

Assessment of AMPA Receptor Antagonist Administration on Spatial Memory of Juvenile Rats Induced Repetitive Spreading Depression

Ahmad Ali Lotfinia^{1,2}, Mahmud Lotfinia^{1,3}, Milad Ahmadi^{1,2}, Babak Khodaie^{1,2}, Maryam Jafarian^{1,4*}

¹Shefa Neuroscience Research Center, Khatam-al-Anbia Hospital, Tehran, Iran.

²Faculty of Veterinary medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

³Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

⁴School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Article Info:

Received: 22 Oct, 2013

Accepted: 3 Dec, 2013

ABSTRACT

Introduction: Spreading depression (SD) is a bio-electrical wave in the central nervous system which propagates through the gray matter and cause several effects, such as neural depolarization and ionic disturbances. This phenomenon plays a role in many neurological disorders, like epilepsy, migraine with aura, brain injury and cerebrovascular disease. The SD excitatory effect of glutamate receptors on the brain seems to be correlated with neural injuries. The aim of our study was to evaluate the role of glutamate AMPA subreceptors on spatial memory impairment induced by SD. **Materials and Methods:** DNQX, an AMPA antagonist, was administrated (1 mg/kg) intraperitoneally after SD induction (induced by application of 2 M KCl) in juvenile wistar rats (60-80 gr). Retrieval of spatial memory was evaluated by T-maze memory test. **Results:** Repetitive weekly induction of SD caused memory impairment after four weeks. Blockade of AMPA receptors with DNQX did not affect the memory impairment caused by SD. **Conclusion:** Our data indicate glutamate AMPA subreceptors are not involved in SD-induced memory deficits in juvenile rats.

Key words:

1. Cortical Spreading Depression
2. Receptors, AMPA
3. Memory

* **Corresponding Author:** Maryam Jafarian

E-mail: jafarian.m34@gmail.com

بررسی اثر آنتاگونیست گیرنده ی AMPA بر حافظه ی فضایی موش های صحرایی جوان بعد از القای مکرر مهار منتشر شونده

احمد علی لطفی نیا^{۱،۲}، محمود لطفی نیا^{۱،۲}، میلاد احمدی^{۱،۲}، بابک خدایی^{۱،۲}، مریم جعفریان^{۱،۴*}

^۱ مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران.
^۲ دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
^۳ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
^۴ دانشکده فن آوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۱۲ آذر ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۳۰ مهر ۱۳۹۲

چکیده

مقدمه: مهار منتشر شونده یک موج بیوالکتریکی در سیستم عصبی مرکزی است که از طریق ماده ی خاکستری در مغز پخش شده و اثرات مختلفی از جمله دیپلاریزاسیون نورون ها و اختلالات یونی را از خود بر جای می گذارد. این پدیده نقش مهمی در بسیاری از اختلالات عصبی نظیر صرع، میگرن با اورا، آسیب های مغزی و بیماری های عروقی- مغزی بازی می کند. به نظر می رسد اثرات تحریکی گیرنده ی گلوتامات در مغز با آسیب های عصبی در ارتباط باشد. هدف مطالعه ی ما ارزیابی اثر گیرنده ی AMPA بر روی تخریب ایجاد شده به وسیله القای مهار منتشر شونده بر روی حافظه ی فضایی است. **مواد و روش ها:** DNQX، آنتاگونیست گیرنده گلوتاماتی آمپا، پس از القای مهار منتشر شونده به وسیله کلریدپتاسیم ۲ مولار از طریق داخل صفاقی (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) در موش های جوان نژاد ویستار (۸۰-۶۰ گرم) تزریق شد. بازیابی حافظه ی فضایی به کمک تست رفتاری T-Maze بررسی شد. **یافته ها:** القای مکرر هفته ای مهار منتشر شونده باعث تخریب حافظه پس از چهار هفته شد. مهار گیرنده ی AMPA به وسیله DNQX تأثیری بر روی تخریب حافظه ی ناشی از القای مهار منتشر شونده نداشت. **نتیجه گیری:** داده های ما حاکی از عدم ارتباط گیرنده ی گلوتاماتی AMPA با تخریب حافظه ی ناشی از القای مهار منتشر شونده در موش های صحرایی جوان می باشد.

کلید واژه ها:

۱. مهار منتشر شونده
۲. قشری
۳. حافظه

* نویسنده مسئول: مریم جعفریان

آدرس الکترونیکی: jafarian.m34@gmail.com

مقدمه

هیپوکمپ و در نتیجه حافظه‌ی موش هادر طول پدیده SD تکرار شوند ثابت شده است (۱۶، ۱۵)، و می دانیم که منجر به افزایش سلول های تیره در نواحی مختلف هیپوکمپ می شود، در این پژوهش در نظر داریم با کمک تست رفتاری T-Maze، تأثیر داروی DNQX^۱، آنتاگونیست گیرنده ی AMPA، را بر حافظه ی موش های صحرایی نابالغ بررسی کنیم.

