[DOI: 10.7508/ismj.1394.06.002]
Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 4:49 +0330 on Wednesday February 21st 2018

دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هجدهم، شماره ۶، صفحه ۱۱۳۱ - ۱۱۲۴ (بهمن و اسفند ۱۳۹۴)

ISMJ 2016; 18(6): 1124-1131

بررسی اثر مهار نیتریک اکساید بر میزان نورمتانفرین هیپوکامپی در شرایط استرس و بدون استرس در موش‌های صحرایی نر بالغ

هنا مولاهویزه [۱]، هومن اسحق هارونی [۱*]، حسین نجف زاده ورزی [۲]، احمدعلی معاضدی [۱]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
[۲] گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

(دریافت مقاله: ۹۳/۲/۱۶- پذیرش مقاله: ۹۳/۱۲/۶)

چکیده

زمینه: نیتریک اکساید (NO) در هیپوکامپ در تنظیم آزاد شدن نوروترانسمیترهایی از قبیل نوراپینفرین نقش دارد. نورمتانفرین متابولیت نوراپی نفرین می‌باشد که از طریق تأثیر آنزیم COMT بر نوراپی نفرین تولید می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که استرس‌های مختلف، آزاد شدن نوراپی نفرین و متابولیت‌های آن را افزایش می‌دهد. بنابراین در این مطالعه نقش NO در تنظیم آزاد شدن نوراپی نفرین و متابولیزه شدن آن در شرایط استرس و بدون استرس با استفاده از مهار کننده NO (L-NAME) بررسی گردیده است.

مواد و روش‌ها: بدین منظور، ۵۰ سر موش صحرایی بالغ به ۱۰ گروه تقسیم شدند. ۵ گروه تحت تأثیر استرس محدود کننده قرار گرفتند و ۵ گروه بدون استرس بودند که گروه‌ها شامل کنترل، سالین و دریافت کننده مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم L-NAME به‌صورت داخل صفاقی بودند. سی دقیقه پس از تزریق L-NAME، قسمت هیپوکامپ جدا گردید سپس هموژنایز و سانتریفوژ شد و میزان نورمتانفرین با استفاده از کیت الایزا اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در شرایط بدون استرس میزان نورمتانفرین در گروه دریافت کننده ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم L-NAME، نسبت به سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است اما در شرایط استرس میزان نورمتانفرین در همه گروه‌های دریافت کننده L-NAME نسبت به گروه‌های کنترل و سالین به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. مقایسه بین شرایط استرس و بدون استرس نشان داد که استرس به تنهایی باعث افزایش معنی‌داری در میزان نورمتانفرین گروه‌های کنترل و سالین شده است.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی اثر مهار تولید NO بر میزان نورمتانفرین در حضور و غیاب استرس نتایج متفاوتی نشان داد و احتمالاً L-NAME، اثرات افزایشی استرس بر میزان نورمتانفرین، از مسیر نیتریک اکساید را ممانعت می‌کند.

واژگان کلیدی: استرس، موش صحرایی، نورمتانفرین، نیتریک اکساید، هیپوکامپ

* اهواز، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

E mail:harooni@scu.ac.ir

[DOI: 10.7508/ismj.1394.06.002]
Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 4:49 +0330 on Wednesday February 21st 2018

مقدمه

نیتریک اکساید (NO)،[1] مولکولی است که اثرات متعددی در بافت‌های مختلف دارد و در بخش‌های مختلف مغز از جمله هیپوکامپ، به وسیله گروهی از آنزیم‌ها که NOS [2] نامیده می‌شوند تولید می‌شود (۱-۳).

