

اثر تجویز اسکتامین بر بهبود حافظه و یادگیری به دنبال ایسکمی/خون‌رسانی مجدد مغزی در رت‌های نر نژاد ویستار

سیده مهدیه خوش‌نظر^۱، سهیلا عرفانی^{۲*}، رضا سینائی^۳

مقاله پژوهشی

مقدمه: در این مطالعه اثر تجویز اسکتامین (S-ketamine) را به عنوان یک درمان نوروپروتکتیو برای بررسی نکروز و اختلالات حافظه و یادگیری به دنبال مدل ایسکمی/خون‌رسانی مجدد مغزی در موش صحرایی نر بررسی شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: شم، ایسکمی-سالین، ایسکمی-اسکتامین با دوز پایین و ایسکمی-اسکتامین با دوز بالا. در گروه‌های ایسکمی-اسکتامین با دوز پایین و دوز بالا، بلافاصله بعد از القاء ایسکمی، اسکتامین به ترتیب با دوز ۰/۱ و ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن به نمونه‌ها تزریق شد. حافظه و یادگیری در گروه‌های مختلف از طریق آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال بررسی گردید. چهار روز پس از القاء ایسکمی، میزان مرگ سلولی نکروزیس با استفاده از رنگ‌آمیزی کرزیل ویوله اندازه‌گیری شد. تمام داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که در گروه ایسکمی-سالین میزان سلول‌های نکروزیس در گروه مقایسه با گروه شم افزایش معناداری داشت. ($p < 0.05$) درمان با اسکتامین، به طور قابل توجهی مرگ سلولی نکروزیس در ناحیه CA1 هیپوکامپ را کاهش داد. کاهش میزان مرگ سلولی ناشی از ایسکمی در گروه درمان با دوز بالا اسکتامین در مقایسه با گروه درمان با دوز پایین چشم‌گیرتر بود ($p < 0.05$). به علاوه، درمان با اسکتامین به صورت وابسته به دوز، به طور قابل توجهی نقص حافظه و یادگیری مغزی ناشی از ایسکمی را بهبود بخشید.

نتیجه‌گیری: درمان با اسکتامین توانسته است روی پیامدهای ایسکمی مغزی اثر بگذارد و از این‌رو معرفی اسکتامین تراپی به عنوان یک روش درمانی جدید در درمان ایسکمی مغزی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: نکروزیس، اسکتامین، ایسکمی/خون‌رسانی مجدد، هیپوکامپ.

ارجاع: خوش‌نظر سیده مهدیه، عرفانی سهیلا، سینائی رضا. اثر تجویز اسکتامین بر بهبود حافظه و یادگیری به دنبال ایسکمی و خون‌رسانی مجدد مغزی در رت‌های نر نژاد ویستار. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۳؛ ۳۲ (۱): ۶۱-۸۵.

۱- مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳- گروه روماتولوژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۸۳۴۱۸۹۳۲، پست الکترونیکی: s.erfani@ilam.ac.ir، صندوق پستی: ۶۹۳۱۵-۵۱۶

مقدمه

سکته مغزی یک بیماری حاد مغزی است که به اختلال در خون‌رسانی به بافت مغز به دلیل انسداد عروقی یا پارگی ناگهانی رگ‌های خونی مغز نسبت داده می‌شود. این فرآیند منجر به هیپوکسی مغز، کاهش مواد مغذی لازم و مرگ نورون‌ها و در نتیجه آسیب به بافت مغز می‌گردد (۱). در سال‌های اخیر، شیوع سکته‌های مغزی به‌طور مداوم افزایش یافته و این بیماری به دومین علت مرگ و میر در سراسر جهان تبدیل شده است. این وضعیت نه تنها با نرخ بالای مرگ و میر، بلکه با میزان عود بالا و ناتوانی‌های شدید همراه است (۲). با وجود تمام تلاش‌های صورت گرفته، هیچ روش پیشگیری و درمان مؤثری برای آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغزی وجود ندارد. به همین دلیل، توسعه درمان‌های جدید در برابر سکته مغزی ضروری به‌نظر می‌رسد (۱،۳). یکی از اهداف مداخلات درمانی امیدوارکننده، مهار رشد ناحیه آسیب دیده به دنبال سکته مغزی، خون‌ریزی زیر عنکبوتیه و آسیب‌های مغزی تروماتیک است. گسترش امواج دپلاریزاسیون به عنوان یکی از عوامل مهم در رشد ناحیه آسیب دیده شناخته شده است. در مراحل اولیه ایسکمی مغزی، دپلاریزاسیون گسترش‌یابنده (Spreading depression, SD) به عنوان مکانیسم اصلی شکست غشای الکتروشیمیایی و تورم عصبی در ماده خاکستری مغز شناخته می‌شود (۴-۸). این پدیده به عنوان یک عامل کلیدی در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌های عصبی مورد توجه قرار گرفته است.

دپلاریزاسیون گسترش‌یابنده به شکل یک موج دپلاریزاسیون در نورون‌ها و سلول‌های گلیال ماده خاکستری رخ می‌دهد که پس از آن سرکوب فعالیت الکتریکی مشاهده می‌شود. در عرض ۱ تا ۲ دقیقه پس از ایسکمی، ذخایر ATP تخلیه شده و پمپ‌های Na^+/K^+ از کار می‌افتند که منجر به دپلاریزاسیون ناگهانی سلول‌ها می‌شود. این دپلاریزاسیون با سرعت ۱ تا ۹ میلی‌متر در دقیقه در سراسر بافت ایسکمیک و ناحیه اطراف آن منتشر می‌شود. مدت زمان و شکل موج SD نیز در این روند تغییر می‌کند (۹-۱۲). مهار دپلاریزاسیون

