصله زمانی شدند.

در بخش دوم، گروه‌ها ابتدا رزپین دریافت کردند و گروه سوم بعد از ۲۴ ساعت از آخرین دریافت رزپین، وارد تست‌های رفتاری افسردگی و اضطراب شدند و گروه چهارم بعد از دریافت رزپین، به مدت ۷ روز الکتروشوک درمانی دریافت کردند سپس وارد تست‌های رفتاری افسردگی و اضطراب شدند، و پس از بررسی‌های هیستوشیمیایی، آنالیز واریانس یکطرفه در مورد چهارگروه در مورد تست‌های رفتاری و بررسی‌های هیستوشیمیایی به‌طور مجزا انجام شد.

ECT به صورت Bitemporal (0.5 ms pulse width, 100 pulses per second, 60 milliamps, 1.1 s duration) به مدت ۷ روز متوالی اعمال شد [۱۹].

رزپین (Sigma-Aldrich, USA) در نرمال سالیان حل و به حجم می‌رسید و حیوانات 0.2 mg/kg i.p. رزپین به مدت ۱۴ روز دریافت کردند [۱۷،۷]. نرمال سالیان هم معادل حجم دیگر تزریقات به حیوانات داده شد.

حیوانات آزمایشگاهی

تمامی آزمایش‌ها در تحقیق حاضر، با استفاده از موش‌های صحرایی بزرگ آزمایشگاهی جنس نر، بالغ و از نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۲۳۰ گرم انجام شد. این حیوانات از مرکز حیوانات آزمایشگاهی موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی حصارک کرج تهیه شده و در محل مرکز تست‌های رفتاری دانشگاه شاهد با دمای 24 ± 2 درجه سانتیگراد و دوره ۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی (تاریکی از ۷ شب تا

افسردگی در موش‌های افسرده شود [۱۲]. همچنین گزارش شده است که، ECT می‌تواند سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و گلوتاتیون (GSH) را در مغز موش‌های افسرده افزایش دهد [۱۳]. بعلاوه مطالعات دیگر نشان داد که ECT باعث فعال‌سازی سیستم دوپامینرژیک در مزولیمبیک و افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی در مغز و افزایش BDNF در هیپوکمپ می‌شود [۱۵،۱۴،۱۱].

رزپین الکلوتیدی است که برای درمان فشار خون استفاده می‌شود [۵]، اما مطالعات نشان داده که تزریق رزپین در مقادیر کم و بصورت متوالی، باعث افزایش مالون دی آلدئید و کاهش غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و فاکتور نوروتروفیک مغزی می‌شود. در تحقیقات به عمل آمده مشخص شد که رزپین با تاثیر بر مولکول‌های ناقل سروتونین و کاتکول آمین‌ها در وزیکول‌های انتهایی پیش سیناپسی (VMAT₂)، با جذب مونو آمین‌ها را مسدود و شرایط لازم را برای آنزیم مونو اکسیداز فراهم می‌کند که نتیجه آن، تپی شدن مغز از این انتقال‌دهنده‌های عصبی و به هم خوردن تعادل غلظت مونو آمین‌ها در سیستم عصبی مرکزی است [۱۶،۷]، بر همین اساس در کارهای تحقیقاتی از رزپین برای ایجاد مدل افسردگی در حیوانات استفاده می‌شود [۱۸،۱۷،۱۳،۷].

با توجه به تاثیر رزپین در القاء افسردگی و اثر درمانی ECT، در این مطالعه، اثر درمانی ECT بر موش‌های افسرده ناشی از تزریق رزپین با توجه به تست‌های رفتاری و شمارش نورونی در هیپوکمپ و پری فورنتال مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش کار

این تحقیق در بخش فیزیولوژی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه شاهد انجام شده و در کمیته اخلاق دانشگاه شاهد با کد IR.SHAHED.REC.1399.044 تایید گردید. این

قرار دهد. شاخص‌های ارزیابی در این تست، تعداد ورود به مرکز و تعداد عبور از خطوط جداکننده بخش‌های کف محیط و زمان در مرکز بودن حیوان بود. اساس این آزمون بر پایه ترس ذاتی حیوان از قرار گرفتن در ناحیه مرکزی این محیط است [۲۰، ۲۱].

تست ماز بعلاوه ارتفاع (EPMT)^۲

این تست جهت ارزیابی میزان اضطراب حیوان انجام شد. ماز بعلاوه ای شکل، مرتفع از جنس چوب سیاه و دارای چهار بازو، دو بازوی باز و دو بازوی بسته به شکل علامت بعلاوه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته ۵۰×۱۰ است که در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیوارهایی به بلندی ۴۰ سانتی متر قرار دارد چهار بازو به یک محدوده مرکزی ۱۰×۱۰ سانتی‌متری منتهی می‌شوند، ماز به وسیله پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین قرار می‌گیرد. نور مناسب به وسیله یک لامپ ۶۰ واتی که از طرف یک بازوی بسته به ماز تابانده می‌شود، تأمین می‌گردد. برای انجام تست‌های رفتاری، موش‌ها به طور جداگانه در مرکز ماز بعلاوه‌ای شکل رو به بازوی باز قرار می‌گرفتند و به آن‌ها اجازه داده می‌شد به مدت ۵ دقیقه آزادانه به جستجو بپردازند. در این مدت، ناظری که در یک متری ماز نشسته تعداد ورود و زمان سپری شده در هر بازو را طی ۵ دقیقه ثبت می‌کرد، برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در بازوی باز محاسبه می‌شد. افزایش زمان حضور در بازوهای باز یا ورود به بازوهای باز به عنوان فعالیت ضد اضطرابی و کاهش این دو شاخص به عنوان رفتار اضطرابی در نظر گرفته می‌شد [۲۲].

