

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^{*}, محسن خلیلی^۱, 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: ۰۶۱۳۳۴۱۷۴۴ پست الکترونیک: Aciehalizadeh@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: افسردگی یک اختلال مغزی شایع و تضعیف کننده توان مغز و از دیدگاه روانپزشکی نوعی سندروم است. شایع‌ترین علائم این بیماری بی‌حواله‌گی، احساس پوچی، اختلال در خواب و اضطراب است. رزپین داروبی است که مصرف کم آن می‌تواند در حیوانات ایجاد افسردگی کند. الکتروشوک درمانی (ECT)، یکی از موثرترین راههای درمانی غیرفارماکولوژیک افسردگی است. در این مطالعه، اثر الکتروشوک درمانی بر موش‌های صحرایی نر که بوسیله رزپین افسرده شدند در آزمون‌های رفتاری و شمارش نورونی در ناحیه هیپوکمپ و کورتکس پری‌فورنال مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی از ۴ 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 کیلو گرم درون صفاقی)، ۴- گروه افسرده+ ECT. آزمون‌های زمینه باز، ترجیح سوکروز، شناخت اجباری و ماز بعلاوه ارتفاع برای ارزیابی اضطراب و عملکردهای رفتاری ناشی از افسردگی مورد استفاده قرار گرفتند. در پایان آزمایشات، بررسی‌های هیستوشیمی از طریق شمارش نورونی در هیپوکمپ و کورتکس پری‌فورنال انجام شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از آزمون‌های اضطراب و رفتارهای ناشی از افسردگی، بیانگر وجود تفاوت معنی‌داری بین گروه افسرده و افسرده+ ECT است ($p<0.05$). همچنین مطالعات دژنراسیون بافتی از برಶهای هیپوکمپ و قشر پری‌فورنال، نشان دادند که ECT می‌تواند مرگ سلولی را در گروه افسرده+ ECT نسبت به گروه افسرده، به میزان معنی‌داری کاهش دهد ($p<0.05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج ECT می‌تواند اضطراب و رفتارهای ناشی از افسردگی را که پیامد تزریق رزپین است در حیوانات افسرده کاهش دهد و باعث نوروثنیزی در هیپوکمپ و قشر پری‌فورنال شود.

واژه‌های کلیدی: رزپین، الکتروشوک درمانی، افسردگی، موش صحرایی نر

دریافت: ۱۳۹۸/۷/۳۰ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۳۰

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

مقدمه

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

کاتکول آمین‌ها در وزیکول‌های انتهایی پیش‌سیناپسی (VMAT₂)، که تنظیم کننده 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 این‌رو 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 علیم افسردگی شود [۷]. از شاخص‌های استرس اکسیداتیو و افسردگی، افزایش بیومارکر مالون دی‌آلدهید (MDA) و کاهش سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن مثل سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و گلوتاتیون (GSH) است [۹،۸]. همچنین مطالعات نشان داده که فعال شدن مژمن محور استرس و رهایش کورتیزول باعث تخریب نورونی در هیپوکمپ، کورتکس پری‌فورنال و کاهش BDNF و محدود کردن نوروژنریز 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 افسردگی معلوم کردند که ECT می‌تواند باعث بهبود علائم

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 پری‌فورنال، کورتکس گیجگاهی، ساختارهای لیمبیک (هیپوکمپ و آمیگدال) و هسته‌های قاعده‌ای، مسئول شکل گیری ارتباط فورنال- 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 خود اکسایشی مونوآمین‌ها در سیتوزول، گونه‌های واکنش 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 فاکتورهای ناقل غشایی (ترانسپورتر) سروتونین و

¹ Luo

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

در بخش دوم، گروه‌ها ابتدا رزرپین دریافت کردند و گروه سوم بعد از ۲۴ ساعت از آخرین دریافت رزرپین، وارد تست‌های رفتاری افسردگی و اضطراب شدند و گروه چهارم بعد از دریافت رزرپین، 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 چهار گروه در مورد تست‌های رفتاری و بررسی‌های هیستوشیمیایی به طور مجزا انجام شد. ECT به صورت Bitemporal pulse (0.5 ms width, 100 pulses per second, 60 milliamps, 0.5 ms duration) برای آن ۱.1 s به مدت ۷ روز متوالی اعمال شد [۱۹].