گسترش‌یابنده می‌تواند یک پنجره درمانی بالقوه ایجاد کند که می‌تواند بهبود نتایج عصبی را به دنبال داشته باشد. SD‌ها به عنوان مکانیسم اصلی آسیب عصبی ثانویه توصیف شده‌اند و به عنوان نشان‌گر اختلال عملکرد عصبی در ماده خاکستری در نظر گرفته می‌شوند. سمیت تحریکی از طریق یک حلقه بازخوردی مثبت ناشی از SD دنبال می‌شود که در آن فعال‌سازی گیرنده NMDA (The N-methyl-D-aspartate) منجر به جریان‌های خالص کاتیونی درونی (Ca^{2+} و Na^+) می‌شود که باعث اختلالات اسمزی سلولی و متابولیک، اختلال در سیگنال‌دهی پیام‌رسان دوم و Ca^{2+} می‌شود (۱۳). سمیت تحریکی گلوتمات به عنوان یکی از مکانیسم‌های اساسی آسیب‌های عصبی است که در سکته مغزی نقش مهمی در گسترش ضایعه ایفا می‌کند. بنحوی که آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA پتانسیلی برای درمان در بیماری‌های عصبی از جمله صرع، آسیب مغزی ایسکمیک دارند (۱۴). سمیت برانگیختگی یکی از اولین مکانیسم‌های شناسایی شده و شدیدترین مکانیسم مرگ سلولی ایسکمیک است. اصطلاح سمیت تحریکی (Excitotoxicity) فرآیندی را توصیف می‌کند که در آن مقادیر اضافی گلوتمات انتقال دهنده عصبی تحریکی گیرنده‌های NMDA را بیش از حد فعال می‌کند و باعث ایجاد سمیت عصبی می‌شود این به عنوان یکی از مکانیسم‌های بیماری‌زای اصلی زمینه‌ساز آسیب مغزی ایسکمیک در نظر گرفته شده است (۱۵). سمیت تحریکی منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب میتوکندریایی و در نهایت مرگ سلولی نکروزیس و آپوپتوزیس ناحیه آسیب دیده می‌شود. شناخت مسیر مرگ سلولی در ایسکمی مغزی برای مداخله دارویی از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد. نکروزیس به عنوان مهمترین مسیر مرگ سلولی پذیرفته شده است (۱۶،۱۷). کتامین به عنوان یکی از مؤثرترین مواد در مهار SD شناخته شده و اثرات آن در سرکوب SD وابسته به دوز است (۱۸-۲۱). اسکتامین، به عنوان ایزومر S-کتامین، قدرت بیشتری نسبت به کتامین دارد و در مهار گیرنده‌های NMDA مؤثر است (۲۰). تحقیقات اخیر نشان داده است که اسکتامین

اثرات حفاظتی عصبی و ضد دردی دارد (۲۲). این دارو توسط سازمان غذا و داروی آمریکا برای درمان افسردگی مقاوم به درمان تأیید شده است و مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که این دارو می‌تواند دپلاریزاسیون گسترش یابنده را تعدیل کند. گسترش دپلاریزاسیون (SD) پدیده‌ای است که با امواج دپلاریزاسیون عصبی مشخص می‌شود که در سراسر بافت مغز حرکت می‌کند و باعث تغییرات گذرا در گرادیان‌های یونی می‌شود که منجر به سرکوب فعالیت عصبی می‌شود. این پدیده در انواع اختلالات عصبی نقش دارد و از آنجا که وقوع SD با ایسکمی مغزی تاخیری در سکنه‌های مغزی شدید درگیر است، موادی که SD را سرکوب می‌کنند ساخته شده‌اند، و نشان داده شده است که بیشتر آن‌ها ویژگی‌های خاص SD را تعدیل می‌کنند. با این حال، تنها تعداد کمی موفق به سرکوب قابل توجه SD شده‌اند (۲۳). مطالعات اخیر اثرات محافظتی اسکتامین را برجسته می‌کنند، اما مزایای آن به دنبال آسیب ایسکمی مغزی مشخص نشده است. از این رو، اسکتامین به عنوان یک کاندیدای درمانی برای مرگ سلولی نکرولیس و اختلالات حافظه و یادگیری در مدل‌های حیوانی ایسکمیک مغزی مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین، ما در این مطالعه برای اولین بار اثرات درمانی اسکتامین را در مدل ایسکمی مغزی در موش‌های نر بررسی کرده‌ایم.

روش بررسی

حیوانات و گروه‌های آزمایشی: ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری شد. حیوانات در قفس‌های استاندارد، دمای اتاق کنترل شده (۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت ۴۵ تا ۵۰ درصد و در معرض شرایط چرخه روشنایی تا تاریکی نگهداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: شم، ایسکمی-سالین، ایسکمی-اسکتامین با دوز پایین و ایسکمی-اسکتامین با دوز بالا. گروه شم (n=7): در این گروه نمونه‌ها فقط تحت عمل جراحی قرار گرفته ولی شریان‌های کاروتید مشترک آن‌ها بسته نشد. گروه ایسکمی-سالین (n=7): در این گروه، بلافاصله بعد از القاء ایسکمی، سالین در حجم ۱ میلی‌لیتر

به نمونه‌ها تزریق گردید. گروه اسکتامین با دوز پایین (n=7): در این گروه بلافاصله بعد از القاء ایسکمی، اسکتامین (شرکت Biosynth، انگلستان) با دوز ۰/۱ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی به نمونه‌ها تزریق شد. گروه اسکتامین با دوز بالا (n=7): در این گروه، بلافاصله بعد از القاء ایسکمی، اسکتامین با دوز ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به نمونه‌ها تزریق شد (۲۴). پس از القاء ایسکمی و تزریق دارو، آزمون حافظه احترازی غیرفعال در روزهای سوم و چهارم بعد از القاء ایسکمی در کلیه گروه‌ها انجام شد. سپس حیوانات کشته شده و مغز آن‌ها بعد از فیکساسیون جهت ارزیابی مرگ سلولی خارج گردید.

