

# نقش سیستم گلوتامات ارژیک هسته تاجی شکمی جانبی بصل النخاع بر پاسخ‌های قلبی عروقی هسته بستر الیاف عصبی انتهایی در موش‌های ماده فاقد تخمدان

معصومه حاتم<sup>۱</sup> مهین گنج‌خانی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران. <sup>۲</sup> استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

مجله پزشکی هرمزگان سال هجدهم شماره اول ۹۳ صفحات ۱۰-۱

## چکیده

**مقدمه:** آزمایشات به منظور بررسی پاسخ‌های قلبی عروقی ناشی از تزریق گلوتامات به هسته بستر الیاف عصبی انتهایی (BST) در حیوانات ماده از نژاد ویستار اورکتومی شده (OVX) و اورکتومی درمان شده با استروژن (OVX+E) و بی‌هوش با یوروتان انجام گرفت. در این مطالعه همچنین اثر سیستم گلوتامات ارژیک هسته تاجی شکمی جانبی بصل النخاع بر پاسخ‌های قلبی عروقی BST بررسی شد.

**روش کار:** آزمایشات بر روی ۲۷ سر موش صحرایی اورکتومی و اورکتومی درمان شده با استروژن و بی‌هوش با یوروتان صورت گرفت. داروها شامل گلوتامات ۰/۲۵ مولار با حجم ۲۰ نانولیترا و اسید کینیورنیک (KYN) آنتاگونیست غیراختصاصی گیرنده گلوتامات با دوز ۵ میلی مول و حجم ۵۰ نانولیترا توسط میکروپیپت و به صورت داخل هسته ای تزریق شدند. در دقایق ۱۰، ۲۰ و ۶۰ پس از تزریق KYN مجدداً گلوتامات به درون BST تزریق شد. فشارخون و ضربان قلب قبل از تزریق و در تمام مدت آزمایش ثبت گردید. میانگین حداکثر تغییرات فشار متوسط شریانی و ضربان قلب با قبل از تزریق با آزمون زوج و بین گروه‌های OVX و OVX+E و سالین با ANOVA مورد ارزیابی قرار گرفت.

**نتایج:** تزریق یک طرفه گلوتامات به درون BST موجب کاهش فشار متوسط شریانی و ضربان قلب در هر دو گروه OVX و OVX+E شد. تزریق یک طرفه اسید کینیورنیک به درون RVLN پاسخ‌های کاهش فشار و ضربان قلب ناشی از تزریق گلوتامات به BST را در دقیقه ۱۰ پس از تزریق KYN در هر دو گروه تضعیف کرد.

**نتیجه‌گیری:** داده‌های مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند که نورونهای سمپاتیکی قلبی عروقی هسته RVLN دارای گیرنده‌های گلوتاماتی است که واسطه بخشی از پاسخ‌های کاهش فشارخون و ضربان قلب ناشی از تحریک نورونهای BST در رتهای اورکتومی و اورکتومی درمان شده با استروژن است.

**کلیدواژه‌ها:** اورکتومی - اسید کینیورنیک - فشارخون - ضربان قلب

نویسنده مسئول:  
دکتر مهین گنج‌خانی  
گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی  
زنجان  
زنجان - ایران  
تلفن: ۰۱۱-۲۲۴۰۲۲۱-۹۸  
پست الکترونیکی:  
ghanjkhani@zums.ac.ir

نوع مقاله: پژوهشی

دریافت مقاله: ۹۱/۸/۲ اصلاح نهایی: ۹۱/۱۱/۸ پذیرش مقاله: ۹۱/۱۱/۲۴

ارجاع: حاتم معصومه، گنج‌خانی مهین، نقش سیستم گلوتامات ارژیک هسته تاجی شکمی جانبی بصل النخاع بر پاسخ‌های قلبی عروقی هسته بستر الیاف عصبی انتهایی در موش‌های ماده فاقد تخمدان. مجله پزشکی هرمزگان ۱۳۹۳؛ ۱(۱):۱۰-۱.

## مقدمه:

بر اساس مطالعات قبلی استروژن (بتا استرادیول) نقش مهمی در ایجاد و عملکرد سیستم بارورفلکس دارد (۱،۲). هسته بستر الیاف عصبی انتهایی (Bed nucleus of stria terminalis (BST) یکی از مناطق مغز جلویی است که حاوی استروژن (۳،۴) و آنزیم آروماتاز است که تستوسترون مغز را در نوروهای این ناحیه به استروژن تبدیل می‌کند (۵). این هسته

مطالعات اپیدمیولوژی نشان داده است که زنان قبل از سن یائسگی کمتر به بیماریهای قلبی عروقی مبتلا می‌شوند، از این رو پیشنهاد شده است که کاهش سطح استروژن یکی از عوامل خطرزا در ایجاد و پیشرفت بیماری پرفشارخونی است. همچنین

مطالعات قبلی در آزمایشگاه ما نشان داد که سیستم گابا RVLm از طریق گیرنده نوع A واسطه پاسخ‌های قلبی عروقی BST در حیوانات اورکتومی و اورکتومی درمان شده با استروژن است (۱۶). اما در خصوص نقش سیستم گلوتامات ارژیک هسته RVLm بر پاسخ‌های قلبی عروقی BST به همراه تأثیر استروژن گزارشی منتشر نشده است. لذا در این تحقیق بر آن شدیم تا برای اولین بار اثر این همراهی‌ها را بر فشارخون و ضربان قلب در حیوانات اورکتومی شده و اورکتومی درمان شده با استروژن مورد مطالعه قرار دهیم.

### روش کار:

#### جراحی:

آزمایشات بر روی ۲۷ راس موش صحرایی ماده از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شده است. حیوانات ماده پس از اتمام دوران شیرخوارگی از نرها جدا شده و به صورت دوتایی در قفس‌های مجزا و در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند.