رزرپین (Sigma-Aldrich, USA) در نرمال سالین حل و به حجم می‌رسید و حیوانات i.p. ۰.۲ mg/kg رزرپین به مدت ۱۴ روز دریافت کردند [۱۷]. نرمال سالین 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 گلوتاکیون (GSH) را در مغز موش‌های افسرده افزایش دهد [۱۳]. بعلاوه مطالعات دیگر نشان داد که ECT باعث فعال‌سازی سیستم دوبامینرژیک در مزولیمبیک و افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی در مغز و افزایش BDNF در هیپوکمپ می‌شود [۱۴، ۱۵، ۱۱].

رزرپین الکالوئیدی است که برای درمان فشار خون استفاده می‌شود [۵]. اما مطالعات نشان داده که تزریق رزرپین در مقادیر کم و بصورت متوالی، باعث افزایش مالون دی‌آلدئید و کاهش غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و فاکتور نوروتروفیک مغزی می‌شود. در تحقیقات به عمل آمده مشخص شد که رزرپین با تاثیر بر مولکول‌های ناقل سروتونین و کاتکول‌آمین‌ها در وزیکوهای انتهای پیش سیناپسی (VMAT₂) بازجذب مونو‌آمین‌ها را مسدود و شرایط لازم برای آنزیم مونو‌اکسیداز فراهم می‌کند که نتیجه آن، تهی شدن مغز از این انتقال‌دهنده‌های عصبی و به هم‌خوردن تعادل غلظت مونو‌آمین‌ها در سیستم عصبی مرکزی است [۱۶]. بر همین اساس در کارهای تحقیقاتی از رزرپین برای ایجاد مدل افسردگی در حیوانات استفاده می‌شود [۱۸، ۱۷، ۱۳، ۷]. با توجه به تاثیر رزرپین در القاء افسردگی و اثر درمانی ECT، در این مطالعه، اثر درمانی ECT بر موش‌های افسرده ناشی از تزریق رزرپین با توجه به تست‌های رفتاری و شمارش نورونی در هیپوکمپ و پری فورنال 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 جداگانه بخش‌های کف محیط و زمان در مرکز بودن حیوان بود. اساساً این آزمون بر پایه ترس ذاتی حیوان از قرارگرفتن در ناحیه مرکزی این محیط است [۲۱، ۲۰].

تست ماز بعلووه ارتفاع (EPMT)^۲

این تست جهت ارزیابی میزان اضطراب حیوان انجام شد. ماز بعلووه ای شکل، مرتفع از جنس چوب سیاه و دارای چهار بازو، دو بازوی باز و دو بازوی بسته به شکل علامت بعلووه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته 10×50 است که در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیوارهایی به بلندی ۴ سانتی متر قرار دارد چهار بازو به یک محدوده مرکزی 10×1 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 بعلووه‌ای شکل رو به بازوی باز قرار می‌گرفتند و به آنها اجازه داده می‌شد به مدت ۵ دقیقه آزادانه به جستجو پردازند. 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 ضداضطرابی 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، هر کدام 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 خردباری 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 دست‌آموزش می‌شوند. 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 رزربین را روزانه در طی دو هفته دریافت کردند.

۴- گروه چهارم دوز پایینی از داروی رزربین 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 دیوارهای ۳۶ سانتی‌متر که به مربع (18×18) تقسیم می‌شود و یک مربع مرکزی (18×18) 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

¹ Open Field Test

² Elevated Plus Maze Test

³ Sucrose Preference Test

می شدند و سپس طبق رابطه زیر درصد ترجیح سوکروز محاسبه شد:

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

$$\text{درصد ترجیح سوکروز (SPP)} = \frac{\text{صرف آب شیرین}}{\text{آب معمولی} + \text{آب شیرین}} \times 100 \quad [۲۳].$$

پوشانده شدند. لامهای رنگ شده به روش نیسل، توسط میکروسکوپ OLYMPUS، AX70 با بزرگنمایی $\times 40$ بررسی و بعد از تهییه عکس توسط نرم افزار J Image شمارش سلول های مرده انجام شد. برای شمارش سلول های مرده، ناحیه CA1 هیپوکامپ در برش های کرونال انتخاب شد و تعداد سلول های مرده در این منطقه مشخص شده، شمارش گردید. دو مقطع $3/8$ و $5/8$ نسبت به برگما با توجه به اطلس Paxinos و Watson انتخاب و شمارش برای هر مقطع در ۵ برش با حداقل فاصله 4 میکرون انجام شد. برای شمارش سلول های مرده در هر گروه سطحی برابر با 125 میکرومتر مربع در نظر گرفته شد. چروکیدگی سلول، از دست رفتن یکنواختی اجسام نیسل، تراکم سیتوپلاسم و هسته و پیکنوze شدن هسته توسط میکروسکوپ نوری بررسی گردید [۲۴].