تست ترجیح سوکروز (SPT)^۳

این تست برای ارزیابی افسردگی بکار می‌رود. در این تست بعد از یک دوره ۲۳ ساعته محرومیت از غذا و آب، هرکدام از موش‌ها جداگانه به مدت یک ساعت

۷ صبح و روشنایی ۷ صبح تا ۷ شب) به صورت گروه‌های چهارتایی در قسمت‌های مخصوص نگهداری شدند. حیوانات بجز هنگام آزمایش‌های رفتاری به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. حداقل یک هفته قبل از آزمایشات، حیوانات خریداری شده و در مرکز تست‌های رفتاری دانشگاه شاهد جای داده می‌شدند. برای آسان شدن کار و سازش با شرایط محیط و آزمایش‌کننده، حیوانات سه روز قبل از آموزش، روزانه به مدت ۳ تا ۵ دقیقه دست‌آموز می‌شدند. آموزش و آزمون در دوره روشنایی و در محدوده ساعت ۸ تا ۱۴ انجام می‌گرفت.

برای انجام کار، حیوانات در گروه‌های ده تایی زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل به مدت دوهفته روزانه معادل حجم دیگر تزریقات نرمال سالین دریافت کردند.

۲- گروه دوم به مدت دوهفته روزانه معادل حجم دیگر تزریقات نرمال سالین دریافت کردند و بعد از پایان دوهفته و از روز پانزدهم به مدت ۷ روز متوالی ECT اعمال شد.

۳- گروه سوم دوز پایینی از داروی رزپین را روزانه در طی دو هفته دریافت کردند.

۴- گروه چهارم دوز پایینی از داروی رزپین را در طی دو هفته دریافت کردند و بعد از پایان دو هفته و از روز پانزدهم به مدت ۷ روز متوالی ECT اعمال شد.

تست‌های رفتاری

تست زمینه باز (OFT)^۱

محیط باز وسیله‌ای برای سنجش اضطراب است و یک محیط مربع شکل به پهنای ۷۲×۷۲ و دیواره‌های ۳۶ سانتی‌متر که به ۱۶ مربع (۱۸×۱۸) تقسیم می‌شود و یک مربع مرکزی (۱۸×۱۸) در وسط جعبه باز قرار دارد. در ابتدای آزمایش، موش به آرامی در مرکز محیط قرار داده می‌شد و برای ۵ دقیقه به حیوان اجازه داده می‌شد محوطه را آزادانه مورد جستجو

^۱ Open Field Test

^۲ Elevated Plus Maze Test

^۳ Sucrose Preference Test

به دو بطری پر از آب معمولی و سوکروز ۱٪ دسترسی آزاد پیدا می‌کردند. هر کدام از بطری‌ها قبل و بعد از دوره یک ساعته دسترسی به آب توزین

می‌شدند و سپس طبق رابطه زیر درصد ترجیح سوکروز محاسبه شد:

$$\text{درصد ترجیح سوکروز (SPP)} = \text{مصرف آب شیرین} / \text{کل آب مصرفی (آب معمولی + آب شیرین)} \times ۱۰۰ \text{ [۲۳].}$$

تست شنای اجباری (FST)^۱

این تست برای ارزیابی افسردگی و طی دو روز انجام می‌شد. در این تست از استوانه‌ای به بلندی ۵۰ و قطر ۱۹ سانتی‌متر استفاده شد. جنس استوانه از پلکسی‌گلاس و تا ارتفاع ۳۵ سانتیمتری از آب با دمای ۲۵° پر می‌شد. در روز اول برای خو گرفتن، حیوان را به مدت ۱۵ دقیقه در استوانه واجد آب قرار داده و بعد از تایم مورد نظر، حیوان را خارج کرده در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گذاشته تا خشک شود و ۲۴ ساعت بعد مجدد حیوان را در استوانه واجد آب قرار داده و به مدت ۵ دقیقه زمان بی‌حرکتی حیوان در آب را اندازه می‌گرفتیم. شاخص بی‌حرکتی حیوان شناور بودن حیوان در آب بود به طوری که فقط با حرکات بسیار جزئی سر حیوان خارج از آب قرار گیرد. این بی‌حرکتی یک استراتژی کنار آمدن با افسردگی تفسیر می‌شود [۳].

بررسی‌های هیستوشیمی

در پایان آزمایشات رفتاری پس از بیهوش نمودن چهار موش از هر گروه، مغز توسط محلول نرمال سالین و سپس محلول فیکساتیو حاوی پارافرم آلدئید ۴٪ پرفیوز شد، سپس از نمونه‌های فیکس شده قالب پارافینه تهیه شد و پس از قالب‌گیری با پارافین، با استفاده از دستگاه میکروتوم روتاتوری مقاطع کرونال با ضخامت ۷ میکرون تهیه و سپس برش‌ها بر روی لام‌های آلومینه قرار داده شدند. بعد از شفاف سازی و آبدهی، لام‌ها با استفاده از کریزل ویوله ۰/۱ درصد رنگ شدند و در نهایت مقاطع به وسیله چسب انتلان و لامل

پوشانده شدند. لام‌های رنگ شده به روش نیسل، توسط میکروسکوپ OLYMPUS AX70 با بزرگنمایی ۴۰x بررسی و بعد از تهیه عکس توسط نرم افزار Image J شمارش سلول‌های مرده انجام شد. برای شمارش سلول‌های مرده ناحیه CA1 هیپوکامپ در برش‌های کرونال انتخاب شد و تعداد سلول‌های مرده در این منطقه مشخص شده، شمارش گردید. دو مقطع ۳/۸ و ۵/۸ نسبت به برگما با توجه به اطلس Paxinos و Watson انتخاب و شمارش برای هر مقطع در ۵ برش با حداقل فاصله ۴۰ میکرون انجام شد. برای شمارش سلول‌های مرده در هر گروه سطحی برابر با ۱۲۵۰ میکرومترمربع در نظر گرفته شد. چروکیدگی سلول، از دست رفتن یکنواختی اجسام نیسل، تراکم سیتوپلاسم و هسته و پیکنوز شدن هسته توسط میکروسکوپ نوری بررسی گردید [۲۴].