روش القاء ایسکمی-ریپرفیوژن مغزی: ایجاد مدل ایسکمی-ریپرفیوژن براساس روش جراحی بستن موقتی شریان‌های کاروتید مشترک انجام گردید (۲۵). بی‌هوشی حیوانات با تزریق داخل صفاقی سدیم پنتوباریتال (۵۰ mg/kg) انجام شد، سپس تحت عمل جراحی ایسکمی مغزی قرار گرفتند. در ابتدا شریان‌های کاروتید مشترک دو طرفه مشاهده شده و با دقت از بافت‌ها و اعصاب اطراف مانند اعصاب واگ جدا می‌شوند. انسداد شریان‌های کاروتید مشترک توسط گیره‌های جراحی به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. در پایان جراحی، گیره‌ها برای ایجاد ریپرفیوژن (خون‌رسانی مجدد) برداشته شدند. بازگشت جریان خون با مشاهده تأیید گردید. در طول جراحی، دمای رکتوم حیوانات در 36.5 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد با استفاده از سامانه گرمایش بازخوردی تنظیم شد. پس از جراحی، حیوانات در قفس‌های خود با دسترسی آزاد به غذا و آب به مدت ۴ روز جداگانه نگهداری شدند. در ابتدای خون‌رسانی مجدد، اسکتامین با دوزهای ۰/۱ و ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به هر حیوان به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

روش ارزیابی حافظه و یادگیری احترازی غیرفعال: عملکرد آزمون حافظه اجتنابی غیرفعال در روز چهارم پس از ایسکمی مورد بررسی قرار گرفت. دستگاه مورد استفاده برای انجام آزمون حافظه احترازی غیرفعال جعبه شاتل دوطرفه (شرکت برج صنعت، تهران، ایران) بود که شامل یک اتاقک روشن با ابعاد

یکسان ($30 \times 20 \times 20$ سانتی‌متر) ساخته شده از پلاستیک شفاف و از یک اتاقک تاریک ($30 \times 20 \times 20$ سانتی‌متر) که دیوارها و سقف آن از پلاستیک مات تیره ساخته شده است. یک دهانه مستطیل شکل (8×8 سانتی‌متر) بین دو اتاقک قرار دارد و می‌تواند توسط یک درب گیوتینی مات بسته شود. کف مشبک هر دو اتاقک از جنس میله‌های فولادی ضد زنگ (قطر ۲ میلی‌متر)، با فاصله ۱ سانتی‌متر از هم بود. کف اتاقک تاریک می‌تواند الکتریکی شود. دستگاه در یک اتاق عایق صوتی، تحت شرایط استاندارد نگهداری می‌شود. این آزمایش شامل سه مرحله سازگاری (روز سوم بعد از ایسکمی)، آموزش (یک ساعت بعد از مرحله سازگاری و در روز سوم بعد از ایسکمی) و به یادآوری حافظه (۲۴ ساعت بعد از مرحله آموزش و در روز چهارم بعد از ایسکمی) بود. در مرحله سازگاری در روز سوم بعد از ایسکمی، حیوانات تمام گروه‌ها در داخل اتاقک روشن قرار گرفتند و اجازه ورود به اتاقک تاریک را داشتند. پس از ۱ ساعت سازگاری، حیوان در داخل اتاقک روشن برای مرحله آموزش قرار داده شدند. بعد از این که حیوان وارد محفظه تاریک می‌شد، در بسته می‌شد و شوک الکتریکی (0.5 میلی‌آمپر، به مدت ۳ ثانیه) از کف میله فولادی اعمال گردید. ۲۴ ساعت بعد از مرحله آموزش و اعمال شوک، مرحله به یادآوری حافظه انجام شد. حیوانات دوباره در محفظه روشن قرار گرفتند. ۱۰ ثانیه بعد درب گیوتینی باز شد و «زمان تأخیر در ورود به اتاقک» تاریک به عنوان Step-Latency Time (STL) یادداشت گردید. حداکثر زمان برای تأخیر در ورود به جعبه تاریک تا ۱۸۰ ثانیه ثبت گردید. بعد از آنکه حیوان به قسمت تاریک رفت مدت زمان سپری شده در جعبه تاریک یادداشت گردید که به عنوان زمان سپری شده در اتاقک تاریک (Total time in Dark chamber) در نظر گرفته می‌شد. در طول این مرحله هیچ شوکی به حیوانات وارد نشد (۲۶).

آماده‌سازی بافت برای رنگ‌آمیزی: چهار روز پس از ایسکمی زیرا واضح است که فاز خون‌رسانی مجدد در ایسکمی بسیار پویا است و مرگ سلولی می‌تواند تا ۴ روز پس از شروع خون‌رسانی مجدد ادامه یابد (۲۷)، پس از اینکه حیوانات که تحت بی‌هوشی

بسیار عمیق قرار گرفتند، فرآیند پرفیوژن از طریق قلب، با محلول نمکی 0.9% و به دنبال آن پارافرمالدئید 4% در بافر فسفات 0.1 میلی‌متر ($pH=7.4$) انجام شد. پس از آن، بافت‌های مغز آنها خارج شد و در فیکساتیو مشابه به مدت ۳ روز قرار گرفت. سپس از مغزها بلوک‌های پارافینی تهیه شد و با استفاده از دستگاه میکروتوم مقاطع کروئال با ضخامت 7 میکرومتر برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی و ایمونوفلورسانس گرفته شد. مقاطع براساس اطلس پاکسینوس در محدوده بین $3/3$ و $4/2$ میلی‌متر پشت برگما تهیه شد (۲۵).

رنگ‌آمیزی نیسل: این رنگ‌آمیزی معمولاً برای شناسایی مرگ سلولی نکروزه با توجه به تغییرات مورفولوژیکی در مغز استفاده می‌شود. برای رنگ‌آمیزی نیسل، مونته کردن مقاطع کروئال (سه قسمت در هر حیوان) روی اسلایدهای ژلاتینه شده بلافاصله انجام شد. این اسلایدها با 0.1% کرزیل ویوله (سیگما آلد ریچ)، رنگ‌آمیزی شدند. با اتانول آب گیری شده و با انتلان پوشش‌دهی شدند. با استفاده از میکروسکوپ نوری از هر نمونه سه عکس میکروگراف تهیه شد. تجزیه و تحلیل تصاویر با استفاده از نرم‌افزار Image tool-2 software انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار تعداد سلول‌های نکروزه در امتداد ناحیه CA1 هیپوکامپ راست شمارش شد (۲۸).