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی و مقایسه داده ها از نرم افزار SPSS (version 13; SPSS, Chicago, IL, USA) استفاده شد. در ابتدا قبل از تجزیه و تحلیل داده ها، پارامتریک یا غیر پارامتریک بودن داده ها تعیین گردید. مقایسه بین داده های پارامتریک با آنالیز واریانس یک طرفه^۲ و مقایسه بین هر دو گروه با آزمون کمکی توکی صورت گرفت. در صورت غیر پارامتریک بودن داده ها از آزمون کروکال والیس^۳ و پس از آزمون مربوطه استفاده شد. نهایتاً حداقل سطح معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

تست شناور اجباری (FST)^۱

این تست برای ارزیابی افسردگی و طی دو روز انجام می شد. در این تست از استوانه ای به بلندی ۵۰ و قطر ۱۹ سانتی متر استفاده شد. جنس استوانه از پلکسی گلاس و تا ارتفاع ۳۵ سانتی متری از آب با دمای 25° پر می شد. در روز اول برای خو گرفتن، حیوان را به مدت ۱۵ دقیقه در استوانه وارد آب قرار داده و بعد از تایم مورد نظر، حیوان را خارج کرده در دمای 30° درجه سانتی گراد گذاشته تا خشک شود و ۲۴ ساعت بعد مجدد حیوان را در استوانه وارد آب قرار داده و به مدت ۵ دقیقه زمان بی حرکتی حیوان در آب را اندازه می گرفتیم. شاخص بی حرکتی حیوان شناور بودن حیوان در آب بود به طوری که فقط با حرکات بسیار جزئی سر حیوان خارج از آب قرار گیرد. این بی حرکتی یک استراتژی کنار آمدن با افسردگی تفسیر می شود [۳].

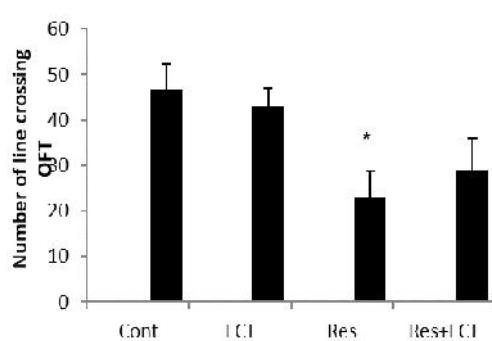
بررسی های هیستوشیمی

در پایان آزمایشات رفتاری پس از بیهوش نمودن چهار موش از هر گروه، مغز توسط محلول نرم مال سالین و سپس محلول فیکساتیو حاوی پارافرم آلدئید ۴٪ پروفیوز شد، سپس از نمونه های فیکس شده قالب پارافینه تهییه شد و پس از قالب گیری با پارافین، با استفاده از دستگاه میکرو توم روتاتوری مقاطع کرونال با ضخامت ۷ میکرون تهییه و سپس برش ها بر روی لامهای آلبومینه 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

² One way ANOVA

³ Kruskal Wallis

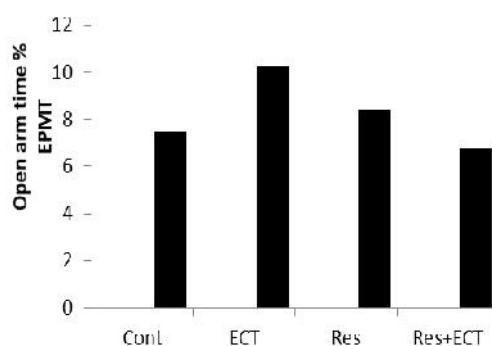
¹ Forced Swimming Test



نمودار ۳. تعداد عبور از خطوط کف محیط در گروههای آزمایش در آزمون زمینه باز (OFT): ستون‌ها نشان‌دهنده تعداد عبور از خطوط کف محیط از انحراف از استاندارد می‌باشد.* نشان‌دهنده معنی‌داری با گروههای Cont و ECT و $p < 0.05$ 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 دریافت کننده رزربین (۶/۶۴±۲/۱۳) نسبت به سایر گروههای کنترل، الکتروشوک و رزربین + الکتروشوک (۲۳/۴۹±۴/۲۳) و (۲۶/۵±۸۵۶/۰۳۳ و ۲۳/۲۲۵±۳/۳۷۸) کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۵).