NO، در سیستم عصبی مرکزی به‌عنوان نوروترانسمیتر و تعدیل کننده عصبی عمل می‌کند (۴). گیرنده‌های NMDA[3] و نیتریک اکساید مسئول تنظیم آزاد شدن نوراپی نفرین هستند. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که درمان به‌وسیله دهنده‌های نیتریک اکساید آزاد شدن نوراپی نفرین در هیپوکامپ را تحریک می‌کنند و مهار کننده‌های نیتریک اکساید سنتاز سطوح نوراپی نفرین را کاهش می‌دهند(۵ و ۶). استرس می‌تواند به عنوان واکنش مغز- بدن در مقابل محرک‌های منشأ گرفته از محیط خارجی مثل ترس یا عوامل داخلی که به‌عنوان عوامل مختل کننده هوموستازی فیزیولوژیکی و روانی شناخته می‌شوند تعریف شود (۹-۷). استرس باعث فعال سازی لوکوس سرولئوس و افزایش ترشح نوراپی نفرین و متابولیت‌های آن می‌شود (۱۰). نورمتانفرین متابولیت نوراپی نفرین می باشد که از طریق تأثیر آنزیم COMT [4] بر نوراپی نفرین تولید می‌شود (۱۱). هیپوکامپ، هدف عمده مطالعاتی که بر روی عمل هورمون‌ها و تعدیل کننده‌های عصبی که در طول استرس از اندام‌های محیطی آزاد می‌شوند، می‌باشد (۹). هسته لوکوس سرلئوس به لایه‌های مختلف هیپوکامپ انشعاب می‌دهد که دلیلی برای نوراپی نفرین مشاهده شده در هیپوکامپ می‌باشد (۱۲).

همچنین مشاهده شده که استرس محدود کننده باعث فعال‌سازی mRNA مربوط به نیتریک اکساید سنتاز نورونی در محور HPA [5] در موش‌های صحرایی می‌گردد (۱۳ و ۱۴). بنابراین با توجه به اینکه NO، بر روی مونوآمین‌های مغز در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی از قبیل استرس و اضطراب نقش تعدیل کنندگی دارد و در نظر گرفتن اینکه استرس باعث افزایش بیان آنزیم NOS می‌گردد و همچنین حساس بودن هیپوکامپ به شرایط استرس و عصب‌گیری نورآدرنرژیک آن، در مطالعه حاضر، اثر مهار تولید نیتریک اکساید توسط L-NAME [6] بر روی متابولیزه شدن نوراپی نفرین هیپوکامپ در شرایط بدون استرس و مقایسه آن با شرایط استرس محدود کننده مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

برای این کار تحقیقاتی از ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (تهیه شده از مرکز تکثیر حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز) در محدوده وزنی ۵۰±۲۵۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها به دو گروه اصلی استرس دیده شامل گروه‌های (تعداد ۵ سر موش در هر گروه) سالم، سالین و دریافت کننده (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن) L-NAME و بدون استرس شامل گروه سالم، سالین و دریافت کننده (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن) L-NAME تقسیم شدند (۱۵ و ۱۶). جهت ایجاد استرس موش‌ها به مدت یک ساعت در جعبه‌های محدود کننده قرار داده شدند. داروها (L-NAME تهیه شده از شرکت سیگما- آلدریچ) به‌صورت درون صفاقی تزریق شدند ۳۰ دقیقه بعد،

[1] Nitric oxide
[2] Nitric oxide synthase
[3] N-methyl-D-aspartate
[4] Catechol-O-methyltransferase
[5] Hypothalamus-pituitary-adrenal
[6] NG-nitro-l-arginine methyl ester

[DOI: 10.7508/ismj.1394.06.002]
Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 4:49 +0330 on Wednesday February 21st 2018

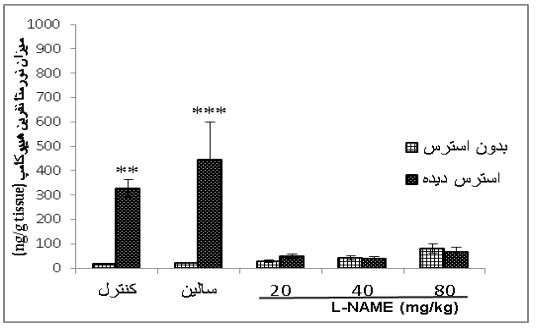
موش‌ها آسان‌کشی شده و پس از درآوردن مغز، هیپوکامپ جدا شد و در محلول اسید فرمیک سرد قرار گرفت (۱۷) و پس از تعیین وزن، هموژنایز (شرکت میکرای آلمان) و سانتریفوژ شدن، عصاره هیپوکامپ جدا گردیده و میزان نورمتانفرین آن توسط کیت الایزا اختصاصی نورمتانفرین (ساخت شرکت LDN سوئد) اندازه‌گیری شد (۱۸).

داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc، Chicago، Il، USA) ویرایش ۱۶ و روش آنالیز واریانس یک طرفه و دوطرفه (ANOVA) مورد بررسی آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها بین گروه‌ها از پس آزمون LSD استفاده شد. در نمودار میانگین‌ها به صورت میانگین ±SEM نمایش داده شدند و در تمام آزمایشات انجام شده سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که "استرس" اثر معنی‌داری بر میزان نورمتانفرین دارد (P=۰/۰۰۰، f(۱ ،۶۴)=۱۷/۳۲). از طرف دیگر تجویز "دوزهای" مختلف L-NAME هم اثر معنی‌داری بر میزان نورمتانفرین هیپوکامپی نشان داد (P=۰/۰۰۲، f(۴ ،۶۴)=۴/۷۴). تداخل "دوز و استرس" نیز بر میزان نورمتانفرین معنی‌دار بود [(P=۰/۰۰۰، f(۴ ،۶۴)=۶/۵۹)]. در بررسی درون گروهی، در گروه استرس ندیده میزان نورمتانفرین هیپوکامپی گروه دریافت کننده L-NAME با مقدار ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم، افزایش معنی‌داری نسبت به کنترل، سالین، L-NAME۲۰ (p<۰/۰۰۱) و L-۴۰ NAME (p<۰/۰۵) نشان داد. در حالی که در گروه استرس دیده میزان نورمتانفرین هیپوکامپی کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۵) در همه گروه‌های دریافت کننده L-NAME در مقایسه با گروه کنترل و سالین نشان داد.

در مجموع مقایسه نتایج گروه‌های استرس دیده با گروه‌های استرس ندیده نشان می‌دهد که تجویز L-NAME مانع از افزایش میزان نورمتانفرین هیپوکامپی در گروه‌های استرس دیده گردیده است. به‌عبارت دیگر استرس به تنهایی به‌طور معنی‌داری میزان نورمتانفرین را افزایش داده که مهار تولید NO توسط L-NAME مانع از این اثر استرس شده است. این اثر در نمودار ۱ به خوبی نشان داده شده است، به‌طوری که در گروه‌های استرس دیده و دریافت کننده L-NAME مقادیر نورمتانفرین اندازه‌گیری شده بسیار نزدیک به مقادیر اندازه‌گیری شده در موش‌های استرس ندیده است.



نمودار ۱) مقایسه میزان نورمتانفرین هیپوکامپ در گروه‌های بدون استرس و استرس دیده: ستون‌ها میانگین نورمتانفرین هیپوکامپ (±SEM) را نشان می‌دهند (***p<۰/۰۰۱ و **p<۰/۰۱ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با شرایط بدون استرس می‌باشند.)

بحث

اثر L-NAME بر میزان نورمتانفرین هیپوکامپی، در گروه‌های بدون استرس

نورمتانفرین متابولیت نوراپی نفرین می‌باشد که در مسیر متابولیزه شدن نوراپی نفرین به وسیله آنزیم COMT، تولید می‌شود. در مطالعه حاضر تجویز سالین و مقادیر ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم

[DOI: 10.7508/ismj.1394.06.002]
Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 4:49 +0330 on Wednesday February 21st 2018

L-NAME، تأثیری بر مقدار این متابولیت در هیپوکامپ در مقایسه با گروه کنترل نداشت اما با مقدار ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم L-NAME، مقدار آن در هیپوکامپ افزایش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌های بدون استرس داشته است (نمودار ۱).