مواد و روش ها

در این مطالعه از تعداد ۴۷ عدد موش صحرایی جوان ۳۵-۲۵ روزه نژاد ویستار با محدوده ی وزنی ۸۰-۶۰ گرم که در مرکز نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا پرورش یافته بودند، استفاده گردید. حیوانات به صورت انفرادی و در سیکل روشنایی: تاریکی ۱۲:۱۲ با دسترسی آزاد به آب و غذا و در درجه حرارت ۲۲±۲ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. تمامی مراحل آزمایش بر اساس پروتکل تأیید شده ی کمیته ی اخلاق مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا اجرا شد. حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه کنترل SD، درمان، کنترل درمان و شم (کنترل منفی) تقسیم شدند.

تزریق KCl و داروی DNQX در گروه های مختلف بشرح ذیل انجام گرفت:

• گروه شم (کنترل منفی): طی ۴ هفته ی متوالی پس از جراحی هر هفته مقدار ۱۵-۱۰ میکرولیتر سرم رینگر از طریق کانولا تزریق گردید.

• گروه کنترل درمان: طی ۴ هفته ی متوالی پس از جراحی هر هفته به مقدار ۱۵-۱۰ میکرولیتر سرم رینگر از طریق کانولا تزریق گردید. در این گروه قبل از هر بار تزریق سرم، DNQX به میزان ۱ میلی گرم/کیلوگرم به صورت درون صفاقی تزریق گردید.

• گروه کنترل SD: طی ۴ هفته متوالی پس از جراحی هر هفته به مقدار ۱۵-۱۰ میکرولیتر محلول کلرید پتاسیم (KCl) ۲ مولار از طریق کانولا تزریق می شود. در این گروه قبل از هر بار تزریق کلرید پتاسیم، ۱ میلی لیتر سرم رینگر بصورت درون صفاقی تزریق گردید.

• گروه درمان: طی ۴ هفته ی متوالی پس از جراحی هر بار به مقدار ۱۵-۱۰ میکرولیتر محلول کلرید پتاسیم ۲ مولار از طریق کانولا تزریق می شود. در این گروه بلافاصله پس از هر بار تزریق کلرید پتاسیم، DNQX به میزان ۱ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

جراحی استریوتاکسی

در ابتدا موش ها با استفاده از یک ترازوی حساس وزن شده و سپس با تزریق ۱۵۰ میلی گرم/کیلوگرم کتامین و ۰/۱ میلی گرم/کیلوگرم زایلازین به صورت درون صفاقی بیهوش شدند. پس از بیهوشی سر حیوان در دستگاه استریوتاکس^۵

مهار منتشر شونده (SD) موجی گذرا از دپلاریزاسیون نورون ها و آستروسیت ها در سیستم عصبی مرکزی است که به عنوان یک پدیده ی پاتوفیزیولوژیک در سطح سلول های مغزی به صورت آهسته منتشر می شود و در سر راه خود تغییرات مختلفی را بر جریان خون، سوخت و ساز سلول های مغزی و تعادل یون ها و نوروترانسمیترهای سلول های مغزی ایفا می کند (۳-۱). نتیجه ی این بر هم خوردن توازن یونی و جا به جا شدن یون های سدیم، کلر و کلسیم به داخل و پتاسیم و هیدروژن به خارج سلول، دپلاریزاسیون مجدد سلول است (۴-۶) که به دلیل اختلال در عملکرد طبیعی آستروسیت ها به دیگر نقاط گسترش می یابد.

آستروسیت ها که زیر مجموعه ی سلول های گلیال هستند، نقش های متفاوتی در سیستم عصبی مرکزی ایفا می کنند که از آن جمله جمع آوری پتاسیم و گلوتامات موجود در فضای خارج سلولی است که به دنبال فعالیت طبیعی نورون ها در خارج سلول جمع می یابند (۷).

در میان عوامل زیادی که در پیدایش و نشر موج SD نقش دارند، همانطور که گفته شد پتاسیم، گلوتامات و کلسیم از اهمیت بیشتری از سایر عوامل برخوردار هستند (۱). اگر این محصولات محرک برای مغز، توسط آستروسیت ها جمع آوری نشوند زمینه ساز دپلاریزاسیون های بعدی نورون های مجاور می گردند و در این هنگام خود آستروسیت ها نیز می توانند به منبعی برای نشت این مواد تبدیل شوند که بدین ترتیب موج SD در مغز منتشر می شود (۸-۱۰).