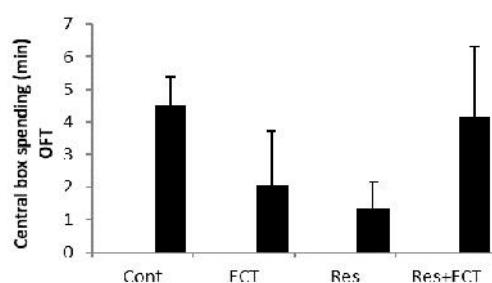


نمودار ۴. زمان سپری‌شدن در بازوی باز در گروههای آزمایش در آزمون ماز بعلاوه ارتفاع (EPMT): ستون‌ها نشان‌دهنده زمان سپری‌شدن در بازوی باز از انحراف از استاندارد می‌باشد. بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

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

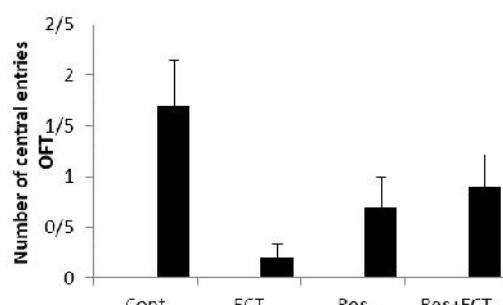
یافته‌ها

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 سپری‌شده 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 نداد (نمودار ۱ و ۲). اما در مولفه تعداد عبور حیوان از خطوط کف محیط، گروه دریافت کننده رزربین (۵±۲/۲۳/۲) نسبت به گروه کنترل و الکتروشوک (۴۳/۱±۳/۹۹ و ۲۹±۶/۸۶۴) کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۳).



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

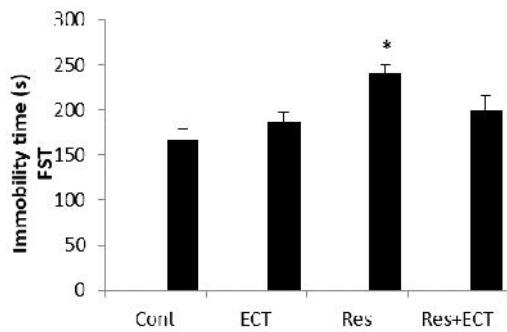
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups



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

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

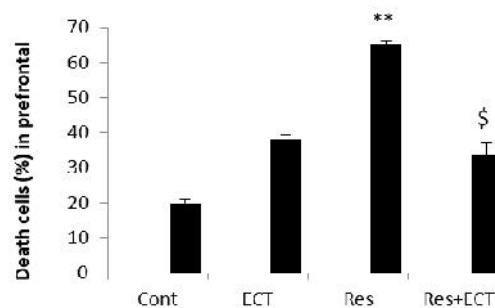
کنترل، الکتروشوک درمانی و رزپین + الکتروشوک درمانی ($167 \pm 12/338$ و $187 \pm 10/972$ و $199/823 \pm 16/392$) افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). (نمودار ۷).



نمودار ۷. زمان بی حرکتی در گروه‌های آزمایش در آزمون شناختی اجباری (FST): ستون‌ها نشان‌دهنده زمان بی حرکتی \bar{x} انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با سایر گروه‌ها و با $p < 0.05$ می‌باشد.

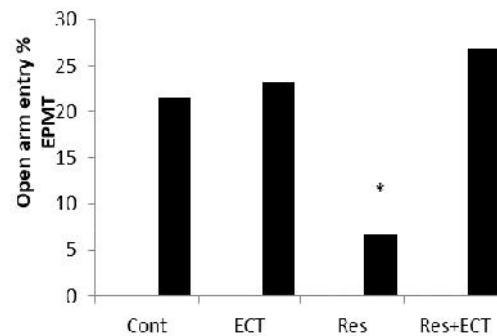
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups

در بررسی درصد مرگ سلولی در قشر پری‌فورتال، گروه رزپین ($65/18 \pm 1/0.83$)، افزایش معنی‌داری نسبت به کنترل ($19/97 \pm 0/98$) نشان داد ($p < 0.01$ ، و گروه رزپین + الکتروشوک درمانی ($33/8 \pm 3/15$) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه رزپین نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۸ و شکل ۱).