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی و مقایسه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (version 13; SPSS, Chicago, IL, USA) استفاده شد. در ابتدا قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها، پارامتریک یا غیرپارامتریک بودن داده‌ها تعیین گردید. مقایسه بین داده‌های پارامتریک با آنالیز واریانس یکطرفه^۲ و مقایسه بین هر دو گروه با آزمون کمکی توکی صورت گرفت. در صورت غیرپارامتریک بودن داده‌ها از آزمون کروسکال والیس^۳ و پست آزمون مربوطه استفاده شد. نهایتاً حداقل سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

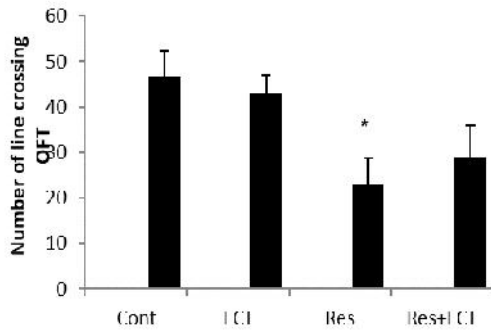
^۲ One way ANOVA

^۳ Kruskal Wallis

^۱ Forced Swimming Test

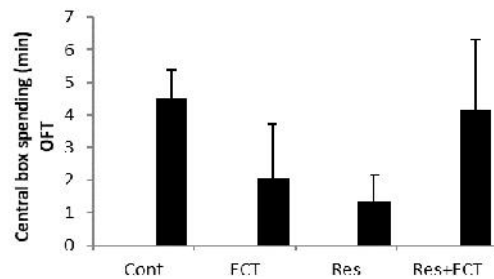
یافته‌ها

برای ارزیابی اضطراب، از آزمون‌های زمینه باز و ماز بعلاوه ارتفاع استفاده شد. در آزمون زمینه باز، سه مولفه تعداد ورود حیوان به مرکز، زمان سپری شده در مرکز و تعداد عبور از خطوط عرضی کف محیط ارزیابی شد، که آنالیز آماری از داده‌ها، تفاوت معنی‌داری را در تعداد ورود به مرکز و زمان سپری‌شده در مرکز بین گروه‌های مورد آزمایش نشان داد (نمودار ۱ و ۲). اما در مولفه تعداد عبور حیوان از خطوط کف محیط، گروه دریافت‌کننده رزپرین (۲۳/۲۵±۶۶) نسبت به گروه کنترل و الکتروشوک (۲۹±۶/۸۶۴) کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۳).



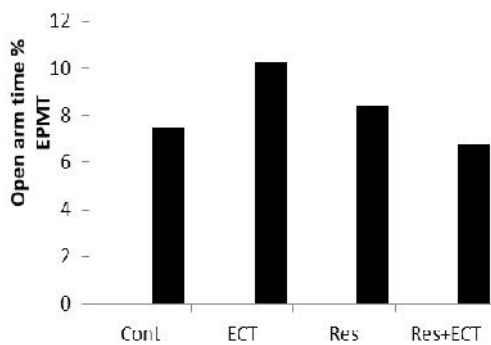
نمودار ۳. تعداد عبور از خطوط کف محیط در گروه‌های آزمایش در آزمون زمینه باز (OFT): ستون‌ها نشان‌دهنده تعداد عبور از خطوط کف محیط ± انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان‌دهنده معنی‌داری با گروه‌های Cont و ECT با $p < 0.05$ می‌باشد.
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups

در تست ماز بعلاوه ارتفاع دو مولفه زمان سپری‌شدن در بازوی باز و تعداد ورود به بازوی باز ارزیابی شد که آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت معنی‌داری در زمان سپری‌شدن در بازوی باز بین گروه‌های مورد آزمایش نشان نداد (نمودار ۴)، اما تعداد ورود به بازوی باز گروه دریافت‌کننده رزپرین (۶/۶۴±۲/۱۳) نسبت به سایر گروه‌های کنترل، الکتروشوک و رزپرین + الکتروشوک (۲۱/۴۹±۴/۲۲۳) و (۲۳/۲۲۵±۳/۳۷۸) کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۵).