تجزیه و تحلیل آماری

از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف به عنوان آزمون نرمال بودن استفاده شد، که این آزمون نشان داد، داده‌ها به طور نرمال توزیع شده‌اند. علاوه بر این، آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) برای مقایسه اختلافات بین گروه‌ها استفاده شد و هنگامی که تفاوت معنی‌داری وجود داشت، آزمون تعقیبی (شفه) برای تعیین محل اینکه تفاوت در کدام گروه‌ها رخ داده است، استفاده شد. سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ تعیین شد. تمام داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

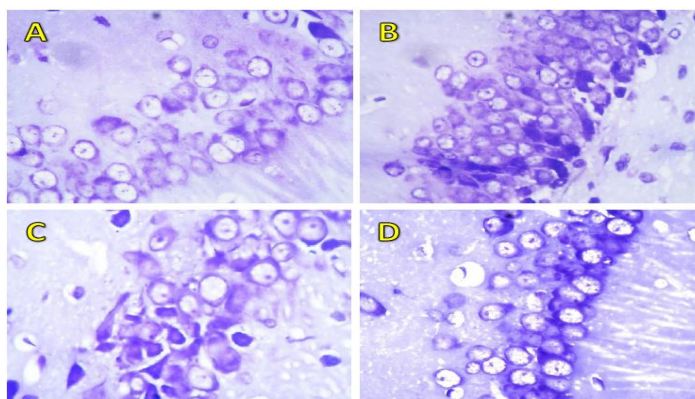
اثرات تزریق اسکتامین بر مرگ سلولی نکرولیز ناشی از ایسکمی - ریپرفیوژن: نتایج رنگ‌آمیزی نیسل نشان داد که

ایسکمی مغزی موجب افزایش مرگ سلولی نکروزیس در گروه ایسکمی ($17/42 \pm 6/122$) در مقایسه با گروه شم ($1/03 \pm 1/016$) شد ($p < 0/05$). در گروه درمان با اسکتامین با دوز پایین ($0/1$ میلی گرم) میزان مرگ سلولی ناشی از ایسکمی ($11/44 \pm 5/018$) در مقایسه با گروه ایسکمی کاهش قابل توجهی داشت ($p < 0/05$). در گروه درمان با اسکتامین با دوز بالا ($0/25$ میلی گرم) کاهش میزان مرگ سلولی ناشی از ایسکمی ($8/32 \pm 4/241$) در مقایسه با گروه درمان با اسکتامین با دوز پایین چشم گیرتر بود ($p < 0/05$)، (شکل ۱ و ۲). این نتایج نشان می دهد که درمان با اسکتامین به صورت وابسته به دوز، میزان مرگ سلولی نکروزیس ناشی از ایسکمی - رپرفیوژن مغزی را کاهش می دهد.

اثرات تزریق اسکتامین بر یادگیری و حافظه احترازی

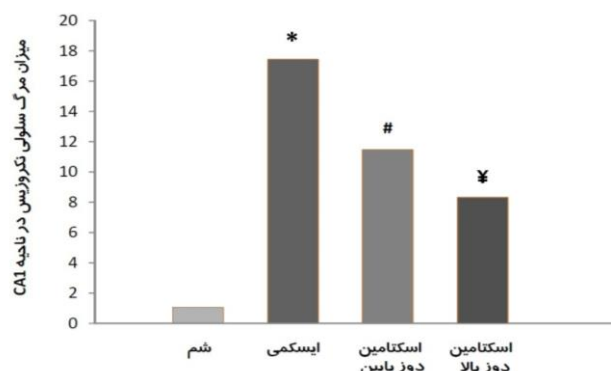
غیرفعال: تجزیه و تحلیل داده های آزمون حافظه اجتنابی غیرفعال نشان داد که تأخیر در ورود از اتاقک روشن به اتاقک تاریک در طول جلسه آموزش در همه گروه ها، به طور متوسط کمتر از ۲۵ ثانیه طول کشید (داده ها به علت توزیع نرمال نشان داده نشده است). در مرحله به یادآوری حافظه، در شاخص تأخیر در ورود به اتاقک تاریک از نظر آماری تفاوت معنی داری بین گروه ها وجود داشت. گروه شم پس از مرحله آموزش شوک الکتریکی، افزایش در زمان تأخیر را نشان داد

($127/41 \pm 129/46$)، که این نشان می دهد حیوانات این گروه حافظه ای از تحریک آزاردهنده مرتبط با اتاقک تاریک به دست آورده اند. در گروه ایسکمی، کاهش قابل توجهی در مدت زمان تأخیر ورود به اتاقک ($33/38 \pm 11/891$) نسبت به گروه شم مشاهده شد ($p < 0/05$). مدت زمان تأخیر در ورود به اتاقک تاریک در گروه درمان با اسکتامین (دوز $0/1$ میلی گرم) نسبت به گروه ایسکمی به طور قابل توجهی افزایش یافت ($89/93 \pm 32/404$)، ($p < 0/05$). افزایش تأخیر در ورود به اتاقک تاریک در گروه درمان با اسکتامین (دوز $0/25$ میلی گرم) در مقایسه با گروه ایسکمی و گروه درمان با اسکتامین (دوز $0/1$ میلی گرم) بیشتر بود ($99/85 \pm 34/107$)، ($p < 0/05$)، (شکل ۳). به علاوه، تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد که مدت زمان سپری شده در اتاقک تاریک (Total time in Dark chamber) در گروه ایسکمی ($59/75 \pm 17/52$) در مقایسه با گروه شم ($10/54 \pm 4/625$) افزایش قابل توجهی یافت ($p < 0/05$). این پاسخ در گروه درمان با اسکتامین ایسکمی به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0/05$). مدت زمان سپری شده در اتاقک تاریک در گروه درمان با اسکتامین (دوز $0/25$ میلی گرم) ($18/6 \pm 8/021$) در مقایسه با گروه ایسکمی و گروه درمان با اسکتامین (دوز $0/1$ میلی گرم) کاهش چشم گیری داشت ($p < 0/05$)، (شکل ۴).