نمودار ۸. میزان مرگ نورونی در قشر پری‌فورتال: ستون‌ها نشان‌دهنده مرگ سلولی \bar{x} انحراف از استاندارد می‌باشد. ** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه Cont و با $p < 0.01$ می‌باشد و \$ تفاوت معنی‌دار با گروه Res و با $p < 0.05$ می‌باشد.

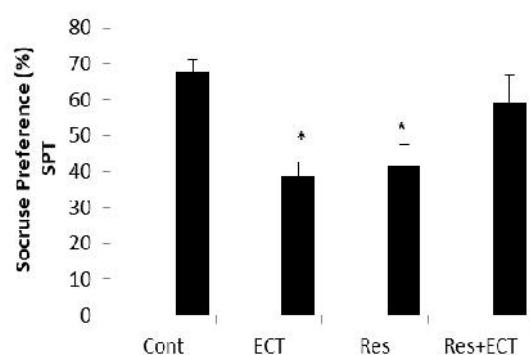
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups



نمودار ۵. تعداد ورود به بازوی باز در گروه‌های آزمایش در آزمون ماز بعلوه ارتفاع (EPMT): ستون‌ها نشان‌دهنده تعداد ورود به بازوی باز \bar{x} انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان‌دهنده معنی‌داری با سایر گروه‌ها و با $p < 0.05$ می‌باشد.

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

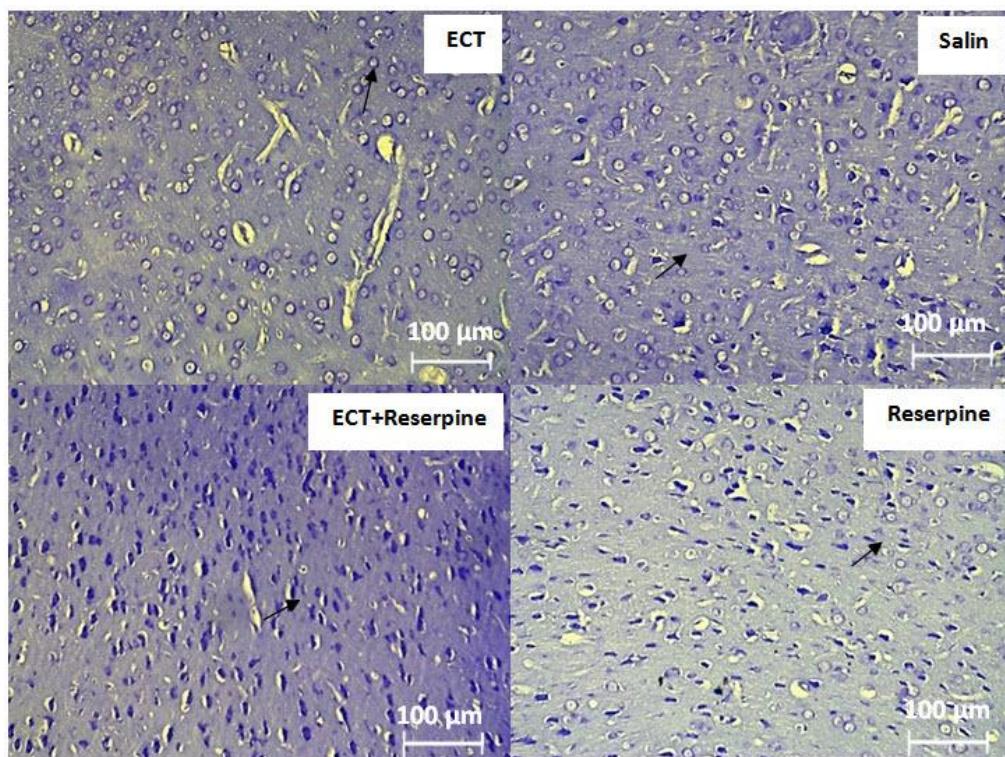
برای ارزیابی افسردگی، از آزمون‌های ترجیح سوکروز و شناختی اجباری استفاده شد. در تست ترجیح سوکروز، تمایل گروه‌های دریافت کننده رزپین ($41/68 \pm 5/757$) و الکتروشوک درمانی ($38/75 \pm 4/0.53$) به آب شیرین نسبت به گروه‌های کنترل و رزپین + الکتروشوک درمانی ($67/69 \pm 3/33$ و $59/31 \pm 2/738$) کاهش معنی‌داری - نشان دادند ($p < 0.05$) (نمودار ۶).