در مرحله اول آزمایشات، حیوانات با  $\alpha$ -chloralose 40 (mg/kg) بی‌هوش و به صورت دو طرفه اورکتومی گردیدند. سپس در زیر پوست گردن گروهی از آنها کپسولهای پلاستیکی حاوی کلاسترول به عنوان حلال استروژن (OVX) و در گروه دیگر کپسول‌های حاوی استروژن قرار داده می‌شد (۲۲) (OVX+E). با تکنیک رادیوایمونو اسی سطح پلاسمایی استروژن در گروه OVX+E به میزان ۳۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر و در گروه OVX سه روز پس از کاشت کپسول کلاسترول، به علت قابل سنجش نبودن کمتر از یک پیکوگرم در نظر گرفته می‌شد (۲۲). حیوانات پس از ۱۵ تا ۲۰ روز و انجام مراقبت‌های پس از عمل جراحی با تزریق یوروتان ( $1/4$  g/kg) (و دوز تکمیلی  $0/3$  g/kg هر ۲-۱ ساعت در صورت لزوم) به صورت داخل صفاقی بی‌هوش می‌شدند و عمق بی‌هوشی آنها با فشار دادن دم و نوک انگشتان و توجه به رفلکس عقب کشیدن، بررسی می‌شد. به منظور پیشگیری از بروز مشکلات تنفسی در حین آزمایش، حیوانات تراکئوستومی می‌گردیدند و سپس لوله پلی‌اتیلین (PE50) به منظور ثبت فشارخون و ضربان قلب و نیز تزریق داروها، به ترتیب در شریان و ورید ران قرار می‌گرفت. فشارخون توسط ترانسدمیوسر فشار هاروارد و اوسیلوگراف

یکی از مناطقی است که تعداد و اندازه و پراکندگی نورون‌های آن تحت تأثیر سطح گردش خونی هورمون‌های جنسی قرار می‌گیرد. به عنوان مثال، پراکندگی و اندازه نورن‌های مترشحه ماده P این هسته در رت‌های نر و ماده متفاوت است (۶). همچنین تعداد نورن‌های مترشحه کوله سیستوکین در چند گونه از پستانداران ماده در این ناحیه کمتر از نرها می‌باشد، این اثر کاهش به استروژن نسبت داده شده است (۷). هسته BST یکی از مناطق شناخته شده در خصوص اثر هورمون‌های جنسی بر سیگنال‌های بویایی و تغییر در رفتارهای جنسی است (۸). در مطالعه دیگری نشان داده شده که تعداد نورن‌های BST توسط رسپتورهای استروژنی کنترل می‌شود (۹). در مجموع به نظر می‌رسد که هورمون‌های جنسی اثر مهمی بر عملکرد فیزیولوژیک این هسته اعمال می‌نمایند.

یکی از مهمترین اعمال BST دخالت در تنظیم عصبی قلب و عروق از طریق تأثیر بر فشارخون و ضربان قلب است. تزریق اسید آمینه تحریکی ال-گلوتامات به درون این هسته باعث کاهش فشارخون و ضربان قلب شده است (۱۰،۱۱). اخیراً مطالعه‌ای نشان داده است که سیستم کولینرژیک این هسته در فعالیت‌های رفلکس بارورسپتوری نقش دارد (۱۲). همچنین سیستم گابای این هسته واسطه پاسخ‌های قلبی عروقی از طریق ترشح وازپرسین و سیستم سمپاتیکی است (۱۳). نواحی BST که در پاسخ‌های قلبی و عروقی نقش دارد، حاوی تراکم بالایی از رسپتورهای استروژنی می‌باشد (۳،۱۰). به علاوه نشان داده شده که این نورن‌ها اکسونهای خود را به مناطق کاردیوواسکولار بصل‌النخاع که عبارتند از ناحیه دمی شکمی جانبی (۱۴) caudal ventrolateral medulla (CVLM) و تاجی شکمی جانبی rostral ventrolateral medulla (RVLm) (۱۵) ارسال می‌کنند. هر دوی این نواحی مستقیماً خروجی‌های خود را به بخش خودمختار نخاع جهت عصبی‌دهی قلب و عروق روانه می‌کنند. لذا این فرضیه مطرح شده است که استروژن گردش خون با تحریک گیرنده‌های خود در نورن‌های BST بر پاسخ‌های قلبی عروقی این هسته تأثیر بگذارد. از طرف دیگر، خروجی‌های هسته BST به نخاع عمدتاً از طریق RVLm است. مطالعات قبلی در آزمایشگاه ما نشان داد تزریق کلرور کبالت به هسته RVLm، پاسخ‌های قلبی عروقی BST را به شدت تضعیف می‌کند (۱۶). هسته RVLm حاوی نوروترانسمیترها و نوروپپتیدهای متعددی منجمله گابا (۱۷،۱۸) و گلوتامات است (۲۱-۱۹).

در گروه کنترل، به منظور یافتن مناطق کاردیو واسکولار هسته BST، درشش حیوان اورکتومی شده ( $n=3$ ) و اورکتومی درمان شده با استروژن ( $n=3$ )، گلوتامات به بخش‌های مختلف هسته تزریق گردید.

در دو گروه دیگر اورکتومی شده ( $n=8$ ) و اورکتومی درمان شده با استروژن ( $n=7$ )، ابتدا گلوتامات ( $0.25$  مولار با حجم  $20$  نانولیت، سیگما) به درون BST تزریق شد و پس از بازگشت فشارخون و ضربان قلب به سطح اولیه، اسید کینورنیک (KYN) Kynurenic acid ( $5$  میلی‌مول، سیگما) ( $24$ ) به عنوان آنتاگونیست گلوتامات، به درون RVLm تزریق شد و در دقایق  $10$ ،  $20$  و  $60$  پس از تزریق، همان منطقه از BST مجدداً با گلوتامات فعال گردید.