بنابراین افزایش این متابولیت بیانگر افزایش سوبسترای اولیه آن، نوراپی نفرین بوده است (۱۱). به طور کلی می‌توان گفت که فعالیت سیستم نیتریک اکساید در شرایط بدون استرس می‌تواند اثر مهاری بر میزان نورمتانفرین داشته باشد. به عبارت دیگر، با وجود فعالیت نیتریک اکساید در شرایط پایه، فعالیت سیستم نورآدرنرژیک در حد پایین نگه داشته می‌شود. پس می‌توان نتیجه گرفت که نیتریک اکساید در شرایط بدون استرس به‌عنوان یک مولکول درون‌زادی در جهت کاهش میزان نورمتانفرین عمل می‌کند. نتیجه مطالعه حاضر با نتایج برخی مطالعات همسو می‌باشد. به‌عنوان مثال مشاهده شده که در هیپوتالاموس قاعده‌ای SNP[۷] که آزاد کننده نیتریک اکساید می‌باشد، می‌تواند آزاد شدن نوراپی نفرین پایه و تحریک شده به‌وسیله پتاسیم را مهار کند. در حالی‌که اثر مهاری در هر دو مورد در حضور هموگلوبین از بین می‌رود و آزاد شدن نوراپی نفرین نیز در حضور L-NMMA[۸] مهار کننده رقابتی NOS افزایش می‌یابد. بنابراین آزاد شدن NO از نورون‌های نیتررژیک در هیپوتالاموس قاعده‌ای میانی به صورت In vitro یک عمل مهاری تونیک بر روی آزاد شدن نوراپی نفرین دارد و باعث کاهش آن می‌شود و اثر تحریکی پتاسیم بر روی آزاد شدن کاتکول آمین‌ها را مهار می‌کند (۱۹). در حالی‌که نتایج برخی از مطالعات دیگر با نتیجه مطالعه حاضر متفاوت می‌باشند و نشان داده‌اند که به کار بردن دهنده‌های NO باعث تحریک آزادسازی نوراپی نفرین در هیپوکامپ شده و مهارکننده‌های NOS باعث کاهش سطوح آن می‌گردند (۵ و ۶). به عنوان مثال، SNP، SNAP [۹] و ترکیبات تیول از قبیل ال-سیستئین به‌صورت In vivo و In vitro باعث افزایش آزاد شدن نوراپی نفرین از برش‌های هیپوکامپی می‌شوند (۲۰). SNAP و SNP همچنین آزاد شدن پایه نورآدرنالین در سیناپتوزوم‌های قشری موش را افزایش می‌دهند (۲۱). مشاهده شده که SNAP و NO آزاد شدن نوراپی نفرین تحریک شده به وسیله پتاسیم و NMDA را از برش‌های هیپوکامپی و قشری افزایش می‌دهد و مهار کننده نیتریک اکساید اثری بر روی نوراپی نفرین آزاد شده نداشته است (۲۲).

اثر L-NAME بر میزان نورمتانفرین هیپوکامپی، در گروه‌های استرس دیده

در مطالعه حاضر با اعمال استرس محدود کننده میزان نورمتانفرین هیپوکامپ افزایش معنی‌داری در مقایسه با شرایط بدون استرس در گروه‌های کنترل و سالین داشته است (نمودار ۱). که بیانگر تأثیر استرس در افزایش تولید یا تجزیه نوراپی نفرین می‌باشد (۲۳) که نتیجه مطالعه حاضر با بسیاری از مطالعات انجام شده در ارتباط با تغییر نوراپی نفرین در شرایط استرس هم‌خوانی دارد به‌طوری که مقدار نوراپی نفرین در مطالعات محققین دیگر افزایش یافته بود. به عنوان مثال مشاهده شده که نورون‌های نوراپی نفرین در پاسخ به استرس دهنده‌های مختلف (صدا، استرس محدود کننده، هیپوگلایسمی و شنا) در موش‌های صحرایی و گربه‌ها فعال شده‌اند. مطالعات میکرو دیالیز به‌صورت In vivo، آزاد شدن نوراپی نفرین درون زاد

[7] Sodium Nitroprusside
[8] NG-monomethyl-l-arginine
[9] S-nitroso-N-acetyl penicillamine

[DOI: 10.7508/ismj.1394.06.002]
Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 4:49 +0330 on Wednesday February 21st 2018

را در هیپوکامپ موش‌های صحرایی که در معرض استرس محدود کننده یا استرس وارد کردن شوک متناوب به دم قرار گرفته بودند را نشان داد (۲۴).