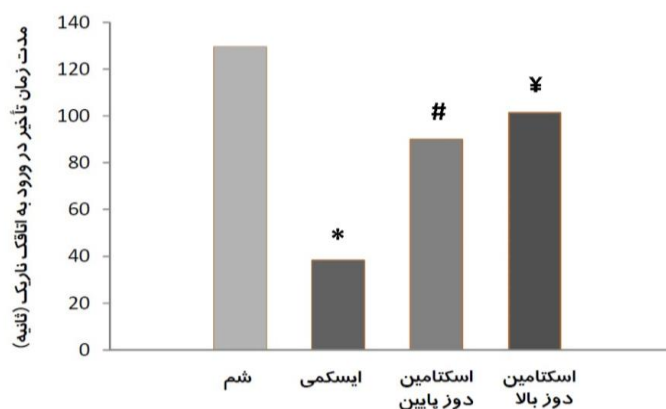
شکل ۱: فتومیکروگراف های رنگ آمیزی نیسل در ناحیه CA1 هیپوکامپ بعد از ایسکمی مغزی.

فقط سلول های از هم گسیخته شده که هسته و هستک آشکار نداشتند به عنوان آسیب دیده و نکروزیس مثبت در نظر گرفته شد و شمارش شدند. گروه شم، (B) گروه ایسکمی، (C) گروه اسکتامین (دوز $0/1$ میلی گرم) + ایسکمی و (D) گروه اسکتامین (دوز $0/25$ میلی گرم) + ایسکمی



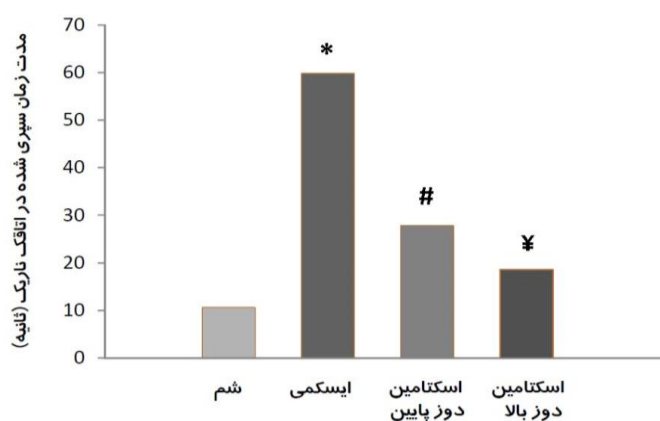
شکل ۲: میزان مرگ سلولی نوروژنس در ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم ($p < 0.05$) # تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه ایسکمی ($p < 0.05$) % تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه اسکتامین دوز پایین ($p < 0.05$)



شکل ۳: آزمون یادگیری احترازی غیرفعال (مرحله به یادآوری) در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم ($p < 0.05$) # تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه ایسکمی ($p < 0.05$) % تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه اسکتامین دوز پایین ($p < 0.05$)



شکل ۴: آزمون یادگیری احترازی غیرفعال (مرحله ماندن در منطقه تاریک) در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شم ($p < 0.05$) # تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه ایسکمی ($p < 0.05$) % تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه اسکتامین دوز پایین ($p < 0.05$)

بحث

در مطالعه حاضر، شواهد قابل توجهی در مورد اسکتامین، به عنوان یک عامل محافظت نورونی در درمان آسیب ناشی از ایسکمی مغزی ارائه شده است. نتایج به دست آمده نشان می دهد که تزریق اسکتامین به صورت وابسته به دوز، به طور قابل توجهی میزان مرگ سلولی نکرورس ناشی از ایسکمی مغزی را در ناحیه CA1 هیپوکامپ کاهش می دهد. پس از سکتۀ مغزی ایسکمیک، مکانیسم های مضر مختلفی به آسیب بافت کمک می کنند، از جمله پاسخ التهابی، اختلال عملکرد بیوشیمیایی، افزایش کلسیم داخل سلولی، سمیت تحریکی ناشی از گلوتامات که منجر به مرگ سلولی با آسیب بیشتر به بافت عصبی و ارتقاء تغییرات عصبی از جمله اختلال شناختی می شوند (۲۹). از آنجا که، مطالعات بیشتر بر روی مکانیسم های سکتۀ مغزی ایسکمیک و یافتن روش های درمانی جدید علیه این بیماری بسیار ضروری است، در سال های اخیر، تلاش هایی برای درک پاتوفیزیولوژی سکتۀ مغزی ایسکمیک، از جمله سمیت تحریکی، استرس اکسیداتیو، فرآیندهای مرگ سلولی انجام شده است. در این میان، تعداد زیادی از مسیرهای سیگنالینگ، اعم از مضر یا محافظت کننده عصبی، نیز به شدت در پاتوفیزیولوژی ذکر شده دخیل هستند. این مسیرها از نزدیک در هم تنیده شده اند و یک شبکه سیگنالینگ پیچیده را تشکیل می دهند. همچنین، این مسیرهای سیگنالینگ پتانسیل درمانی را نشان می دهند، زیرا هدف قرار دادن این مسیرهای سیگنالینگ احتمالاً می تواند به عنوان رویکردهای درمانی در برابر سکتۀ مغزی ایسکمیک عمل کند (۳۰). SD ابتدا در عرض چند دقیقه پس از شروع انسداد عروق رخ می دهد. وقوع SD و شکست خون رسانی مجدد با ضعف عملکرد عصبی و نکرورس عصبی پس از ایسکمی همراه است. تصور می شود ارتباط پاتوفیزیولوژیک SD در تشکیل ادم سیتوتوکسیک، تجمع گلوتامات و ایجاد یک بار اسیدی عظیم است که آبشارهای مرگ سلولی درون سلولی را آغاز می کند. در قشر حاد آسیب دیده انسان، الگوهای SD خاص با بلوغ ضایعه و ایجاد انفارکتوس های تاخیری مرتبط است (۳۱). اصطلاح