در گروه کنترل منفی یا (گروه حلال)، بافر سالین فسفات به عنوان حلال داروها به مناطق کاردیو واسکولار BST شش حیوان دیگر اورکتومی شده ( $n=3$  rat) و اورکتومی درمان شده با استروژن ( $n=3$  rat)، تزریق گردید.

#### یافت شناسی:

در پایان هر آزمایش، به هر حیوان ابتدا  $100$  میلی‌لیتر محلول نرمال سالین هپارینه و سپس  $100$  میلی‌لیتر محلول فرمالین سالین  $10\%$  از طریق پرفیوژن درون قلبی تزریق می‌شد و مغز حیوان در درون جمجمه فیکس می‌گردید. بعد از گذشت چند ساعت، مغز خارج شده و پس از بریدن قسمت‌های اضافی، منطقه موردنظر در محلول فرمالین  $10\%$  قرار داده می‌شد و برش‌های پشت سرهم توسط میکروتوم انجمادی Crayo  $1800$  cut با ضخامت  $60$  میکرون تهیه و به کمک Neutral red ( $\sigma$ ) رنگ می‌شد پس از آن با میکروسکوپ نوری محل تزریق مشاهده می‌گردید. مواردی که تزریق در خارج از RVMm انجام شده بود، از آنالیز آماری حذف می‌شدند.

#### جمع آوری و آنالیز داده‌ها:

ابتدا در تمام گروه‌ها به مدت  $30$  دقیقه فشارخون و ضربان قلب بدون هیچ تزریقی ثبت می‌گردید تا مقایسه‌ای بین گروه‌های OVX+E و OVX صورت بگیرد و از ثابت ماندن فشارخون و ضربان قلب هم اطمینان حاصل شود. ثبت تا پایان هر آزمایش ادامه می‌یافت و تغییر به میزان  $5$  میلی‌متر جیوه برای فشارخون و  $5$  ضربه در دقیقه برای ضربان قلب پاسخ منظور

یونیورسال و ضربان قلب توسط کاردیو تاکوگراف به طور پیوسته و در تمام مدت آزمایش ثبت می‌گردید. دمای بدن حیوان توسط کنترل کننده دما (Narco-Bio System, U.S.A) در محدوده  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد حفظ می‌گردید و سپس حیوان در موقعیت رو به شکم در استریوتاگس (Stolting USA) قرار داده شده و چهارسوراخ کوچک توسط دریل در جمجمه در محل‌های BST و RVLm ایجاد می‌گردید.

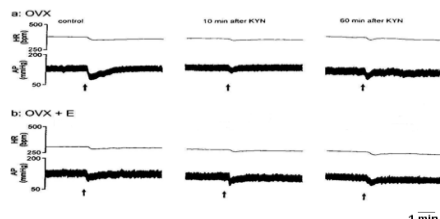
#### تحریک شیمیایی هسته‌های RVLm و BST:

توسط یک میکروپیت شیشه‌ای با قطر داخلی  $45-35$  میکرومتر که به کمک میکروالکتروپولر (Stolting, U.S.A) تهیه شده بود، تحریکات شیمیایی هسته‌های RVLm و BST انجام می‌گرفت. در تعدادی از آزمایشات، میکروپیت توسط یک لوله پلاستیکی به سرنگ انسولین وصل گردیده و تزریق مواد با فشار هوای داخل سرنگ صورت می‌گرفت و در تعدادی دیگر، میکروپیت توسط یک لوله پلاستیکی به کیسول نیتروژن متصل شده در این حال تزریق داروها توسط پمپ Picospritzer با فشار گاز نیتروژن انجام می‌شد. حجم تزریق برای BST،  $20$  نانولیت و برای RVLm  $50$  نانولیت بود که با مشاهده مستقیم حباب مایع و هوا توسط یک میکروسکوپ مخصوص با عدسی چشمی مدرج با دقت  $2$  نانولیت (ساخت دانشگاه U.W.O کانادا) کنترل می‌گردید. مختصات هسته BST به کمک اطلس استریوتاگسی پاکسینوز ( $23$ ) در محدوده  $0.2$  تا  $0.4$  میلی‌متر عقب برگما، یک تا دو میلی‌متر از خط میانی به طرفین و عمق  $5/5$  تا  $7/5$  میلی‌متر از سطح جمجمه تعیین می‌گردید. به منظور مطالعه همه بخش‌های هسته و پیدا نمودن منطقه کاردیوواسکولار، به تدریج و در فواصل  $200$  میکرومتر و با فاصله زمانی نیم ساعت پس از هر تزریق، میکروپیت به پایین و اطراف برده می‌شد و هسته در محدوده جانبی، جلویی عقبی و عمقی مورد بررسی قرار می‌گرفت. مختصات هسته RVLm در محدوده  $11/2$  تا  $12$  میلی‌متر عقب برگما، دو میلی‌متر از خط میانی به سمت طرفین و عمق  $9/6$  تا  $10/8$  میلی‌متر از سطح جمجمه تعیین شده بود. گلوتامات در فسفات بافر سالین ( $pH=7.2$ ) و اسید کینورنیک در نرمال سالین حل می‌شد.

#### گروه‌های آزمایشی

آزمایشات به منظور بررسی ارتباطات نورونی بین هسته‌های BST و RVLm با واسطه سیستم گلوتامات ارژیک در حیوانات اورکتومی شده و اورکتومی درمان شده با استروژن انجام گرفت.