مطالعات زیادی نشان داده‌اند که در اثر تحریک الکتریکی لوکوس سرلئوس فعالیت تیروزین هیدروکسیلاز، آنزیم محدود کننده سرعت در سنتز نوراپی نفرین، افزایش می‌یابد و نهایتاً باعث افزایش میزان نوراپی نفرین در قشر مغز و هیپوکامپ می‌شود (۲۵). فعالیت این آنزیم همچنین در پاسخ به استرس‌های شوک پا و صدا، افزایش می‌یابد و این افزایش به وسیله آنتاگونیست CRF[10] (آلفا هلیکال CRF) مهار می‌شود (۲۶) قسمت عمده نورون‌های نورآدرنرژیک در لوکوس سرلئوس قرار دارند که انشعاباتی به تمام قسمت‌های قشر مخ و چندین ساختار از قبیل هیپوکامپ، آمیگدال، تالاموس و هیپوتالاموس می‌فرستند. قرار گرفتن در معرض استرس باعث افزایش آزاد شدن و بازگردش نورآدرنالین در قسمت‌هایی از مغز که انشعابات نورآدرنرژیک دریافت می‌کنند می‌شود (۲۷). استرس محدود کننده مزمن باعث افزایش جبرانی سنتز سروتونین و نورآدرنالین می‌شود و این تغییرات ممکن است برای تطبیق با شرایط استرس ایجاد شده باشد (۲۸). استرس بی‌حرکتی باعث افزایش قابل توجهی در گردش کار نورآدرنالین در آمیگدال، هیپوکامپ، تالاموس و قشر مغز می‌شود (۲۹ و ۳۰). در این مطالعه با تجویز L-NAME، در شرایط استرس مقدار نورمتانفرین نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد کاهش معنی‌داری یافت که در همه مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم L-NAME، این کاهش مشاهده شد (نمودار ۱).

این مطلب می‌رساند که نیتریک اکساید، احتمالاً بر فرآیند آزادسازی یا متابولسیم نوراپی نفرین در شرایط استرس تأثیر بیشتری دارد و L-NAME، با کاهش مقدار نیتریک اکساید، تأثیر استرس در افزایش میزان نورمتانفرین را کاهش داده و تعدیل کرده است. دراینجا دو نتیجه مهم قابل برداشت است اول اینکه استرس می‌تواند همزمان بر میزان فعالیت سیستم نوراپی نفرین و سیستم نیتریک اکساید اثر بگذارد و دوم اینکه فعالیت این دوسیستم نیز می‌تواند متأثر از یکدیگر باشد. از آنجا که مهار تولید نیتریک اکساید توانسته است جلوی افزایش نورمتانفرین را بگیرد، این احتمال به نظر می‌رسد که افزایش نورمتانفرین در اثر استرس از طریق مسیر نیتریک اکساید صورت گرفته باشد.

هرچند به‌طور کامل و دقیق نمی‌توان این نتیجه را به اثر سیستم نیتریک اکساید بر فعالیت سیستم نوراپی نفرین منسوب کرد چرا که نیتریک اکساید ممکن است از طریق تداخل با دیگر سیستم‌های نوروترانسمیتری مثل گلوتامات باعث افزایش نورمتانفرین شده باشد. که بررسی این احتمالات به مطالعه بیشتر نیاز دارد. بنابراین، نیتریک اکساید می‌تواند در فعالیت سیستم نوراپی نفرین هیپوکامپی دخالت داشته باشد که این دخالت در شرایط مختلف (استرس و بدون استرس) متفاوت می‌باشد.

برای قضاوت دقیق‌تر در مورد تأثیر L-NAME در شرایط استرس و بدون استرس بهتر است مقادیر سرمی و ادراری متابولیت‌های نوراپی نفرین نیز در مطالعه مشابه اندازه‌گیری شود. همچنین اندازه‌گیری نورمتانفرین در هسته‌های لوکوس سرولئوس و آمیگدال با توجه به نقش این هسته‌ها در استرس حائز اهمیت بوده و در مطالعات بعدی پیشنهاد می‌گردد.

[10] corticotropin-releasing factor

[DOI: 10.7508/ismj.1394.06.002]

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 4:49 +0330 on Wednesday February 21st 2018

نتیجه‌گیری

از آنجا که مهار تولید نیتریک اکساید در حضور و عدم حضور استرس، پاسخ‌های متفاوتی را ایجاد کرده است احتمالاً این ماده می‌تواند به عنوان یک میانجی کننده اثرات استرس، در تغییر میزان نورمتانفرین نقش دوگانه داشته باشد و احتمالاً L-NAME، اثرات افزایشی استرس بر میزان نورمتانفرین، از مسیر نیتررژیک را ممانعت می‌کند.