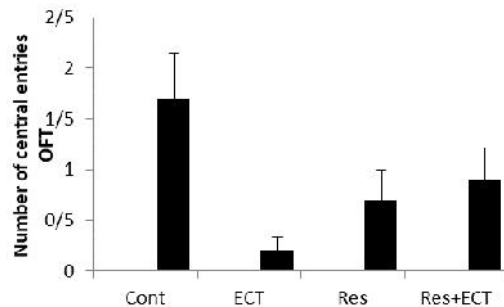
نمودار ۱. زمان سپری کردن در مرکز در گروه‌های آزمایش در آزمون زمینه باز (OFT): ستون‌ها نشان‌دهنده زمان سپری کردن در مرکز ± انحراف از استاندارد می‌باشد. بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups



نمودار ۴. زمان سپری شدن در بازوی باز در گروه‌های آزمایش در آزمون ماز بعلاوه ارتفاع (EPMT): ستون‌ها نشان‌دهنده زمان سپری شدن در بازوی باز ± انحراف از استاندارد می‌باشد. بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

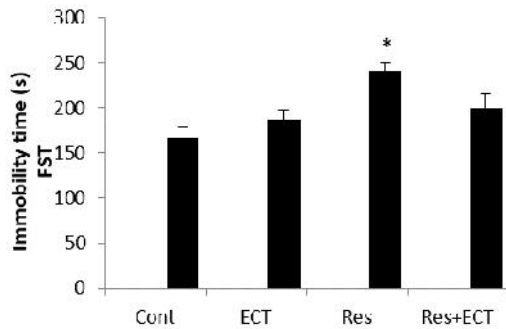
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups



نمودار ۲. تعداد ورود به مرکز در گروه‌های آزمایش در آزمون زمینه باز (OFT): ستون‌ها نشان‌دهنده تعداد ورود به مرکز ± انحراف از استاندارد می‌باشد. بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups

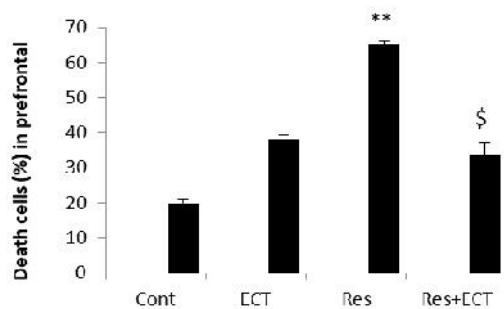
کنترل، الکتروشوک درمانی و رزپین + الکتروشوک درمانی (۱۸۷/۱±۱۰/۹۷۲ و ۱۶۷±۱۲/۳۳۸) افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۷).



نمودار ۷. زمان بی حرکتی در گروه‌های آزمایش در آزمون شنای اجباری (FST): ستون‌ها نشان دهنده زمان بی حرکتی ± انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان دهنده تفاوت معنی دار با سایر گروه‌ها و با $p < 0.05$ می‌باشد.

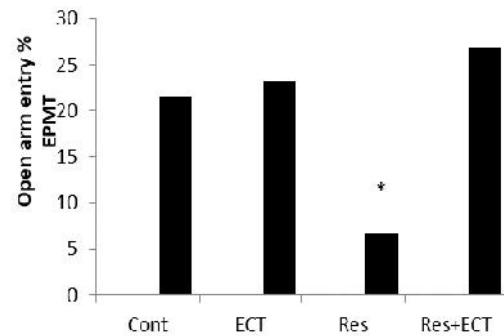
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups

در بررسی درصد مرگ سلولی در قشر پری فورنتال، گروه رزپین (۶۵/۱۸±۱/۰۸۳)، افزایش معنی داری نسبت به کنترل (۱۹/۹۷±۰/۹۸) نشان داد ($p < 0.01$)، و گروه رزپین + الکتروشوک درمانی (۳۳/۸±۳/۱۵) کاهش معنی داری را نسبت به گروه رزپین نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۸ و شکل ۱).



نمودار ۸. میزان مرگ نورونی در قشر پری فورنتال: ستون‌ها نشان دهنده مرگ سلولی ± انحراف از استاندارد می‌باشد. ** نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه Cont و با $p < 0.01$ می‌باشد و \$ تفاوت معنی دار با گروه Res و با $p < 0.05$ می‌باشد.

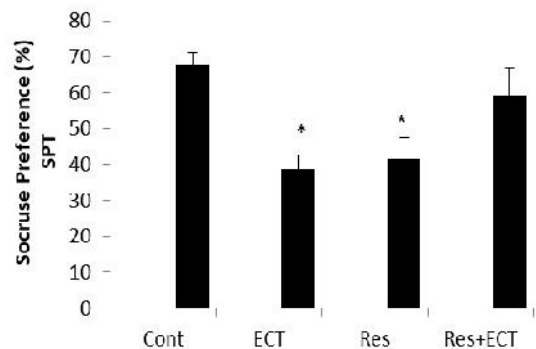
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups



نمودار ۵. تعداد ورود به بازوی باز در گروه‌های آزمایش در آزمون ماز بعلاوه ارتفاع (EPMT): ستون‌ها نشان دهنده تعداد ورود به بازوی باز ± انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان دهنده معنی داری با سایر گروه‌ها و با $p < 0.05$ می‌باشد.

Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups

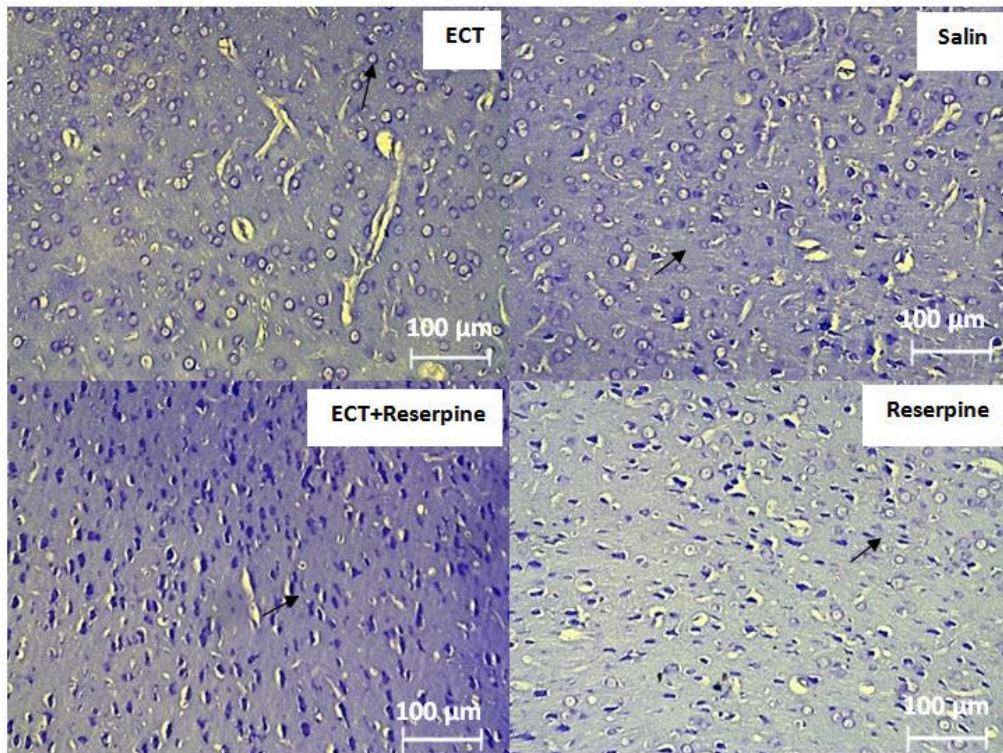
برای ارزیابی افسردگی، از آزمون‌های ترجیح سوکروز و شنای اجباری استفاده شد. در تست ترجیح سوکروز، تمایل گروه‌های دریافت کننده رزپین (۴۱/۶۸±۵/۷۵۷) و الکتروشوک درمانی (۳۸/۷۵±۴/۰۵۳) به آب شیرین نسبت به گروه‌های کنترل و رزپین + الکتروشوک درمانی (۶۷/۶۹±۳/۳۳) و (۵۹/۳۱±۷/۷۳۸) کاهش معنی داری - نشان دادند ($p < 0.05$) (نمودار ۶).



نمودار ۶. ترجیح آب شیرین به آب معمولی در گروه‌های آزمایش در آزمون ترجیح سوکروز (SPT): ستون‌ها نشان دهنده ترجیح سوکروز ± انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان دهنده تفاوت معنی دار گروه دریافت کننده رزپین و الکتروشوک درمانی با گروه کنترل و گروه دریافت کننده رزپین + ECT و با $p < 0.05$ می‌باشد.

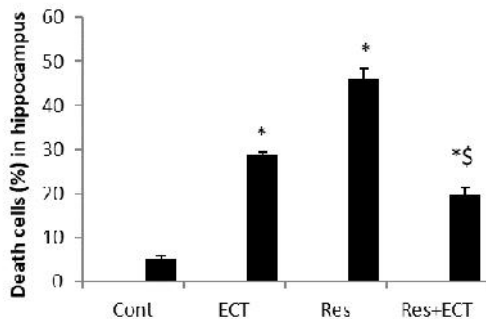
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups

در تست شنا، زمان بی حرکتی گروه دریافت کننده رزپین (۲۴۰/۵۸۸±۸/۷۲۹) نسبت به گروه‌های



شکل ۱. سلول‌های ناحیه قشر پری فورنتال

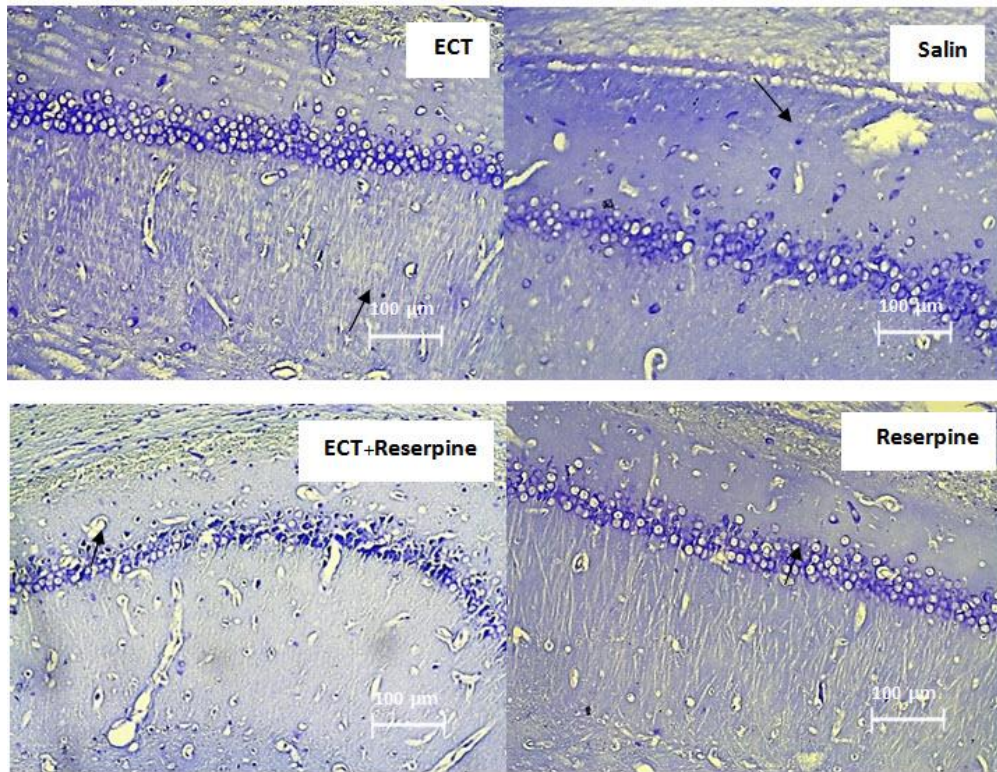
نوک پیکان سیاه سلول‌های مرده را نشان می‌دهد. رنگ آمیزی نیسل بزرگ‌نمایی ۴۰