به منظور بررسی ارتباط گلوتامات ارژیک بین نورونهای BST و RVLML در زمینه سیستم کاردیوسکولار، ابتدا گلوتامات جهت تحریک نورونهای BST به درون این هسته تزریق می‌شد که موجب کاهش فشارخون و ضربان قلب در هر دو گروه OVX و OVX+E گردید. میانگین کاهش فشار متوسط شریانی بعد از تزریق گلوتامات در گروه اورکتومی شده برابر  $29/8 \pm 5/9$  میلی‌متر جیوه و میانگین کاهش ضربان قلب برابر  $17/3 \pm 3/1$  ضربه در دقیقه بود و در گروه اورکتومی درمان شده با استروژن میانگین کاهش فشار متوسط شریانی برابر  $15/0 \pm 5/1$  میلی‌متر جیوه و میانگین کاهش ضربان قلب برابر  $25/2 \pm 2/1$  ضربه در دقیقه بود که در مقایسه با مقادیر قبل از تزریق تفاوت معنی‌داری را نشان داد (آزمون t زوج  $P < 0/01$ ). مقایسه میانگین فشار متوسط شریانی و ضربان قلب در دو گروه اورکتومی و اورکتومی درمان شده با استروژن تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در ادا آزمایشات پس از بازگشت فشارخون و ضربان قلب به مقدار پایه، اسید کینیورنیک به درون RVLML تزریق شد که تغییر معنی‌داری را در فشار خون ایجاد نکرد (میانگین فشار قبل از تزریق  $92/6 \pm 7/3$  و بعد از تزریق  $102/4 \pm 3/4$  بود و قبل از تزریق میانگین ضربان قلب برابر  $408/2 \pm 20/3$  و بعد از آن  $391/3 \pm 18/5$  بود). تحریک مجدد BST با گلوتامات در دقایق ۱۰، ۲۰ و ۶۰ پس از تزریق اسید کینیورنیک به درون RVLML موجب تغییر در پاسخ‌های بردی‌کاردی در هر دو گروه OVX و OVX+E در دقیقه دهم پس از تزریق اسید کینیورنیک به RVLML گردید (آزمون t زوج  $P < 0/05$ ). همچنین در دقیقه دهم پس از تزریق اسید کینیورنیک به RVLML، هیپوتانسیون ناشی از فعالیت نورون‌های BST در گروه اورکتومی شده تضعیف شد (آزمون t زوج  $P < 0/01$ ) (اشکال ۱ و ۲).



می‌گردید و مورد آزمون آماری قرار می‌گرفت (۲۵). برای انجام آزمون‌های آماری از نرم‌افزار Excel استفاده شده است. مقایسه میانگین حداکثر تغییرات فشار متوسط شریانی و ضربان قلب به همراه انحراف معیار ( $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ) در گروه‌های OVX و OVX+E و سالیین با یکدیگر توسط آزمون ANOVA یک‌طرفه و حداکثر تغییرات در هر گروه قبل و بعد از تزریق توسط آزمون t زوج انجام می‌شد. اختلاف داده‌ها با  $P < 0/05$  معنی‌دار تلقی گردید.

## نتایج:

### ۱- اثر تزریق گلوتامات در گروه کنترل

طبق نتایج بدست آمده در این بررسی، تزریق ۲۰ نانولیتزر گلوتامات به نواحی خارج از BST در موش‌های بی‌هوش OVX و OVX+E، تغییر معنی‌داری در فشارخون ( $\Delta \text{MAP} = 2.6 \pm 3.6 \text{ mmHg}$  و ضربان قلب  $= -3.2 \pm 2.3$  (beats/min; n = 43 injections) ایجاد نکرد.

### ۲- اثر تزریق حلال بدون BST بر فشارخون و ضربان قلب

به منظور بررسی اثرات احتمالی ناشی از حجم ماده تزریق شده به BST، ۲۰ نانولیتزر سالیین نرمال به درون BST در هر دو گروه OVX و OVX+E تزریق گردید. بر طبق نتایج حاصله، تغییرات فشارخون ( $\Delta \text{MAP} = 0.7 \pm 0.6 \text{ mmHg}$ ) و ضربان قلب ( $\Delta \text{HR} = 0.57 \pm 0.2 \text{ beats/min}$ ) اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت.

### ۳- اثر تزریق اسید کینیورنیک (KYN) به RVLML بر

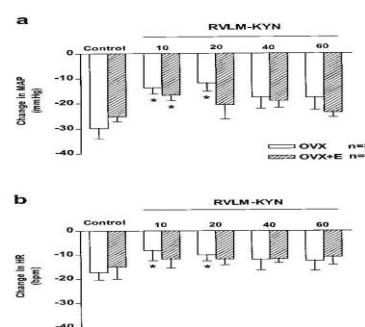
تغییرات فشارخون و ضربان قلب ناشی از تزریق گلوتامات به BST

مقایسه میانگین‌های ضربان قلب و فشار متوسط شریانی در دو گروه OVX و OVX+E نشان داد که میانگین ضربان قلب در گروه OVX+E به طور معنی‌داری کمتر از گروه OVX است ( $P < 0/01$ ) ANOVA ولی تفاوت معنی‌داری در مقایسه میانگین فشار متوسط شریانی مشاهده نشد. فشار متوسط شریانی در گروه اورکتومی شده  $112/3 \pm 3/23$  میلی‌متر جیوه و ضربان قلب  $286/4 \pm 7/6$  ضربه در دقیقه و در گروه اورکتومی درمان شده با استروژن شده  $112/1 \pm 3/98$  میلی‌متر جیوه و ضربان قلب  $239/9 \pm 20/2$  ضربه در دقیقه بدست آمد.

جدول شماره ۱ و شماره ۲ به ترتیب، تغییرات فشارخون و ضربان قلب ایجاد شده در گروه اورکتومی شده و گروه اورکتومی درمان شده با استروژن را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲- میانگین تغییرات فشار متوسط شریانی بر حسب میلی‌متر جیوه ( $\Delta$ MAP, mmHg) و ضربان قلب بر حسب تعداد در دقیقه ( $\Delta$ HR, bpm) پس از تزریق ۲۰ نانولیتزر محلول ۰/۲۵ مولار گلوتامیت (کنترل) به BST و دقایق ۱۰ و ۶۰ پس از تزریق اسید کینورینیک به RVLm در حیوانات اورکتومی درمان شده با استروژن شده ( $n=7$ ). علامت ستاره معنی‌دار بودن میانگین‌ها با آزمون t زوج را در گروه کنترل با دقایق پس از تزریق نشان می‌دهد.