سپاس و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز برای تأمین اعتبار مالی تحقیق حاضر تشکر می‌شود.

References:

1.Arzumanian V, Stankevicius E, Laukeviciene A, et al. [Mechanisms of nitric oxide synthesis and action in cells]. Medicina (Kaunas) 2003; 39: 535-541.

2.Calabrese V, Mancuso C, Calvani M, et al. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. Nat Rev Neurosci 2007; 8: 766-775.

3.Guix FX, Uribesalgo I, Coma M, et al. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. Prog Neurobiol 2005; 76: 126-152.

4.Ohkuma S, Katsura M. Nitric oxide and peroxynitrite as factors to stimulate neurotransmitter release in the CNS. Prog Neurobiol 2001; 64: 97-108.

5.Feldman S, Weidenfeld J. Involvement of endogeneousglutamate in the stimulatoryeffect of norepinephrine and serotonin on the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Neuroendocrinology 2004; 79: 43-53.

6.Lonart G, Wang J, Johnson KM. Nitric oxide inducesneurotransmitter release from hippocampal slices. Eur J Pharmacol 1992; 220: 271-272.

7.Gulati K, Ray A, Masood A, et al. Involvement of nitric oxide (NO) in the regulation of stresssusceptibility and adaptation in rats. Indian J Exp Biol 2006; 44: 809-815.

8.Kim JJ, Diamond DM. The stressedhippocampus, synapticplasticity and lostmemories. Nat Rev Neurosci 2002; 3: 453-462.

9.Mora F, Segovia G, Del Arco A, et al.Stress, neurotransmitters, corticosterone and body-brain integration. Brain Res 2012; 1476: 71-85.

10.Tsigos C, Chrousos G. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Neuroendocrine factors and stress 2002; 53: 865-871.

11.Yamaya K, Nigawara K, Suzuki T, et al. [Plasmanormetanephrine and metanephrinelevels and their relationship to norepinephrine and epinephrine]. Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi 1988; 64: 573-581.

12.OKeef J, Nadell L. The Hippocampus as a cognitive map. Oxford university press: 1978: p. 103-140

13.de Oliveira RM, Aparecida Del Bel E, Mamede-Rosa ML, et al. Expression of neuronal nitric oxide synthasemRNA in stress-related brain areas after restraint in rats. Neurosci Lett 2000; 289: 123-126.

14.Kishimoto J, Tsuchiya T, Emson PC, et al. Immobilization-induced stress activates neuronal nitric oxide synthase (nNOS) mRNA and protein in hypothalamic-pituitary-adrenal axis in rats. Brain Res 1996; 720: 159-171.

15.Khattab MM, El-Hadiyah TM, Al-Shabanah OA, et al. Modification by L-NAME of codeine induced analgesia: possible role of nitric oxide. Receptors Channels 2004; 10: 139-145.

16.Pechánová O, Bernátová I, Babál P. Structural alterations in the heart after long-term L-NAME and D-NAME treatment. Gen Physiol Biophys 1999; 18: 6-9.

17.Zhu KY, Fu Q, Leung KW, et al. The establishment of a sensitivemethod in determiningdifferentneurotransmitterssimultan

eously in ratbrains by using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2011; 879: 737-742.

18.Wolthers BG, Kema IP, Volmer M, et al. Evaluation of urinary metanephrine and normetanephrine enzyme immunoassay (ELISA) kits by comparison with isotope dilution mass spectrometry. Clin Chem 1997; 43: 114-120.

19.Seilicovich A, Lasaga M, Befumo M, et al. Nitric oxideinhibits the release of norepinephrine and dopamine from the medial basal hypothalamus of the rat. Proc Natl Acad Sci U S A 1995; 92: 11299-11302.

20.Satoh S, Kimura T, Toda M, et al. NO donors stimulate noradrenalinerelease from rat hippocampus in a calmodulin-dependent manner in the presence of L-cysteine. J Cell Physiol 1996; 169: 87-96.