دپلاریزاسیون گسترش موجی را در ماده خاکستری سیستم عصبی مرکزی توصیف می کند که با تورم نورون ها، تحلیل خارهای دندریتی، تغییر زیاد پتانسیل الکتریکی مشخص می شود که به طور تجربی توسط شرایط مضر مختلفی از جمله مواد شیمیایی مانند پتاسیم، گلوتامات، مهارکننده های پمپ سدیم، وضعیت صرع، هیپوکسی، هیپوگلیسمی و ایسکمی القا می شود، اما می تواند به بافت های سالم و ساده نیز حمله کند. عروق مقاومتی با تغییرات تون به آن پاسخ می دهند و باعث هیپرپرفیوژن گذرا (پاسخ همودینامیک فیزیولوژیکی) در بافت سالم یا هیپوپرفیوژن شدید (پاسخ همودینامیک معکوس یا ایسکمی گسترش دهنده) در بافتی می شوند که در معرض آسیب پیش رونده است که به پیشرفت ضایعه کمک می کند. درمان هایی که دپلاریزاسیون گسترده یا پاسخ همودینامیک معکوس را هدف قرار می دهند ممکن است به طور بالقوه این شرایط عصبی را درمان کنند (۳۲). هیپوکامپ نقش مهمی در شکل گیری حافظه دارد. اختلال حافظه شایع ترین مشکل شناختی پس از سکتۀ مغزی است. درمان پیشنهادی برای اختلالات حافظه، توانبخشی شناختی است که اغلب بی اثر است (۳۳). تغییرات سلولی در بافت عصبی شامل فعال شدن میکروگلیا و آستروسیت ها می شود که باعث تولید واسطه های التهابی حتی در مراحل مزمن پس از سکتۀ می شود، به ویژه در مناطقی مانند قشر حرکتی و هیپوکامپ (۳۴). این رویدادها منجر به اختلال عملکرد نورون ها و در نتیجه نقص های عصبی و اختلال در حافظه و یادگیری می شود (۳۴، ۳۵). پیامدهای بالینی سکتۀ مغزی به ناحیه آسیب دیده مغز، شدت انفارکتوس و سرعت مداخله پزشکی بستگی دارد (۳۶). شایع ترین عواقب، تغییرات حرکتی و اختلالات شناختی، عمدتاً در حافظه، توجه و عملکرد اجرایی، از جمله تصمیم گیری، حافظه کاری و انعطاف پذیری شناختی است (۳۷). موج SD یک جهش ناگهانی و فعال در پتانسیل غشای عصبی را در عرض چند ثانیه هدایت می کند، برخلاف بسیاری از بافت های دیگر بدن که در طول چند دقیقه در یک بحران انرژی به آرامی دپلاریزه می شوند. با این حال، SD فقط در بافت ایسکمیک ایجاد

نمی‌شود، بلکه می‌تواند توسط اختلالات مختلف الکتریکی، شیمیایی، حرارتی یا مکانیکی ماده خاکستری ایجاد شود. بنابراین، SD با طیف وسیعی از بیماری‌ها و شرایط، از جمله، ضربه مغزی، آسیب تروماتیک مغزی (TBI)، خونریزی زیر عنکبوتیه، خونریزی داخل مغزی، سکته مغزی ایسکمیک، ایست گردش خون و مرگ مغزی مرتبط است (۳۸). با استفاده از میکروالکترودهای حساس به گلوتمات، مشخص شده که SD باعث افزایش گلوتمات خارج سلولی می‌شود که با شروع، تداوم و وضوح تغییر جریان مستقیم خارج سلولی SD همزمان است. مدت زمان SDs و افزایش گلوتمات به‌طور معنی‌داری در حیوانات طبیعی و ایسکمیک ارتباط داشت. یافته‌ها نشان می‌دهند که SDهای طولانی‌مدت پاتولوژیک مکانیسم مورد نیاز برای ایجاد ضایعات حاد قشر مغز هستند و افزایش گلوتمات و تغییرات الکتروشیمیایی SD، جنبه‌های مختلف یک فرآیند پاتوفیزیولوژیک یکسان هستند (۱۸). مطالعات ما برای اولین بار نشان دادند که درمان با اسکتامین، به‌طور قابل‌توجهی اختلالات حافظه اجتنابی غیرفعال را که به دنبال ایسکمی مغزی افزایش می‌یابند، بهبود می‌بخشد. این اثرات اسکتامین می‌تواند به‌واسطه مهار فرآیند گسترش دپلاریزاسیون و سیگنالینگ وابسته به آن مانند سمیت تحریکی ناشی از تجمع گلوتمات رخ دهد. گلوتمات، انتقال دهنده عصبی است که در مکانیسم‌های پاتولوژیک مرتبط با سمیت تحریکی در ایسکمی نقش اساسی دارد. تجمع گلوتمات خارج سلولی به دنبال ایسکمی مغزی منجر به فعال شدن بیش از حد گیرنده‌های گلوتمات می‌شود و در نتیجه منجر به هجوم بیش از حد یون‌ها به داخل سلول می‌شود. به‌طور ویژه، اضافه بار حاصل از یون‌های کلسیم نوروتوکسیک است و منجر به فعال شدن آنزیم‌هایی می‌شود که پروتئین‌ها، غشاها و اسید نوکلئیک را تخریب می‌کنند و آسیب عصبی برانگیخته می‌شود (۳۹). از این‌رو، هدف قرار دادن مهار مسیرهای مولکولی مربوط به سیگنال‌دهی سمیت تحریکی گلوتمات، می‌تواند عوارض جانبی فرآیند را کاهش دهد. تصور براین است که سمیت تحریکی با مکانیسم‌های متعدد در مرگ سلول‌های عصبی در سکته مغزی

نقش دارد، سمیت تحریکی به مکانیسم‌های مرتبط با آپوپتوز (با انتشار سیگنال‌های آپوپتوز از میتوکندری و تحریک فعال شدن آبشار وابسته به کاسپاز)، AIF، کالپین I، انکوز، اتوفاژی، لیزوزومی نفوذپذیری غشاء، انتقال نفوذپذیری میتوکندری، تولید ROS و RNS، فعال‌سازی PARP، فروپتوز (به دلیل اضافه بار آهن و پراکسیداسیون لیپیدی) و فاگوتوز، ادم و التهاب نسبت داده شده است. اگرچه گلوتمات انتقال دهنده عصبی تحریکی اصلی در سیستم عصبی مرکزی (CNS) است. فعال شدن گیرنده‌های گلوتمات باعث مرگ نورون‌ها پس از سکته می‌شود. تحت شرایط فیزیولوژیک، گلوتمات به‌صورت درون سلولی ذخیره می‌شود، اما در شرایط پاتولوژیک مانند ایسکمی مغزی، سطح گلوتمات خارج سلولی به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته و مکانیسم سمیت تحریکی را از طریق هجوم کلسیم به نورون‌ها افزایش می‌دهد (۳۹،۴۰).