شکل ۱- یک نمونه از ثبت فشارخون و ضربان قلب پس از تزریق ۲۰ نانولیتزر گلوتامات ۰/۲۵ مولار به درون BST قبل (کنترل) و بعد از تزریق ۵۰ نانولیتزر اسید کینورینیک (KYN) ۵ میلی‌مول به درون RVLm و تحریک مجدد BST در دقایق ۱۰ و ۶۰ پس از تزریق اسید کینورینیک در حیوانات اورکتومی شده (OVX) و اورکتومی درمان شده با استروژن (OVX+E). علامت پیکان نشانه زمان تزریق است.



شکل ۲- اثر تزریق ۲۰ نانولیتزر گلوتامات ۰/۲۵ مولار به درون BST (کنترل) بر فشار خون (a) و ضربان قلب (b) قبل و بعد از تزریق ۵۰ نانولیتزر اسید کینورینیک (KYN) ۵ میلی‌مول به درون RVLm و تحریک مجدد BST در دقایق ۱۰ و ۲۰ و ۴۰ و ۶۰ پس از تزریق اسید کینورینیک در حیوانات اورکتومی شده (OVX) و اورکتومی درمان شده با استروژن (OVX+E).

جدول شماره ۱- میانگین تغییرات فشار متوسط شریانی بر حسب میلی‌متر جیوه ( $\Delta$ MAP, mmHg) و ضربان قلب بر حسب تعداد در دقیقه ( $\Delta$ HR, bpm) پس از تزریق ۲۰ نانولیتزر محلول ۰/۲۵ مولار گلوتامیت (کنترل) به BST و دقایق ۱۰ و ۶۰ پس از تزریق اسید کینورینیک به RVLm در حیوانات اورکتومی شده ( $n=8$ ). علامت ستاره معنی‌دار بودن میانگین‌ها با آزمون t زوج را در گروه کنترل با دقایق پس از تزریق نشان می‌دهد.

۶۰ دقیقه پس از KYN		۱۰ دقیقه پس از KYN		کنترل	
$\Delta$ HR, bpm	$\Delta$ MAP, mmHg	$\Delta$ HR, bpm	$\Delta$ MAP, mmHg	$\Delta$ HR, bpm	$\Delta$ MAP, mmHg
$-12/8 \pm 4/1$	$-17/8 \pm 4/8$	$-8/1 \pm 4/2$	$0 -12/8 \pm 2/6$	$-17/3 \pm 2/1$	$-29/8 \pm 5/9$

جدول شماره ۲- میانگین تغییرات فشار متوسط شریانی بر حسب میلی‌متر جیوه ( $\Delta$ MAP, mmHg) و ضربان قلب بر حسب تعداد در دقیقه ( $\Delta$ HR, bpm) پس از تزریق ۲۰ نانولیتزر محلول ۰/۲۵ مولار گلوتامیت (کنترل) به BST و دقایق ۱۰ و ۶۰ پس از تزریق اسید کینورینیک به RVLm در حیوانات اورکتومی درمان شده با استروژن شده ( $n=7$ ). علامت ستاره معنی‌دار بودن میانگین‌ها با آزمون t زوج را در گروه کنترل با دقایق پس از تزریق نشان می‌دهد.

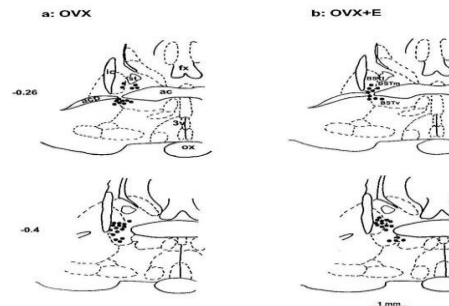
۶۰ دقیقه پس از KYN		۱۰ دقیقه پس از KYN		کنترل	
$\Delta$ HR, bpm	$\Delta$ MAP, mmHg	$\Delta$ HR, bpm	$\Delta$ MAP, mmHg	$\Delta$ HR, bpm	$\Delta$ MAP, mmHg
$-23/6 \pm 1/9$	$-10/8 \pm 3/2$	$8 -16/7 \pm 2/2$	$-21/2 \pm 3/6$	$-25/2 \pm 2/1$	$-15/0 \pm 5/1$

می‌گیرد (۲۵). اخیراً استروژن درون زاد به عنوان محافظ قلب در برابر بیماری ایسکمیک قلبی مطرح گردیده است (۲۷). نتایج برخی مطالعات نشان داد که تزریق نوعی آنالوگ استروژن در RVLML موجب بروز اثر تضعیف‌کنندگی از طریق کاهش فعالیت عصبی سمپاتیکی (۲۸) و فعال شدن NO ناشی از iNOS در رت‌ها گردید (۲۹).