در حدود ۷۰ سالی که از معرفی این پدیده توسط لئو، دانشمند برزیلی گذشته، تحقیقات گسترده ای بر روی پاتوفیزیولوژی این پدیده در نواحی مختلف مغزی صورت گرفته است (۱۶-۱۱). از جمله ی این نواحی، هیپوکمپ است که به دلیل سهل الوصول بودن بررسی آن و نقش مهمی که در حافظه بازی می کند همواره مورد توجه بیشتری قرار داشته است. همچنین هیپوکمپ به دلیل داشتن اتصالات شکاف دار بیشتر نسبت به مناطق دیگر مانند هیپوتالاموس، کورتکس و طناب نخاعی، احتمال وقوع SD در آن بیشتر است (۱۷). چرا که آستروسیت ها زمانی که از مواد زائد جمع آوری شده پر شدند آن ها را از طریق همین اتصالات شکافدار به فضای خارج سلولی نشت می دهند و موجبات پخش موج را فراهم می نمایند (۱۰).

بنابر آنچه قبل تر گفته شد و تحقیقات گسترده ای که در این زمینه صورت گرفته، نوروترانسمیتر تحریکی گلوتامات در ایجاد و انتشار SD نقش مهمی را ایفا می کند (۲۳-۱۸، ۳). از این رو یکی از استراتژی های درمانی پیشنهاد شده برای درمان SD (که از عوامل راه انداز بسیاری از بیماری های سیستم عصبی مرکزی است)، استفاده از آنتاگونیست های گیرنده های گلوتاماتی از جمله گیرنده های AMPA^۲ و NMDA^۲ است (۲۵، ۲۴، ۲۱).

از آنجایی که به کمک تکنیک های مختلف آزمایشگاهی آسیب به

¹ Spreading Depression

² N-methyl-D-aspartate Receptor

³ Receptor α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic Acid

⁴ 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione

⁵ Stereotax

آزمون رفتاری

عملکرد حافظه‌ی موش‌های مورد مطالعه به وسیله‌ی تست رفتاری T-maze به مدت ۴ هفته بررسی شد. T-maze یک وسیله‌ی بسته به شکل T است که به صورت افقی بر روی زمین قرار گرفته است. عرض کف آن ۱۰ سانتی متر بوده و از شیشه‌ی سیاه ساخته شده است. ارتفاع دیواره‌های آن ۱۷ سانتی متر بوده و از شیشه شفاف ساخته شده است. طول هر کدام از بازوها نیز ۷۰ سانتی متر است و انتهای یکی از بازوها یک درب کشویی تعبیه شده که محل شروع آزمون رفتاری محسوب می‌شود. بازوی درازتر ۱۴۰ سانتی متر طول دارد و در یک انتهای آن پلیت غذا و در انتهای دیگر یک کاسه خالی قرار داده شده است. موش‌ها ۵ روز بعد از جراحی به مدت ۱۰ دقیقه در نور سفید (چراغ روشن) در T-maze آموزش دیدند و سپس به مدت یک روز بدون غذا بودند.

در روز آزمون پس از قرارگیری در محل شروع، ۲ دقیقه فرصت داشتند تا زیر نور قرمز، غذا را پیدا کنند. نور قرمز نیز در ارتفاع ۱۶۴ سانتی متری بالای T-maze قرار داده شد. در طول انجام آزمون رفتاری، از اعمال موش‌ها فیلمبرداری می‌شد و زمان پیدا کردن غذا توسط هر موش ثبت گردید و در نهایت مورد بررسی آماری قرار گرفت. تست‌های رفتاری برای همه‌ی موش‌ها در صبح انجام شد، همچنین محیط T-maze پس از هر موش برای موش دیگر تمیز می‌شد.

آنالیز آماری

نتایج به دست آمده از آزمون رفتاری توسط نرم افزار مورد ارزیابی آماری قرار گرفت. در این تحقیق برای آنالیز و تحلیل آماری از برنامه‌ی IBM SPSS Statistics 19 و تست یک طرفه ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. در این تست متوسط زمان برداشت غذا در هر گروه بررسی شد. معیار معناداری برای هر گروه $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی آزمون رفتاری در طول ۴ هفته متوالی نشان داد که القای SD می‌تواند حافظه‌ی فضایی موش‌ها را مختل کند (نمودار ۱).