21.Kiss JP. Role of nitric oxide in the regulation of monoaminergic neurotransmission. Brain Res Bull 2000; 52: 459-466.

22.Stout AK, Woodward JJ. Differentialeffects of nitricoxidegas and nitricoxidedonors on depolarization-inducedrelease of [3H]norepinephrine from rat hippocampal slices. Neuropharmacology 1994; 33: 1367-1374.

23.Ladisich W, Steinhauff N, Matussek N. Chronic administration of electroconvulsive shock and norepinephrine metabolism in the rat brain. Psychopharmacologia 1969; 15: 296-304.

24.Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. Eur J Pharmacol 2003; 463: 235-272.

25.Shinba T, Ozawa N, Yoshii M, et al. Delayed increase of brain noradrenaline after acute footshock stress in rats. Neurochem Res 2010; 35: 412-417.

26.Melia KR, Duman RS. Involvement of corticotropin-releasingfactor in chronic stress regulation of the brain noradrenergic system. Proc Natl Acad Sci U S A 1991; 88: 8382-8386.

27.Bremner JD, Krystal JH, Southwick SM, et al. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies. Synapse 1996; 23: 28-38.

28.Adell A, Garcia-Marquez C, Armario A, et al. Chronic stress increases serotonin and noradrenaline in ratbrain and sensitizes their responses to a further acute stress. J Neurochem 1988; 50: 1678-1681.

29.Ida Y, Tanaka M, Kohno Y, et al. Effects of age and stress on regional noradrenalinemetabolism in the rat brain. Neurobiol Aging 1982; 3: 233-236.

30.Tanaka T, Yokoo H, Mizoguchi K, et al. Noradrenaline release in the ratamygdala is increased by stress: studies with intracerebralmicrodialysis. Brain Res 1991; 544: 174-176.

[DOI: 10.7508/ismj.1394.06.002]
Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 4:49 +0330 on Wednesday February 21st 2018

[DOI: 10.7508/ismj.1394.06.002]
Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 4:49 +0330 on Wednesday February 21st 2018

ISMJ 2016; 18(6): 1124-1131

Orginal Article

Assessment the effect of NO inhibition on hippocampal normetanephrine level in stress and non-stress conditions in adult male rats

H. Molahoveizeh [1], H. Eshagh Harooni [1*], H. Najafzadeh varzi [2], AA. Moazedi [1]

[1] ***Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran***

[2] ***Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran***

(Received 5 May, 2014 Accepted 25 Feb, 2015)

Abstract

Background: Nitric oxide (NO) has a role in the regulation of neurotransmitters release such as norepinephrine, in the hippocampus.Normetanephrine (NMN) is a metabolite of norepinephrine created by action of catechol-O-methyl transferase (COMT) on norepinephrine. Several studies have shown that various stresses increased release of norepinephrine and its metabolites. Therefore in the present study, the role of Nitric oxide in regulation of norepinephrine release and its metabolism was investigated by administration of L-NAME (NO synthase inhibitor) in stressed and non-stressed rats.

Materials and Methods: For this purpose, 50 adult rats were divided into 10 groups, of which 5 groups were exposed to restraint stress while another 5 groups were without stress. These two set of groups included intact, saline and L-NAME (20, 40, 80 mg/kg). Thirty minutes after intraperituneal injection of L-NAME, brains removed, the hippocampus dissected, weighed, homogenized and centrifuged then amount of NMN measured by ELISA kit.

Results: The results showed that in non-stressed condition amount of NMN were significantly increased in group that received L-NAME (80 mg/kg) in comparison with other groups but in stress condition, amount of NMN was significantly decreased in groups that received L-NAME (20,40,80 mg/kg), in comparison with control and saline groups. Comparison between stress and non-stressed groups showed that stress alone cause an increase in amount of NMN in control and saline groups.

Conclusion: In conclusion, NO synthesis inhibition produced opposite responses with respect to NMN amount in the presence or absence of stress, and probably L-NAME preventing the effect of stress on increasing NMN levels mediated by nitrergic pathway.

Key words: Hippocampus, Nitric oxide, Normetanephrine, rat, Stress

[*] *Address for correspondence:* Ahvaz, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, IRAN; E mail: harooni@scu.ac.ir