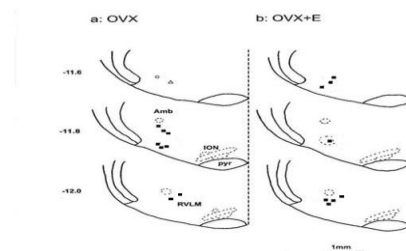
در مطالعه حاضر تزریق گلوتامات به درون هسته BST در موش‌های ماده گروه‌های OVX و OVX+E بی‌هوش، موجب بروز پاسخ‌های تضعیف‌کنندگی و کاهش ضربان قلب در هر دو گروه گردید. بزرگی پاسخ‌های تضعیف‌کنندگی و برادیکاردیک در هر دو گروه OVX و OVX+E مشابه بود. بنابراین به نظر می‌رسد که استروژن گردش خون علیرغم وجود تراکم بالایی از گیرنده‌های استروژن در هسته BST، تأثیری در بروز پاسخ قلب و عروقی آن ندارد. وجود گیرنده‌های استروژن در هسته BST، اعمال فیزیولوژیکی همچون رفتار جنسی و اجتماعی نوروئهای BST را به عهده دارد (۳۰). پاسخ‌های کاهش فشار و برادیکاردی تحریک BST توسط گلوتامات، مشابه یافته‌های آزمایشات قبلی انجام شده با موش‌های نر بی‌هوش می‌باشد (۱۰، ۱۱). این اثر به واسطه مهار اثر سمپاتیک بر روی سیستم عروقی و قلب می‌باشد (۱۱). اثر تنظیم‌کنندگی استروژن بر سیستم قلب و عروقی در سایر نواحی سیستم اعصاب مرکزی نیز نشان داده شده است. مثلاً استروژن گردش خون، پاسخ برادیکاردی نسبت به تحریک هسته دسته منزوی توسط تزریق هیپوکرتین-۱ را تقویت می‌نماید (۲۲). اما مطالعه ما نشان داد که گیرنده‌های استروژن BST تأثیر معنی‌داری در این رابطه ندارد.

در قسمت دیگر، این مطالعه برای اولین بار نشان داده شد که بخشی از کاهش فشار متوسط شریانی و تعداد ضربان قلب به دنبال تحریک BST، ناشی از ارتباط BST به RVLML می‌باشد. زیرا ما قبلاً نشان دادیم که تزریق یک مسدودکننده سیناپسی برگشت‌پذیر به نام کلرور کبالت بدون RVLML در موش‌های گروه OVX و OVX+E پاسخ‌های تضعیف‌کنندگی و برادیکاردیک ناشی از تحریک BST را حدود ۵۰ درصد کاهش می‌دهد (۱۶). نتیجه تحریک مجدد BST یک ساعت بعد از تزریق کلرور کبالت بدون RVLML، حاکی از برگشت پاسخ‌ها به حالت قبل بود. به این ترتیب نتیجه گرفته می‌شود که تحریک چند باره BST با تزریق دارو موجب آسیب نورونی آن نمی‌شود. مطالعات قبلی نشان داده که تزریق کلرید کبالت بدون RVLML

اشکال شماره ۳ و ۴ مناطق تزریق را به ترتیب در BST و RVLML نشان می‌دهند.



شکل ۳- نمایش نقاط تزریق شده در BST و مناطق اطراف. اقتباس از رفرانس ۲۳



شکل ۴- نمایش نقاط تزریق شده در RVLML و مناطق اطراف. اقتباس از رفرانس ۲۳

### بحث و نتیجه‌گیری:

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تعداد ضربان قلب در حیوانات گروه OVX+E نسبت به گروه OVX کاهش بیشتری را نشان می‌دهد و بنابراین استروژن گردش خون در محدوده فیزیولوژیک بر روی ضربان قلب تأثیر می‌گذارد. در این رابطه، یافته‌های ما مؤید گزارشات قبلی در مورد اثر مستقیم استروژن بر قلب و تغییر برون‌ده قلبی می‌باشد (۲۶). معلوم شده که استروژن فعالیت پاراسمپاتیکی قلب را تسهیل نموده و بخش برادیکاردی رفلکس بارورسپتور را تقویت می‌کند (۲). نتایج آزمایشات انجام شده در مورد اثر استروژن در تسهیل پاسخ برادیکاردی ناشی از تزریق داخل وریدی فنیل افرین در موش‌های ماده اوارکتومی شده، نشان داده است که تأثیر استروژن بر روی تون پایه عروقی و ضربان قلب به ترتیب توسط گیرنده‌های بتا و گیرنده‌های آلفای استروژنی صورت

قلبی عروقی BST را تضعیف نمود در حالی که تزریق فاکوفن انتاگونیست گیرنده‌های گابا B اثر معنی‌داری در این پاسخ‌ها نداشت (۱۶). مطالعات قبلی نشان داده که محل تجمع نورون‌های گلوتامات ارژیک و گابا ارژیک در بخش پایینی هسته عصب زوج هفتم، در RVLm است (شکل ۴). یعنی همان مختصاتی که کلور کبالت و انتاگونیست‌های گابا و گلوتامات تزریق شده است اما این که تداخل نورونی بین سیستم گلوتامات و گابا هسته RVLm در انتقال پیام‌های BST برقرار باشد، نیاز به تحقیقات جداگانه‌ای دارد.

به طور خلاصه مطالعه حاضر نشان داد که پاسخ‌های قلبی عروقی BST از طریق مسیر گلوتامات ارژیک هسته RVLm به سمت قلب و عروق روانه می‌شود و همچنین استروژن گردش خون بر پاسخ‌دهی نورون‌های گلوتامات ارژیک هسته RVLm اثر می‌گذارد.

#### سپاسگزاری:

تحقیق در گروه فیزیولوژی دانشگاه وسترن انتاریو کانادا و گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان انجام شد که بدین وسیله از پروفیسور جان سیری یل لو و سرکار خانم شهین نامدار به دلیل کمک در جراحی و انجام آزمایشات قدرانی به عمل می‌آید.

موقتا انتقال نورونی را با غیرفعال کردن برگشت‌پذیر کانال‌های پایانه پیش سیناپسی مختل می‌نماید (۲۸،۲۹).