متوسط زمان پیدا کردن غذا در گروه کنترل SD، در هفته‌ی اول $(62/62 \pm 10/97)$ ثانیه، هفته‌ی دوم $(41/87 \pm 9/99)$ ثانیه، هفته‌ی سوم $(143/12 \pm 14/68)$ ثانیه و هفته‌ی چهارم $(148/12 \pm 10/01)$ ثانیه بود. متوسط زمان پیدا کردن غذا در گروه شام، در هفته‌ی اول $(57 \pm 11/21)$ ثانیه، هفته‌ی دوم $(92/83 \pm 11/21)$ ثانیه، هفته‌ی سوم $(86 \pm 5/08)$ ثانیه و هفته‌ی چهارم $(68/16 \pm 3/3)$ ثانیه بود. متوسط زمان پیدا کردن غذا در گروه کنترل درمان، در هفته‌ی اول $(77/83 \pm 12/19)$ ثانیه، هفته‌ی دوم $(74/83 \pm 23/39)$ ثانیه، هفته‌ی سوم $(103/50 \pm 22/89)$ ثانیه و هفته‌ی چهارم $(82/16 \pm 16/01)$ ثانیه بود. متوسط زمان پیدا کردن غذا در گروه درمان، در هفته‌ی اول $(85 \pm 11/15)$

(تجهیزات استولتینگ، آمریکا) قرار گرفته و موش‌ها سر آن‌ها تراشیده شد و سر آن‌ها بوسیله‌ی دستگاه استریوتاکس ثابت گردید تا امکان اعمال جراحی بر روی آن وجود داشته باشد. سپس ناحیه‌ی سر ضد عفونی شده و با تیغ بیستوری یک برش طولی روی پوست سر ایجاد شد. بدن آن بافت‌های زیر جلدی کنار زده شده تا استخوان جمجمه در معرض دید قرار گیرد. سپس با استفاده از مته مخصوص ۴ سوراخ تا سطح سخت شامه بدون ایجاد زخم روی آن ایجاد شد. به ترتیب: ۲ سوراخ مقابل هم در استخوان آهیانه، ۱ سوراخ در استخوان پیشانی و ۱ سوراخ بر روی استخوان بینی به عنوان مرجع ایجاد شد. در داخل سوراخ استخوان پیشانی کانولی که از سر سوزن‌های استیل ۲۶ درجه به طول یک سانتیمتر به طور دستی درست شده بود به منظور انجام تزریق‌های داخل مغزی کلریدپتاسیم و سرم رینگر قرار داده شد. برای حفاظت کانولا از آلودگی و بسته نشدن، با استفاده از کانول‌های مخصوص دندانپزشکی، سرپوشی برای کانول‌های کاشته شده، ساخته شد. سپس دو الکتروود نقره در داخل سوراخ‌های استخوان آهیانه و یکی در سوراخ استخوان بینی به منظور ثبت امواج مغزی قرار داده شد. در نهایت ناحیه‌ی جراحی توسط سیمان جراحی پرگشت (۲۶). پس از انجام مراحل جراحی برای جلوگیری از عفونت، پنی سیلین ۱۲۰۰۰۰ با دوز ۲۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن رت استفاده شد. پس از اتمام جراحی همه‌ی حیوانات یک هفته دوره‌ی ریکاوری بعد از عمل را گذراندند. روند جراحی ذکر شده برای هر چهار گروه کنترل SD، درمان، کنترل درمان و شام صورت گرفت.