نمودار ۲. میزان مرگ نورونی در قشر هیپوکامپ: ستون‌ها نشان-دهنده مرگ سلولی E انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه Cont و با $p < 0.05$ می‌باشد و § تفاوت معنی‌دار با گروه Res و با $p < 0.05$ می‌باشد.

Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups

در بررسی درصد مرگ سلولی در ناحیه CA₁ هیپوکامپ، گروه‌های رزپین (۴۵/۹۶±۲/۳۱)، الکتروشوک درمانی (۲۸/۶۶±۰/۷۸) و رزپین+ الکتروشوک درمانی (۱۹/۷۹±۱/۵۴) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (۵/۰۶±۰/۹۱) نشان دادند ($p < 0.05$)*، اما گروه رزپین+ الکتروشوک درمانی (۱۹/۷۹±۱/۵۴) در مقایسه با گروه رزپین (۴۵/۹۶±۲/۳۱) کاهش معنی‌دار را نشان داد ($p < 0.05$)§ (نمودار ۲ و شکل ۲).



شکل ۲. سلول‌های ناحیه CA₁ هیپوکمپ

نوک پیکان سیاه سلول‌های مرده را نشان می‌دهد. رنگ آمیزی نیسل بزرگ‌نمایی ۴۰

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ECT می‌تواند درمان مناسبی برای افسردگی و اضطراب ناشی از تزریق رزپین باشد. در همین راستا، مطالعاتی که بر روی اثربخشی ECT بر درمان افسردگی شده است، گزارش دادند که ECT می‌تواند نوروپلاستیسیته را در هیپوکمپ و آمیگدال افزایش داده و باعث بهبود حجم هیپوکمپ در بیماران افسرده شود [۲۵]. الهام زاهدی و همکاران در یک مطالعه بیان کردند که اثر آنتی‌اکسیدانی ECT در ناحیه فورنتال مغز، باعث بهبود علائم افسردگی در بیماران می‌شود [۱۵]. ژانگ^۱ و همکاران گزارش دادند که استرس مزمن، بیان فاکتور نوروتروفیک مغزی (BDNF) را در هیپوکمپ کاهش داده و درمان ECS باعث افزایش بیان آن می‌شود. افزایش این فاکتور مغزی تثبیت حافظه

فضایی هیپوکمپ را با تنظیم سیناپتوپلاستیسیته تسهیل می‌کند [۱۱].

همچنین مطالعات نشان داده است که CREB یک تعدیل‌کننده اصلی رشد عصبی است و در یادگیری و شکل‌گیری حافظه موثر است. BDNF یک ژن هدف CREB است و برای بقا، تمایز و پلاستیسیته عصبی بسیار مهم است. بیان BDNF / p-CREB و BDNF روند افزایشی پس از ECT دارند، که می‌تواند اثر ضد افسردگی ECT را نشان دهد [۱۷]. بنابراین BDNF نقش مهمی در رشد، تمایز، بقا نورونی دارد و یک فاکتور مهم در نورونیز و سیناپتوپلاستیسیته است [۲۶]. در راستای با این دستاوردها، مطالعه حاضر هم نشان داد گرچه اعمال ECT در حیوانات سالم، میزان مرگ سلولی را در دو ناحیه هیپوکمپ و قشر پری‌فورنتال بالا برد، ولی اعمال آن در حیوانات افسرده، در هر دو ناحیه مغزی، باعث کاهش مرگ

¹ Zhang

نورونی شد، که این اثر درمانی ECT بر درمان افسردگی می‌تواند نتیجه تاثیر آن بر بیان BDNF باشد.

در تحقیقی که بر روی حیوانات افسرده مدل CUMS قبل و بعد از تیمار با ECT انجام گرفت، لو و همکاران گزارش دادند که در مولفه مسافت طی شده در آزمون زمینه باز که معرف رفتار حرکتی است، حیوانات افسرده نسبت به حیوانات سالم تحرک کمتری داشتند، همچنین در آزمون ترجیح سوکروز، حیوانات افسرده تمایل کمتری به آب شیرین نسبت به حیوانات سالم نشان دادند که پس از تیمار با ECT، میزان تحرک در آزمون زمینه باز (مسافت طی شده) و تمایل به آب شیرین در حیوانات افسرده به طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافت [۱۷]. در مطالعه دیگر، خلیلی و همکاران گزارش دادند که پس از اعمال ECT بر روی حیوانات افسرده مدل CUMS، میزان تحرک حیوان در آزمون زمینه باز (عبور از خطوط عرضی کف دستگاه)، در سطح معنی‌داری افزایش یافت و تمایل حیوان به آب شیرین نسبت به گروه افسرده بدون تیمار بیشتر شد، همچنین بیان کردند که تیمار حیوانات افسرده با ECT، زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری را بطور مشخصی کاهش داد و باعث افزایش مدت زمان ورود حیوان به بازوی باز در تست ماز بعلاوه ارتفاع، شد گرچه به سطح معنی‌داری نرسید [۱۹].