نمودار ۶. ترجیح آب شیرین به آب معمولی در گروه‌های آزمایش در آزمون ترجیح سوکروز (SPT): ستون‌ها نشان‌دهنده ترجیح سوکروز \bar{x} انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار گروه دریافت کننده رزپین و الکتروشوک درمانی با گروه کنترل و گروه دریافت کننده رزپین + ECT و با $p < 0.05$ می‌باشد.

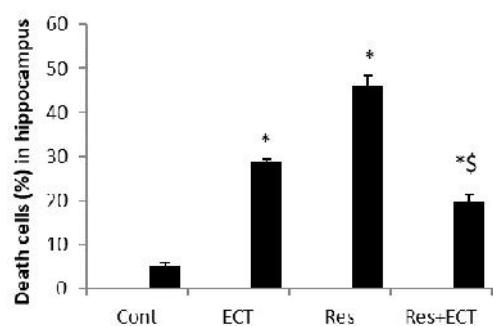
Cont=Control, ECT=Electroconvulsive, Res=Reserpine
n=10/groups

در تست شنا، زمان بی حرکتی گروه دریافت کننده رزپین ($588 \pm 8/529$) نسبت به گروه‌های



شکل ۱. سلول‌های ناحیه قشر پری فورتات

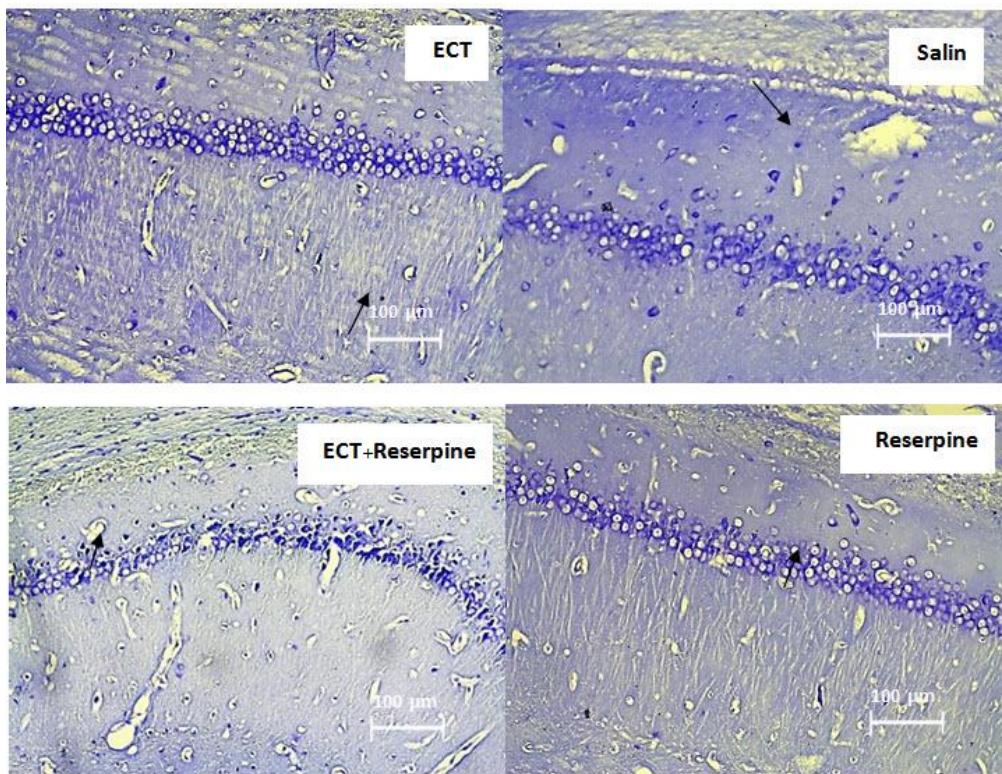
نوك پيکان سياه سلول‌های مرده را نشان مي‌دهد. رنگ آميزي نيسيل بزرگ‌نمایي ۴۰



نمودار ۹. میزان مرگ نورونی در قشر هیپوکمپ: ستون‌ها نشان-دهنده مرگ سلولی انحراف از استاندارد می‌باشد. * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه Cont و با $p < 0.05$ می‌باشد و \$ تفاوت معنی‌دار با گروه Res.