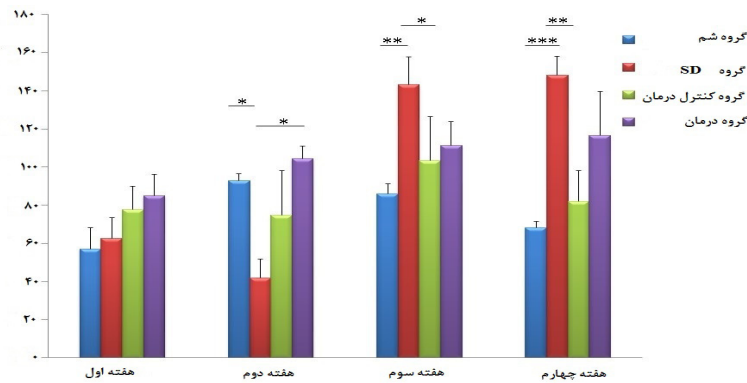
القای SD

القای SD در دو گروه درمانی و کنترل SD صورت گرفت. به این صورت که موش‌ها به وسیله پنتوباریتال (۶۰ mg/kg) بیهوش شدند و از طریق کانولا، ۱۵-۱۰ میکرولیتر محلول کلریدپتاسیم ۲ مولار در طول مدت ۱ دقیقه به وسیله سرنگ همیلتون ۱۰ میکرولیتری که توسط یک لوله‌ی پلی اتیلن به سرنگ تزریق ۲۷ درجه وصل شده بود تزریق‌های داخل مغزی انجام می‌شد. برای تأیید القای SD، همزمان با تزریق KCl، امواج الکتریکی مغزی برای تأیید القای صحیح آن به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه ثبت شدند. القای SD، ۴ مرتبه به صورت مکرر و با فواصل زمانی یک هفته در گروه‌های یاد شده صورت گرفت. همچنین تزریق سرم رینگر در گروه شام از طریق کانولای کار گذاشته شده انجام شد.

دارو

داروی (DNQX Ascent, Scientific) که به عنوان یک آنتاگونیست رقابتی گیرنده‌های گلوتاماتی AMPA و Kainite محسوب می‌شود در این بررسی مورد استفاده قرار گرفت تا اثر آن بر آسیب وارده از القای پدیده‌ی SD از بعد رفتاری مشخص شود. دارو در سالین ۰/۹ درصد حل شد و با دوز ۱ میلی گرم/کیلوگرم یک دقیقه پس از القای SD به موش‌ها تزریق شد. همچنین برای گروه شام و کنترل SD از سرم رینگر استفاده شد. داروی مورد استفاده در روز آزمایش تهیه گردید.

⁶ Stoelting Instruments, USA



شفاخته

نمودار ۱- نتایج آزمون تست رفتاری T-maze در گروه های شام، کنترل SD، کنترل درمان و درمان. در هفته ی اول ارتباط معناداری بین گروه ها دیده نمی شود. در هفته ی دوم زمان برداشت غذا به طور معناداری در گروه کنترل SD در مقایسه با گروه های شام و درمان کاهش پیدا کرده است ($P < 0.05$)، که احتمالاً ناشی از نقش تحریکی SD بر نورون زایی است. اما در هفته های سوم و چهارم به دلیل آسیب غیرقابل برگشتی که به سلول های عصبی وارد می شود زمان برداشت غذا در گروه کنترل SD در مقایسه با دیگر گروه ها افزایش داشته است. به ترتیب در هفته های سوم و چهارم گروه کنترل SD افزایش معناداری را در مقایسه با گروه شام ($P < 0.01$ و $P < 0.001$) و گروه کنترل درمان ($P < 0.05$ و $P < 0.001$) نشان داد. *، **، *** به ترتیب نمایانگر: $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$ می باشند.

می شود (۲۳). القای SD موجب افزایش بیان ژن های سلول های گلیال بالاخص در ناحیه هیپوکامپ می شود (۳۰).

همچنین دیده شده است که میزان بیان زیر واحدهای NR_{2B} از گیرنده ی NMDA و GluR1 از گیرنده ی AMPA تحت تأثیر SD افزایش پیدا کرده است (۱۵) که نشان دهنده ی نقش مهم این گیرنده ها در پدیده SD می باشد. امروزه تلاش برای پیدا کردن راهی به منظور کاهش صدمات ناشی از گسترش موج SD در مغز، صورت گرفته است. از مهمترین اقدامات، به کارگیری آنتاگونیست های گیرنده های گلوتاماتی نظیر گیرنده ی NMDA و AMPA می باشد. این آنتاگونیست ها همچنین به عنوان کاندیداهای درمانی مهمی در محافظت از مغز در برابر سکتة ی مغزی و آسیب های مغزی در نظر گرفته می شوند (۳۱).

MK-801 و APH (2-amino-7-phosphonoheptanoic acid) به عنوان آنتاگونیست های گیرنده ی NMDA توانستند موج SD را مهار کنند (۱۸). همچنین MK-801 تعداد موج های SD و میزان گسترش آن را به طور معناداری کاهش داد (۲۴، ۲۳).

اما از بعد کلینیکی به دلیل کثرت اثرات جانبی و پنجره کوتاه مدت درمان، توجه چندانی برای به کارگیری آنتاگونیست های گیرنده ی NMDA در درمان آسیب های مغزی متعاقب SD وجود ندارد، از این رو مهار گیرنده های گلوتاماتی Non-NMDA نظیر گیرنده ی AMPA به عنوان یک رویکرد درمانی بهتر مورد توجه بیشتری قرار گرفت. به عنوان مثال ZK200775 به عنوان یک مهار کننده ی گیرنده ی AMPA با قابلیت حلالیت بسیار بالا بدین منظور معرفی شده است (۳۱).