در این مطالعه هم مشخص شد که اعمال ECT در افسردگی ناشی از رزپین می‌تواند میزان اضطراب را کم و علائم افسردگی را بهبود بخشد. در تست زمینه باز، تیمار موش‌های افسرده با ECT، زمان سپری شدن در مرکز را بهبود بخشید اما به سطح معنی‌داری نرسید، اما در همین تست، حیوانات افسرده تحت درمان ECT، تعداد عبورشان از خطوط عرضی کف دستگاه که معرف تحرک حیوان است، نسبت به حیوانات افسرده بدون تیمار، به طور معنی‌داری افزایش یافت و در تست ماز بعلاوه ارتفاع،

گرچه میزان ماندن حیوان در بازوی باز بعد از ECT تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، اما تعداد ورود حیوان به بازوی باز در گروه افسرده تحت درمان با ECT، نسبت به حیوانات افسرده، افزایش معنی‌داری را نشان داد که بیانگر کم‌شدن اضطراب حیوان است. همچنین این مطالعه نشان داد که پس از تیمار حیوانات افسرده با ECT، تمایل آن‌ها نسبت به آب شیرین افزایش یافت و در تست شنای اجباری، ECT در حیوانات افسرده زمان بی‌حرکتی را کاهش داد که نشان‌دهنده کاهش علائم افسردگی در حیوان است. در بعضی از مولفه‌های آزمون‌های زمینه باز و ماز بعلاوه ارتفاع، تفاوت معنی‌دار بین حیوانات افسرده و افسرده تحت درمان ECT وجود نداشت. بلند قامت و همکاران در بررسی اثر عصاره گیاه *Pinus eldarica* بر علائم افسردگی ناشی از رزپین گزارش دادند که این عصاره باعث بهبود زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری در حیوانات افسرده می‌شود، اما بر مولفه‌های تست زمینه باز بی‌تاثیر است، که می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که روش درمانی بکار گرفته شده بر روی مسیرهای درگیر در این تست‌ها تاثیری نداشته است، که نیاز به تحقیق بیشتر در این زمینه دارد [۱۹، ۲۷]. اگر چه مکانیسم دقیق عملکرد ECT مشخص نشده است، اما در واقع یک جریان مستقیم ترانس جمجمه‌ای است که جریان ثابت نسبتاً ضعیفی را ایجاد می‌کند که فعالیت عصبی خود به خودی را در داخل قشر مغز افزایش می‌دهد [۱۹]. علاوه بر این، مطالعات نشان دادند که ECT باعث فعال‌سازی سیستم دوپامینرژیک در مزولیمبیک می‌شود و همچنین بیشتر یافته‌های بالینی پیشنهاد می‌کنند که یک افزایش انتقال عصبی سروتونینی که بازتاب‌کننده Up-regulation رسپتورهای پس سیناپسی 5-HT_{1A} و 5-HT_{2A} در هیپوکمپ و پری فورنتال است، در پی ECT صورت می‌گیرد [۱۶]، اما برای روشن شدن مکانیسم دقیق ECT و تاثیر آن بر درمان افسردگی نیاز به تحقیقات بیشتری است. در تحقیق حاضر،

نتیجه گیری

مطابق تحقیقات انجام شده بر روی اثربخشی الکتروشوک درمانی در درمان افسردگی، مطالعه حاضر نیز نشان داد که الکتروشوک درمانی یک روش درمانی موثر در بهبود علائم افسردگی و اضطراب در مدل افسردگی ناشی از تزریق رزپین در موش بزرگ آزمایشگاهی نر است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارکنان آزمایشگاه مرکزی و آزمایشگاه رفتار حیوانی دانشگاه شاهد که در این مطالعه ما را یاری کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

پروتکل کار بنا بر خارج کردن مغز و بررسی‌های هیستوشیمیایی بوده که همین امر مطالعه را محدود به نمونه‌های حیوانی کرد، اما با توجه به مدل افسردگی ناشی از تزریق رزپین در حیوانات و تأثیری که رزپین بر مونوآمین‌ها دارد، می‌توان نتیجه گرفت ECT با تأثیر بر سیستم نوروترانسمیتری درگیر در افسردگی باعث بهبود علائم ناشی از این بیماری می‌شود، هرچند این کار نیاز به بررسی بیشتر در زمینه مولکولی و سنجش آنزیمی و مسیر سیگنالینگ دارد.