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

در بررسی درصد مرگ سلولی در ناحیه CA1 هیپوکمپ، گروه‌های رزپین (۴۵/۹۶ \pm ۲/۳۱)، الکتروشوک درمانی (۲۸/۶۶ \pm ۰/۷۸) و رزپین⁺ الکتروشوک درمانی (۱۹/۷۹ \pm ۱/۵۴) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (۱۹/۷۹ \pm ۱/۵۴) نشان دادند ($p < 0.05$). اما گروه رزپین⁺ الکتروشوک درمانی (۱۹/۷۹ \pm ۱/۵۴) در مقایسه با گروه رزپین کاهش معنی‌دار را نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۹ و شکل ۲).



شکل ۲. سلول‌های ناحیه CA1 هیپوکمپ

نوك پيکان سياه سلول‌های مرده را نشان مي‌دهد. رنگ آميزي نيسيل بزرگ‌نمایي ۴

فضايي هيپوكمپ را با تنظيم سيناپتوپلاستيسيتى تسهييل مي‌کند [۱۱].

همچنین مطالعات نشان داده است که CREB یک تعديل‌کننده اصلی رشد عصبی است و در یادگیری و شکل‌گیری حافظه موثر است. BDNF یک ژن هدف CREB است و برای بقا، تمایز و پلاستیسیتی عصبی BDNF و p-CREB / BDNF بسیار مهم است. بیان افسردگی ECT را نشان دهد [۱۷]. بنابراین نقش مهمی در رشد، تمایز، بقا نورونی دارد و یک فاکتور مهم در نوروژنزیز و سیناپتوپلاستیسیتی 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 هيپوكمپ و قشر پریفورنتال بالا برد، ولی اعمال آن در حیوانات افسرده، در هر دو ناحیه مغزی، باعث کاهش مرگ

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 نوروبلاستیسیتی را در هيپوكمپ و آمیگدال افزایش داده و باعث بهبود حجم هيپوكمپ 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 نوروترفیک مغزی (BDNF) را در هيپوكمپ کاهش داده و درمان ECS باعث افزایش بیان آن می‌شود. افزایش این فاکتور مغزی ثابت حافظه

^۱ Zhang

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 نسبت به حیوانات افسرده، افزایش معنی‌داری را نشان داد که بیانگر کم شدن 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 داده در کاهش علائم افسرده‌گی 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 افسرده‌گی ناشی از رزربین گزارش دادند که این عصاره باعث ببود زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری در حیوانات افسرده می‌شود، اما بر مولفه‌های تست زمینه باز بی‌تأثیر است. که می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که روش درمانی بکار گرفته شده بر روی مسیرهای درگیر در این تست‌ها تأثیری 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 دوبامینرژیک در مزولیمیک می‌شود و همچنین بیشتر یافته‌های بالینی پیشنهاد می‌کنند که یک افزایش انتقال عصبی سرتوتونیکی که بازتاب‌کننده Up-regulation 5-HT_{1A} رپتورهای پس سیناپسی و 5-HT_{2A} در هیپوکمپ و پری فورنیال است، در پی صورت می‌گیرد [۱۶]. اما برای روشن شدن مکانیسم دقیق ECT و تأثیر آن بر درمان افسرده‌گی نیاز به تحقیقات بیشتری است. در تحقیق حاضر،

نورونی شد، که این اثر درمانی ECT بر درمان BDNF می‌تواند نتیجه تأثیر آن بر بیان 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 در افسرده‌گی ناشی از رزربین می‌تواند میزان اضطراب را کم و علائم افسرده‌گی را ببود بخشد. در تست زمینه باز، تیمار موش‌های افسرده با ECT، زمان سپری شدن در مرکز را ببود بخشد 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،

نتیجه‌گیری

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 بیبود 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 تاثیری که رزپین بر مونوآمین‌ها دارد، می‌توان نتیجه گرفت ECT با تاثیر بر سیستم نوروترانسمیتری در گیر در افسردگی باعث بیبود 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, Larijani B, Esmaillzadeh 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, Szczepański 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 Prac.* 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 Clin 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.