در مطالعه ی حاضر داروی DNQX به عنوان آنتاگونیست گیرنده ی AMPA و Kainate به منظور جلوگیری از پخش موج SD مورد استفاده قرار گرفت. تحقیقات اولیه نشان دادند آنتاگونیست گیرنده ی NMDA، اما نه آنتاگونیست گیرنده ی AMPA، می تواند جلوی پدیده ی SD را بگیرد (۳۵-۳۳). اما

ثانیه)، هفته ی دوم ($104/50 \pm 6/57$ ثانیه)، هفته ی سوم ($116/50 \pm 23/21$ ثانیه) و هفته ی چهارم ($111/25 \pm 12/63$ ثانیه) بود.

بحث و نتیجه گیری

نتایج آزمون های رفتاری پس از چهار هفته نشان می دهند که حافظه ی موش های صحرایی در گروه کنترل SD در مقایسه با گروه شام کاهش معناداری پیدا کرده است و مدت زمان پیدا کردن غذا در آزمون T-maze افزایش پیدا کرده است.

مطالعات الکتروفیزیولوژی، بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی صورت گرفته بر روی موش هایی که به مدت چهار هفته القای SD در آن ها صورت گرفت، نشان داد در نواحی مختلف هیپوکامپ آسیب نورونی ایجاد می شود (۱۵). از آنجا که هیپوکامپ نقش اصلی را در حافظه بازی می کند می توان نتیجه گرفت آسیب نورونی ایجاد شده در آن می تواند به اختلال در حافظه منتهی شود.

تحقیق حاضر نیز مؤید این مطلب است که SD می تواند به سلول های عصبی نواحی هیپوکامپ آسیب زده و در بازیابی حافظه ی رفتاری موش های صحرایی اختلال ایجاد کند.

تحقیقات اخیر نشان داده است که در دستگاه عصبی مهره داران، انتقال عصبی تحریکی سریع، در درجه ی اول توسط گیرنده های یونوتروپیک گلوتاماتی صورت می گیرد (۲۸، ۲۷). مطالعات صورت گرفته بر روی SD به خوبی نشان می دهد که انتشار موج حاصل از این پدیده در مغز می تواند موجب افزایش نوروترانسمیترهای تحریکی شود (۲۹، ۲۳). به این صورت که القای SD تورم و التهاب سلول ها را به همراه خواهد داشت که نتیجه ی آن افزایش تحریک پذیری و فعال شدن نورون ها می باشد. با فعال شدن آستروسیت ها توسط التهاب، کانال های آنیونی ارگانیک وابسته به حجم (Volume Sensitive Organic Anion Channels) نیز فعال شده و نسبت به آنیون های ارگانیک مثل گلوتامات نفوذپذیر می شوند. در نتیجه انتقال سریع سیناپسی از این طریق ممکن

ما تخریب حافظه را در گروه کنترل SD طی چهار هفته مشاهده کردیم که به احتمال زیاد ناشی از آسیب وارده به سلول های ناحیه هیپوکمپ است و به دنبال آن در گروه درمان، زمان برداشت غذا با گروه شم تفاوت چندانی ندارد در حالی که در مقایسه با گروه SD در هفته های دوم و سوم کاهش یافته است که این کاهش البته معنادار نیست. در نهایت می توان این گونه بیان کرد که پخش موج SD در مغز، زمانی که به طور مکرر و در طول چهار هفته ی متوالی ایجاد می شود حافظه ی موش های صحرایی را دچار تخریب کرده و زمان برداشت غذا را در آن ها طولانی تر می کند.

تزریق آنتاگونیست گیرنده ی گلوتاماتی AMPA در گروه درمان، نمی تواند تغییر معناداری در جهت بهتر شدن حافظه ایجاد کند. می توان نتیجه گرفت با وجود اینکه مهار کننده های این گیرنده با جلوگیری از شروع موج SD و یا مهار گسترش این موج در مغز، نقش محافظتی در برابر بیماری هایی که متعاقب این پدیده منجر به آسیب به سیستم عصبی مرکزی می شوند، بازی می کند اما همچنان تغییر مثبتی در حافظه ایجاد نمی کنند. پیشنهاد می شود در ادامه ی این تحقیق، از تکنیک های بافت شناسی مانند رنگ آمیزی H & E^۹ و ایمونوهیستوشیمی^{۱۰} و یا تکنیک های مولکولی نظیر PCR استفاده گردد تا بتوان همزمان در کنار تست رفتاری، وضعیت حافظه را پس از القای SD و به کارگیری آنتاگونیست AMPA به طور دقیق تری مورد ارزیابی قرار داد.