References

- 1- Saghafian F, Malmir H, Saneei P, Milajerdi A, Larjani B, Esmailzadeh A. Fruit and vegetable consumption and risk of depression: accumulative evidence from an updated systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Br J Nutr*. 2018 May;119(10):1087-1101.
- 2- Zou L, Yeung A, Li C, Wei GX, Chen KW, Kinser PA, et al. Effects of meditative movements on major depressive disorder: A systematic review and meta-Analysis of randomized controlled trials. *J Clin Med*. 2018 Aug; 1;7(8):195
- 3- Ratajczak PK, Kus K, Zaprutko T, Szczepa ski M, Nowakowska E. Antidepressant and anxiolytic efficacy of single , chronic and concomitant use of vortioxetine , dapoxetine and fluoxetine in prenatally stressed rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2019 Jan;79(1):13-24
- 4- Mitchell ND, Baker GB. An update on the role of glutamate in the pathophysiology of depression. *Acta Psychiatr Scand*. 2010 Sep;122(3):192-210.
- 5- Porter JH, Hillhouse TM. A brief history of the development of antidepressant drugs: from monoamines to glutamate. *Exp Clin Psychopharmacol*. 2015 Feb;23(1):1-21.
- 6- Fajemiroye JO, Silva DM, DeOliveira DR, Costa EA. Treatment of anxiety and depression: medicinal plants in retrospect. *Fundam Clin Pharmacol*. 2016 Jun;30(3):198-215.
- 7- Antkiewicz-Michaluk L, Wasik A, Mozdzen E, Romanska I, Michaluk J. Antidepressant-like effect of tetrahydroisoquinoline amines in the animal model of depressive disorder induced by repeated administration of a low dose of reserpine: behavioral and neurochemical Studies in the Rat. *Neurotox Res*. 2014 Jul;26(1):85-98.
- 8- Bajpai A, Verma AK, Srivastava M, Srivastava R. Oxidative stress and major depression. *J Clin Diagn Res*. 2014 Dec;8(12):CC04-7.
- 9- Lopresti AL, Maker GL, Hood SD, Drummond PD. A review of peripheral biomarkers in major depression: The potential of inflammatory and oxidative stress biomarkers. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014 Jan 3;48:102-11.
- 10- Friedman MA, Detweiler-Bedell JB, Leventhal HE, Horne R, Keitner GI, Miller IW. Combined psychotherapy and pharmacotherapy for the treatment of major depressive disorder. *Clin Psychol Sci Pract*. 2004 Spring; 11(1): 47-68.
- 11- Zhang F, Luo J, Min S, Ren L, Qin P. Propofol alleviates electroconvulsive shock-induced memory impairment by modulating proBDNF / mBDNF ratio in depressive rats. *Brain Res*. 2016 Jul 1;1642:43-50.
- 12- Luo J, Min Su, Wei k, Cao J, Wang B, Li P, et al. Behavioral and molecular responses to electroconvulsive shock differ between genetic and environmental rat models of depression.

- Psychiatry Res. 2015 Apr 30;226(2-3):451-60.
- 13- Sousa FSS, Birmann TP, Baldinotti R, Fronza MG, Balaguez R, Alves D, et al. - (phenylselanyl) acetophenone mitigates reserpine-induced pain-depression dyad: Behavioral, biochemical and molecular docking evidences. *Brain Res Bull.* 2018 Sep;142:129-137.
- 14- Baldinger P, Lotan A, Frey R, Kasper S, Lerer B, Lanzenberger R. Neurotransmitters and Electroconvulsive Therapy. *J ECT.* 2014 Jun;30(2):116-21.
- 15- Zahedi E, Sanaei Rad A, Khalili M, Esmail Jamaat E, Salari S. The effect of electroconvulsive therapy on the levels of oxidative stress factors in the prefrontal cortex of depressed rats. *J Basic Clinl Pathophysiol.* 2018 Sep; 6(2): 27-32.
- 16- Khanzode SD, Dakhale GN, Khanzode SS, Saoji A, Palasodkar R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. *Redox Rep.* 2003 July; 8(6): 365-70.
- 17- Yu H, Lv D, Shen M, Zhang Y, Zhou D, Chen Z, et al. BDNF mediates the protective effects of scopolamine in reserpine-induced depression-like behaviors via up-regulation of 5-HTT and TPH1. *Psychiatry Res.* 2019 Jan;271:328-334.
- 18- Ikram H, Haleem DJ. Repeated treatment with reserpine as a progressive animal model of depression. *Pak J Pharm Sci.* 2017 May;30(3):897-902.
- 19- Khalili M, Zahedi E, Narenjkar J, Sanaie Rad A. Ameliorative activity of co-administration of ketamine and ECT on depression like behaviors in depressed rats. *J Basic Clin Pathophysiol.* 2018 Feb; 6(1): 43-48.
- 20- Ishola IO, Jacinta AA, Adeyemi OO. Cortico-hippocampal memory enhancing activity of hesperetin on scopolamine-induced amnesia in mice: role of antioxidant defense system, cholinergic neurotransmission and expression of BDNF. *Metab Brain Dis.* 2019 Aug;34(4):979-989.
- 21- Tanaka S, Young JW, Halberstadt AL, Masten VL, Geyer MA. Four factors underlying mouse behavior in an open field. *Behav Brain Res.* 2012 Jul 15;233(1):55-61.
- 22- Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc.* 2007 Feb;2(2):322-8.
- 23- Luo J, Min S, Wei k, Cao J, Wang B, Li P, et al. Propofol prevents electroconvulsive-shock-induced memory impairment through regulation of hippocampal synaptic plasticity in a rat model of depression. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2014 Sep; 10:1847-59.
- 24- Soleimani Asl S, Shekarriz N, Molavi N, Basirat A, Falahati P, Esmaeili F, et al. Effect of 3-4,methylenedioxymethamphetamine in CA1 hippocampal neurons in male Rats. *J Gorgan Uni Med Sci.* 2012 Mar; 15(1): 31-37. full text in persian
- 25- Joshi SH, Espinoza RT, Pirnia T, Shi J, WangY, Ayers B, et al. Structural plasticity of the hippocampus and amygdala induced by electroconvulsive therapy in major depression. *Biol Psychiatry.* 2016 Feb 15;79(4):282-92.
- 26- Levy MJF, Boulle F, Steinbusch HW, van den Hove DLA, Kenis G, Lanfumey L. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression. *Psychopharmacology (Berl).* 2018 Aug;235(8):2195-2220.
- 27- Bolandghamat S, Moghimi A, Iranshahi M. Effects of ethanolic extract of pine needles (*Pinus eldarica* Medw) on reserpine-induced depression-like behavior in male Wistar rats. *Pharmacogn Mag.* 2011 Jul;7(27):248-53.