در بخش دیگری از این تحقیق نشان دادیم که در هر دو گروه اورکتومی شده و اورکتومی درمان شده با استروژن، تزریق آنتاگونیست غیراختصاصی سیستم گلوتامات ارژیک (اسید کینیورنیک) به هسته RVLm در دقیقه دهم پس از تحریک BST توسط گلوتامات، برادیکاردی را طور معنی‌داری تضعیف نمود اما هیپوتانسیون را فقط در گروه اورکتومی تضعیف کرد. این نتیجه نشان می‌دهد که اولاً خروجی‌های کاردیواسکولار BST بخشی از اثرات خود را از طریق تحریک نورون‌های گلوتامات ارژیک RVLm به قلب و عروق ارسال می‌کنند و ثانیاً مشاهده تضعیف هیپوتانسیون فقط در گروه اورکتومی، حاکی از تأثیر استروژن بر نورون‌های گلوتامات ارژیک RVLm در انتقال پیام‌های BST می‌باشد. در چند مطالعه اثر استروژن بر عملکرد قلبی عروقی RVLm نشان داده شده است. نتایج این تحقیقات نشان داده که تحریک گیرنده‌های استروژن در RVLm باعث کاهش فشارخون می‌شود (۳۱-۳۳). در مطالعه ما استروژن مانع از تضعیف هیپوتانسیون ناشی از تحریک BST در گروه اورکتومی درمان شده با استروژن شده است. این نتایج همچنین نشان می‌دهد که بخشی از ارتباط BST با RVLm از طریق تحریک گیرنده‌های گلوتامات ارژیک این ناحیه از بصل‌النخاع است. در مطالعه دیگری در آزمایشگاه ما نشان داده شد که نورون‌های گابا ارژیک RVLm هم واسطه پاسخ‌های BST در هر دو گروه اورکتومی و اورکتومی درمان شده با استروژن است. این واسطه‌گری تنها از طریق گیرنده‌های A گابا انجام می‌شود به طوری که مهار این گیرنده‌ها با بیکوکولین (انتاگونیست اختصاصی گیرنده گابا A) پاسخ‌های

## References

## منابع

1. Saleh MC, Connell BJ, Saleh TM. Autonomic and cardiovascular reflex responses to central estrogen injection in ovariectomized female rats. *Brain Res.* 2000;879:105-114.
2. Saleh TM, Connell BJ, Saleh MC. Acute injection of 17beta-estradiol enhances cardiovascular reflexes and autonomic tone in ovariectomized female rats. *Auton Neurosci.* 2000;84:78-88.
3. Pfaff D, Keiner M. Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. *J Comp Neurol.* 1973;151:121-158.
4. Simerly RB, Young BJ. Regulation of estrogen receptor messenger ribonucleic acid in rat hypothalamus by sex steroid hormones. *Mol Endocrinol.* 1991;5:424-432.

5. Roselli CE, Resko JA. The distribution and regulation of aromatase activity in the central nervous system. *Steroids*. 1987;50:495-508.
6. Malsbury CW, McKay K. A sex difference in the pattern of substance P-like immunoreactivity in the bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Res*. 1987;420:365-367.
7. Micevych P, Akesson T, Elde R. Distribution of cholecystokinin-immunoreactive cell bodies in the male and female rat: II. Bed nucleus of the stria terminalis and amygdala. *J Comp Neurol*. 1988;269:381-391.
8. Cavanaugh BL, Lonstein JS. Androgenic and oestrogenic influences on tyrosine hydroxylase-immunoreactive cells of the prairie vole medial amygdala and bed nucleus of the stria terminalis. *J Neuroendocrinol*. 2010;22:217-225.
9. Hisasue S, Seney ML, Immerman E, Forger NG. Control of cell number in the bed nucleus of the stria terminalis of mice: role of testosterone metabolites and estrogen receptor subtypes. *J Sex Med*. 2010;7:1401-1409.
10. Hatam M, Nasimi A. Glutamatergic systems in the bed nucleus of the stria terminalis ,effects on cardiovascular system. *Exp Brain Res*. 2007;178:394-401.
11. Ciriello J, Janssen SA. Effect of glutamate stimulation of bed nucleus of the stria terminalis on arterial pressure and heart rate. *Am J Physiol*. 1993;265:1516-1522.
12. Nasimi A, Hatam M. The role of the cholinergic system of the bed nucleus of the stria terminalis on the cardiovascular responses and the baroreflex modulation in rats. *Brain Res*. 2011;1386:81-88.
13. Hatam M, Kharazmi F, Nasimi A. Vasopressin and sympathetic systems mediate the cardiovascular effects of the GABAergic system in the bed nucleus of the stria terminalis. *Neurosci Res*. 2009;65:347-352.
14. Giancola SB, Roder S, Ciriello J. Contribution of caudal ventrolateral medulla to the cardiovascular responses elicited by activation of bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Res*. 1993;606:162-166.
15. Holstege G, Meiners L, Tan K. Projections of the bed nucleus of the stria terminalis to the mesencephalon, pons, and medulla oblongata in the cat. *Exp Brain Res*. 1985;58:379-391.
16. Hatam M, Ganjkhani M. GABAA receptors in the rostral ventrolateral medulla mediate the cardiovascular responses to activation of the bed nucleus of the stria terminalis in female ovariectomized rat. *Iranian Journal of Medical Sciences*. 2012;in press.
17. Dampney RA, Tagawa T, Horiuchi J, Potts PD, Fontes M, Polson JW. What drives the tonic activity of presympathetic neurons in the rostral ventrolateral medulla? *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2000;27:1049-1053.
18. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7:335-346.
19. Moraes DJ, Zoccal DB, Machado BH. Sympathoexcitation during chemoreflex active expiration is mediated by L-glutamate in the RVLM/Botzinger complex of rats. *J Neurophysiol*. 2012;108:610-623.
20. Koganezawa T, Shimomura Y, Terui N. The viscerosympathetic response in rabbits is mediated by GABAergic and glutamatergic inputs into the sympathetic premotor neurons of the rostral ventrolateral medulla. *Exp Physiol*. 2010;95:1061-1070.
21. Araujo GC, Lopes OU, Campos RR. Importance of glycinergic and glutamatergic synapses within the rostral ventrolateral medulla for blood pressure regulation in conscious rats. *Hypertension*. 1999;34:752-755.
22. de Oliveira CV, Rosas-Arellano MP, Solano-Flores LP, Babic T, Li Z, Ciriello J. Estrogen alters the bradycardia response to hypocretin-1 in the nucleus tractus solitarius of the ovariectomized female. *Brain Res*. 2003;978:14-23.
23. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Academic Press; 1997.
24. Hatam M GM. The role of estrogen and GABA and Glutamate receptors in cardiovascular responses of rostral ventromedial medulla of the ovariectomized female rat. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2008;2:107-114.
25. Hnatzuk OC, Lisciotto CA, DonCarlos LL, Carter CS, Morrell JJ. Estrogen receptor immunoreactivity in specific brain areas of the prairie vole (*Microtus ochrogaster*) is altered by sexual receptivity and genetic sex. *J Neuroendocrinol*. 1994;6:89-100.