AMPA و ۱۰ Mμ آنتاگونیست NMDA هر دو می توانند به طور معناداری تعداد سیکل های SD را کاهش دهند (۲۵).

در تحقیق حاضر که بر روی موش های صحرایی جوان صورت گرفت با مقایسه ی گروه شم، کنترل SD و درمان می توان دریافت که تزریق داخل صفاقی ۱ میلی گرم/کیلوگرم DNQX به مدت چهار هفته پس از القای SD نمی تواند به طور معنادار از تخریب حافظه ی ناشی از گسترش موج SD در مغز بکاهد. این در حالی است که طی مطالعه آسیب شناسی که در راستا و به دنبال این کار انجام دادیم (تحقیقات چاپ نشده) ثابت کردیم ۱ میلی گرم/کیلوگرم DNQX می تواند از آسیب نورونی متعاقب SD کاسته و مرگ نورونی را کاهش دهد.

مطالعات صورت گرفته بر روی دیگر آنتاگونیست های این گیرنده مانند NBQX در موش هایی که شریان مغزی میانی شان مسدود شده بود (MCA Occlusion)^۷ نشان داد تعداد «انحراف امواج مغزی»^۸ که حاکی از موج SD هستند به طور معناداری کاهش پیدا کرده اند (۳۶). از سوی دیگر اثرات محافظت کننده ی مغزی نیز برای آنتاگونیست های این گیرنده شناخته شده است. در این راستا در مدل MCA Occlusion و به دنبال تزریق آنتاگونیست گیرنده ی AMPA، مشخص گردید که حجم ناحیه ی ایسکمیک در مغز کاهش پیدا کرد (۳۷).

منابع

1. Gorji A. Spreading depression: a review of the clinical relevance. *Brain Res Rev.* 2001; 38(1): 33-60.
2. Smith JM, Bradley DP, James MF, Huang CLH. Physiological studies of cortical spreading depression. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2006; 81(4): 457-81.
3. Bures J, Buresova O, Krivanek J. The mechanism and applications of Leao's spreading depression of EEG activity. New York, Academic, 1974.
4. Hansen AJ, Zeuthen T. Extracellular ion. ion concentrations during spreading depression and ischemia in the rat brain cortex. *Acta Physiol Scand.* 1981; 113(4): 437-45.
5. Strong AJ. Dr. Bernice Grafstein's paper on the mechanism of spreading depression. *J Neurophysiol.* 2005; 94(1): 5-7.
6. Kraio R, Nicholson C. Extracellular ionic variations during spreading depression. *Neuroscience.* 1978; 3(11): 1045-59.
7. The middle cerebral artery Occlusion (MCA)
8. DC Deflection
9. Hematoxylin and Eosin
10. Immunohistochemistry
7. Magistretti PJ and Pellerin L. Astrocytes couple synaptic activity to glucose utilization in the brain. *News Physiol Sci.* 1999; 14(5): 177-82.
8. Nedergaard M, Cooper AJ, Goldman SA. Gap junctions are required for the propagation of spreading depression. *J Neurobiol.* 1995; 28(4): 433-44.
9. Canals S, Makarova I, Lopez-Aguado L, Largo C, Ibarz JM, Herreras O. Longitudinal depolarization gradients along the somatodendritic axis of CA1 pyramidal cells: a novel feature of spreading depression. *J Neurophysiol.* 2005; 94(2): 943-51.
10. Paulson OB and Newman EA. Does the release of potassium from astrocyte endfeet regulate cerebral blood flow? *Science.* 1987; 237(4817): 896.
11. Kelly M, Battye R, McIntyre D. Cortical spreading depression reversibly disrupts convulsive motor seizure expression in amygdala-kindled rats. *Neuroscience.* 1999; 91(1): 305-13.
12. Dehbandi S, Speckmann EJ, Pape HC, Gorji A. Cortical spreading depression modulates synaptic transmission of the rat lateral amygdala. *Eur J Neurosci.* 2008; 27(8): 2057-65.

13. Vinogradova L, Koroleva V, Bures J. Re-entry waves of Leao's spreading depression between neocortex and caudate nucleus. *Brain res.* 1991; 538(1): 161-4.
14. Shibata M, Hori T, Kiyohara T, Nakashima T. Activity of hypothalamic thermosensitive neurons during cortical spreading depression in the rat. *Brain res.* 1984; 308(2): 255-62.
15. Sadeghian H, Jafarian M, Karimzadeh F, Kafami L, Kazemi H, Coulon P, et al. Neuronal death by repetitive cortical spreading depression in juvenile rat brain. *Exp Neurol.* 2012; 233(1): 438-46.
16. Jafarian M, Rahimi S, Behnam F, Hosseini M, Haghiri H, Sadeghzadeh B, et al. The effect of repetitive spreading depression on neuronal damage in juvenile rat brain. *Neuroscience.* 2010; 169(1): 388-94.
17. Czéh G, Somjen G. Hypoxic failure of synaptic transmission in the isolated spinal cord and the effects of divalent cations. *Brain res.* 1990; 527(2): 224-33.
18. Lauritzen M, Hansen AJ. The effect of glutamate receptor blockade on anoxic depolarization and cortical spreading depression. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1992; 12(2): 223-9.
19. Formicola D, Aloia A, Sampaolo S, Farina O, Diodato D, Griffiths LR, et al. Common variants in the regulative regions of GRIA1 and GRIA3 receptor genes are associated with migraine susceptibility. *BMC Med Genet.* 2010; 11(1): 103.
20. Faria LC, Mody I. Protective effect of ifenprodil against spreading depression in the mouse entorhinal cortex. *J Neurophysiol.* 2004; 92(4): 2610-4.
21. Peeters M, Gunthorpe MJ, Strijbos PJ, Goldsmith P, Upton N, James MF. Effects of pan- and subtype-selective N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on cortical spreading depression in the rat: therapeutic potential for migraine. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007; 321(2): 564-72.
22. Harreveld AV. Compounds in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortical activity and contraction of crustacean muscle. *J Neurochem.* 1959; 3(4): 300-15.
23. Basarsky TA, Feighan D, MacVicar BA. Glutamate release through volume-activated channels during spreading depression. *Neuroscience.* 1999; 19(15): 6439-45.
24. Gill R, Andine P, Hillered L, Persson L, Hagberg H. The effect of MK-801 on cortical spreading depression in the penumbral zone following focal ischaemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1992; 12(3): 371-9.
25. Addae JI, Ali N, Stone TW. Effects of AMPA and clomethiazole on spreading depression cycles in the rat neocortex in vivo. *Eur J Pharmacol.* 2011; 653(1): 41-6.
26. Costa-Cruz RRG, Amâncio-dos-Santos Â, Guedes RCA. Characterization of cortical spreading depression in adult well-nourished and malnourished rats submitted to the association of pilocarpine-induced epilepsy plus streptozotocin-induced hyperglycemia. *Neurosci Lett.* 2006; 401(3): 271-5.
27. Cotman CW, Monaghan DT, Ottersen OP, Storm-Mathisen J. Anatomical organization of excitatory amino acid receptors and their pathways. *Trends Neurosci.* 1987; 10(7): 273-80.
28. Monaghan DT, Bridges RJ, Cotman CW. The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology, and distinct properties in the function of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1989; 29(1): 365-402.
29. Van Harreveld A, Fifková E. Glutamate release from the retina during spreading depression. *J neurobiol.* 1970; 2(1): 13-29.
30. Bonthuis DJ, Oswald S. Induction of cortical spreading depression with potassium chloride upregulates levels of messenger RNA for glial fibrillary acidic protein in cortex and hippocampus: inhibition by MK-801. *Brain res.* 1993; 618(1): 83-94.
31. Turski L, Huth A, Sheardown M, McDonald F, Neuhaus R, Schneider HH, et al. ZK200775: a phosphonate quinoxalinedione AMPA antagonist for neuroprotection in stroke and trauma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95(18): 10960-5.
32. Herrera D, Robertson H. Application of potassium chloride to the brain surface induces the c-fos proto-oncogene: reversal by MK-801. *Brain res.* 1990; 510(1): 166-70.
33. Tozzi A, de Iure A, Di Filippo M, Costa C, Caproni S, Pisani A, et al. Critical role of calcitonin gene-related peptide receptors in cortical spreading depression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109(46): 18985-90.
34. Addae J, Evans S, Ali N, Stone T. NMDA-induced changes in a cortical network in vivo are prevented by AMPA. *Brain res.* 2000; 869(1): 211-5.
35. Anderson TR, Andrew RD. Spreading depression: imaging and blockade in the rat neocortical brain slice. *J Neurophysiol.* 2002; 88(5): 2713-25.
36. Mies G, Kohno K, Hossmann K-A. Prevention of periinfarct direct current shifts with glutamate antagonist NBQX following occlusion of the middle cerebral artery in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1994; 14(5): 802-7.
37. Gill R, Lodge D. The neuroprotective effects of the decahydroisoquinoline, LY 215490; a novel AMPA antagonist in focal ischaemia. *Neuropharmacology.* 1994; 33(12): 1529-36.