26. Deschamps AM, Murphy E, Sun J. Estrogen receptor activation and cardioprotection in ischemia reperfusion injury. *Trends Cardiovasc Med.* 2010;20:73-78.
27. Lei K, Cushing BS, Musatov S, Gawa S, Kramer KM. Estrogen receptor-alpha in the bed nucleus of the stria terminalis regulates social affiliation in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *PLoS One.* 2010;5:8931.
28. Malpeli JG, Burch BD. Cobalt destroys neurons without destroying fibers of passage in the lateral geniculate nucleus of the cat. *Neurosci Lett.* 1982;32:29-34.
29. Masuda N, Terui N, Koshiya N, Kumada M. Neurons in the caudal ventrolateral medulla mediate the arterial baroreceptor reflex by inhibiting barosensitive reticulospinal neurons in the rostral ventrolateral medulla in rabbits. *J Auton Nerv Syst.* 1991;34:103-117.
30. Campos RR, Carillo BA, Oliveira-Sales EB, Silva AM, Silva NF, Futuro Neto HA, et al. Role of the caudal pressor area in the regulation of sympathetic vasomotor tone. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41:557-562.
31. Pierce JP, Kievits J, Graustein B, Speth RC, Iadecola C, Milner TA. Sex differences in the subcellular distribution of angiotensin type 1 receptors and NADPH oxidase subunits in the dendrites of C1 neurons in the rat rostral ventrolateral medulla. *Neuroscience.* 2009;163:329-338.
32. Shih CD. Activation of estrogen receptor beta-dependent nitric oxide signaling mediates the hypotensive effects of estrogen in the rostral ventrolateral medulla of anesthetized rats. *J Biomed Sci.* 2009;16:60.
33. Wu KL, Chen CH, Shih CD. Nontranscriptional activation of PI3K/Akt signaling mediates hypotensive effect following activation of estrogen receptor beta in the rostral ventrolateral medulla of rats. *J Biomed Sci.* 2012;19:76.

## Glutamnergic receptor in the rostroal ventrolateral medulla mediate the cardiovascular responses to activation of the bed nucleus of the stria terminalis in female ovariectomized rat

M. Hatam<sup>1</sup> M. Ganjkhani<sup>2</sup>

Associate Professor Department of Physiology<sup>1</sup>, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. Assisstant Professor Department of Physiology<sup>2</sup>, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran.

(Received 23 Oct, 2012)

Accepted 12 Feb, 2013)

### Original Article

### Abstract

**Introduction:** Experiments were done to investigate the cardiovascular response to glutamate (Glu) injection in the bed nucleus of stria terminalis (BST) in urethane anesthetized ovariectomized (OVX) or OVX estrogen treated (OVX+E) female Wistar rats. In this study also the effect of glutamnergic system of the rostral ventrolateral medulla (RVLM) on Glu stimulation of cardiovascular response of the BST were investigated.

**Methods:** Experiments were performed on 27 anaesthetized rats divided into two groups of ovarictomized (OVX) and ovarictomized-estrogen treated (OVX+E). Drugs (50 nl), glutamate; (Glu 0.25M/20 nl) was microinjected into the BST and kynurenic acid a nonselective antagonist glutamate receptors (KYN, 5mM/ 50 nl), was microinjected into the RVLM by micropipette and the BST was restimulated at 10, 20, 60 minutes after the injection of KYN into the RVLM. Blood pressure and heart rate were recorded before and throughout each experiment. The means of maximum changes of mean arterial pressure and heart rate were compared between groups of OVX and OVX +E and saline using ANOVA and with preinjection values using paired t- test.

**Results:** Unilateral microinjection of Glu into the BST (control) decreased mean arterial pressure and heart rate, in the OVX+E and OVX. Ipsilateral microinjection of KYN into the RVLM attenuated Glu induced depressor and bradycardic responses to stimulation of the BST 10 minutes after microinjection of KYN in both groups.

**Conclusion:** These data suggest that RVLM cardiovascular sympathetic premotor neurons contain glutamate receptors that mediate in part the depressor and bradycardic responses to stimulation of the BST in the OVX and OVX+E animals.

**Key words:** Ovariectomized - Kynurenic Acid - Blood pressure - Heart Rate

**Citation:** Hatam M, Ganjkhani M. Glutamnergic receptor in the rostroal ventrolateral medulla mediate the cardiovascular responses to activation of the bed nucleus of the stria terminalis in female ovariectomized rat. Hormozgan Medical Journal 2014;18(1):1-10.

Correspondence:  
M. Ganjkhani, PhD.  
Physiology Department, Zanzan  
University of Medical Sciences.  
Zanzan, Iran  
Tel: +98 241 4240301  
Email:  
ghanjkhani@zums.ac.ir