کتامین یک مخلوط راسمیک تشکیل شده از دو انانتیومر (R)-کتامین و (S)-کتامین است و به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده NMDA عمل می‌کند. اسکتامین، انانتیومر S (-) اسکتامین، تمایل اتصال بیشتری به نسبت به انانتیومر R (-) با گیرنده NMDA دارد. میل ترکیبی اسکتامین گیرنده NMDA به سه تا چهار برابر نسبت به آرکتامین بیشتر است (۲۰). علاوه بر این، در مقایسه با کتامین راسمیک و آرکتامین، اعتقاد بر این است که اسکتامین، عوارض جانبی کمتری دارد (۲۲). مطالعات بالینی در یک مخلوط جمعیتی از بیماران مبتلا به آسیب مغزی تروماتیک (TBI)، بیماران باخونریزی زیر عنکبوتیه (SAH) و بیماران با سکته مغزی بدخیم نیمکره مشخص کرده‌اند که آنتاگونیست NMDA-R-کتامین مرتبط با کاهش وقوع SD همراه است (۴۱،۴۲). کتامین یک بی‌حس‌کننده تجزیه‌کننده است که باعث بی‌دردی وابسته به دوز و بی‌هوشی در بیماران می‌شود. بی‌دردی قابل مشاهده در دوزهای بین ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم حاصل می‌شود. در حالی که بی‌هوشی به دوزهای بیش از ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیاز دارد. انانتیومر فعال S (+) کتامین اسکتامین دو برابر قوی‌تر از فرم راسمیک و چهار برابر قوی‌تر از انانتیومر R(-) است. برخلاف ایالات متحده

مغزی ایسکمیک است. این اثرات نوروپروتکتیو اسکتامین می تواند از مهار فرایند گسترش دپلاریزاسیون و به دنبال آن کاهش وقوع سیگنالینگ های منجر به مرگ سلولی ناشی شده باشد. این یک پنجره درمانی جدید با اسکتامین در مورد ایسکمی مغزی پیشنهاد می دهد، با این حال، آزمایشات بیشتر برای روشن شدن این موضوع لازم است.

سپاس گذاری

این مطالعه ماحصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمان با کد ۴۰۱۰۰۲۷۸ است. از تمامی افرادی که در این مطالعه همکاری داشته اند تشکر و قدردانی می گردد.

حامی مالی: این پژوهش توسط دانشگاه علوم پزشکی کرمان مورد حمایت قرار گرفت.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این مطالعه، توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان مورد تأیید قرار گرفته است (کد اخلاق IR.KMU.AEC.1401.013).

مشارکت نویسندگان

سهیلا عرفانی در ارائه ایده، سهیلا عرفانی و سیده مهدیه خوش نظر در طراحی مطالعه، سهیلا عرفانی، رضا سینائی در جمع آوری داده ها، سهیلا عرفانی و سیده مهدیه خوش نظر در تجزیه و تحلیل داده ها مشارکت داشته و همه نویسندگان در تدوین، ویرایش اولیه و نهایی مقاله و پاسخگویی به سؤالات مرتبط با مقاله سهیم هستند.

آمریکا، که در آن اسکتامین مجوز ندارد و مخلوط راسمیک استفاده می شود، اسکتامین در آلمان دارای مجوز است و اغلب دوز بالای توصیه شده از نظر درمانی اسکتامین برای آرام بخش ۲ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در ساعت، استفاده می شود (۲۸-۳۰). نتایج مطالعات اخیر نشان داد که بیماران دارای خونریزی زیر عنکبوتیه (SAH) که اسکتامین دریافت می کنند، کاهش قابل توجهی در بروز SD در زمانی که اسکتامین دریافت می کنند، دیده شده است (۴۳). همسو با این مطالعات، پژوهش حاضر، کاهش آسیب بافتی ناشی از ایسکمی در نورون ها ناحیه CA1 هیپوکامپ موش های صحرایی نر که به طور ویژه حساس هستند و در پاسخ به ایسکمی دچار دژنراسیون انتخابی و تأخیری می شوند را به واسطه اثرات درمانی اسکتامین نشان داد.

نتیجه گیری

ایسکمی مغزی و مرگ سلولی مهمترین فرآیند در نورون های CA1 است که در معرض ایسکمی گذرای مغزی قرار دارند (۴۴،۴۵). همان طور که قبلاً ذکر شد، نورون های هرمی به شدت در یادگیری و حافظه نقش دارند و انحطاط این نورون ها منجر به کمبود یادگیری و حافظه می شود (۴۶). نتایج این مطالعه نشان می دهد که بهبود حافظه احترازی عمده می تواند به دلیل این باشد که اثرات محافظت کننده عصبی اسکتامین با جلوگیری از مرگ سلولی نکرولیس رخ می دهد. گسترش دپلاریزاسیون باعث ایجاد یک چالش متابولیک عظیم برای بافت مغز می شود. این پدیده در پاتوفیزیولوژی پیشرفت ثانویه آسیب های حاد مغزی نقش اساسی دارد و نشان دهنده یک علت قابل درمان ناتوانی و مرگ و میر به دنبال سکت

References:

- 1- Khoshnazar M, Parvardeh S, Bigdeli MR. *Alpha-Pinene Exerts Neuroprotective Effects Via Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Mechanisms in a Rat Model of Focal Cerebral Ischemia-Reperfusion*. J Stroke Cerebrovasc Dis 2020; 29(8): 104977
- 2- Zhang J, Chen Z, Chen Q. *Advanced Nano-Drug Delivery Systems in the Treatment of Ischemic Stroke*. Molecules 2024; 29(8): 1848.
- 3- Khoshnazar M, Bigdeli MR, Parvardeh S, Pouriran R. *Attenuating Effect of α -Pinene on Neurobehavioural Deficit, Oxidative Damage and Inflammatory Response Following Focal Ischaemic Stroke in Rat*. J Pharm Pharmacol 2019; 71(11): 1725-33.
- 4- Aitken PG, Borgdorff AJ, Juta AJ, Kiehart DP, Somjen GG, Wadman WJ. *Volume Changes Induced by Osmotic Stress in Freshly Isolated Rat Hippocampal Neurons*. Pflugers Arch 1998; 436(6): 991-8.
- 5- Bogdanov VB, Middleton NA, Theriot JJ, Parker PD, Abdullah OM, Ju YS, et al. *Susceptibility of Primary Sensory Cortex to Spreading Depolarizations*. J Neurosci 2016; 36(17): 4733-43.
- 6- Dreier JP, Reiffurth C. *The Stroke-Migraine Depolarization Continuum*. Neuron 2015; 86(4): 902-22.
- 7- Strong AJ, Anderson PJ, Watts HR, Virley DJ, Lloyd A, Irving EA, et al. *Peri-Infarct Depolarizations Lead to Loss of Perfusion in Ischaemic Gyrencephalic Cerebral Cortex*. Brain 2007; 130(Pt 4): 995-1008.
- 8- Woitzik J, Hecht N, Pinczolits A, Sandow N, Major S, Winkler MKL, et al. *Propagation of Cortical Spreading Depolarization in the Human Cortex after Malignant Stroke*. Neurology 2013; 80(12): 1095-102.
- 9- Dreier JP. *The Role of Spreading Depression, Spreading Depolarization and Spreading Ischemia in Neurological Disease*. Nat Med 2011; 17(4): 439-47.
- 10- Charriaut-Marlangue C, Margail I, Represa A, Popovici T, Plotkine M, Ben-Ari Y. *Apoptosis and necrosis after reversible focal ischemia: An in-situ DNA fragmentation analysis*. J Cereb Blood Flow Metab 1996; 16(2): 186-94.
- 11- Nedergaard M, Hansen AJ. *Spreading Depression Is Not Associated with Neuronal Injury in the Normal Brain*. Brain Res 1988; 449(1-2): 395-8.
- 12- Hartings JA, Rolli ML, Lu X-CM, Tortella FC. *Delayed Secondary Phase of Peri-Infarct Depolarizations After Focal Cerebral Ischemia: Relation to Infarct Growth and Neuroprotection*. J Neurosci 2003; 23(37): 11602-10.
- 13- Mehra A, Gomez F, Bischof H, Diedrich D, Laudanski K. *Cortical Spreading Depolarization and Delayed Cerebral Ischemia; Rethinking Secondary Neurological Injury in Subarachnoid Hemorrhage*. Int J Mol Sci 2023; 24(12): 9883.
- 14- Shafique H, Demers JC, Biesiada J, Golani LK, Cerne R, Smith JL, et al. *(R)- (-)-Ketamine: The Promise of a Novel Treatment for Psychiatric and Neurological Disorders*. Int J Mol Sci 2024; 25(12): 6804.
- 15- Wu QJ, Tymianski M. *Targeting NMDA Receptors in Stroke: New Hope in Neuroprotection*. Mol Brain 2018; 11: 15.
- 16- Genhao Fan, Menglin Liu, Jia Liu and Yuhong Huang. *The Initiator of Neuroexcitotoxicity and Ferroptosis in Ischemic Stroke: Glutamate Accumulation*. Front Mol Neurosci 2023; 16: 1113081.
- 17- Britton M, Rafols J, Alousi S, Dunbar JC. *The Effects of Middle Cerebral Artery Occlusion on Central Nervous System Apoptotic Events in Normal*

and Diabetic Rats. Experimental Diabetes Research 2003; 4(1): 13-20.

18-Hinzman JM, DiNapoli VA, Mahoney EJ, Gerhardt GA, Hartings JA. **Spreading Depolarizations Mediate Excitotoxicity in the Development of Acute Cortical Lesions.** Exp Neurol 2015; 267: 243-53.

19-Klass A, Sánchez-Porras R, Santos E. **Systematic Review of the Pharmacological Agents that Have Been Tested Against Spreading Depolarizations.** J Cereb Blood Flow Metab 2018; 38(7): 1149-79.

20-Gastaldon C, Papola D, Ostuzzi G, Barbui C. **Esketamine for Treatment Resistant Depression: A Trick of Smoke and Mirrors?** Epidemiol Psychiatr Sci 2019; 29: e79.

21-Carlson AP, Abbas M, Alunday RL, Qeadan F, Shuttleworth CW. **Spreading Depolarization in Acute Brain Injury Inhibited by Ketamine: A Prospective, Randomized, Multiple Crossover Trial.** J Neurosurg 2018; 130(5): 1513-9.

22-Yanbin Tang, Yufang Liu, Huanzhu Zhou, Haibo Lu , Yafei Zhang, Jun Hua, et al. **Esketamine Is Neuroprotective Against Traumatic Brain Injury Through Its Modulation of Autophagy and Oxidative Stress Via AMPK/Mtor-Dependent TFEB Nuclear Translocation.** Experimental Neurology 2023; 366: 114436.

23-Yuya Hirayama, Hiroyuki Kida, Takao Inoue, Kaz utaka Sugimoto, Fumiaki Oka, Satoshi Shirao, et al. **Focal Brain Cooling Suppresses Spreading Depolarization and Reduces Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression in Rats.** IBRO Neurosci Rep 2024; 16: 609-21.

24-Hoffmann T, Bennett S, Koh CL, McKenna KT. **Occupational Therapy for Cognitive Impairment in**

Stroke Patients. Cochrane Database Syst Rev 2010; 2010(9): CD006430.

25-Erfani S, Moghimi A, Aboutaleb N, Khaksari M. **Protective Effects of Nesfatin-1 Peptide on Cerebral Ischemia Reperfusion Injury Via Inhibition of Neuronal Cell Death and Enhancement of Antioxidant Defenses.** Metab Brain Dis 2019; 34(1): 79-85.

26-Erfani S, Khaksar M, Oryan SH, Shamsaei N, Aboutaleb N, Nikbakht F. **Nampt/PBEF/Visfatin Exerts Neuroprotective Effects Against Ischemia/Reperfusion Injury via Modulation of Bax/Bcl-2 Ratio and Prevention of Caspase-3 Activation.** J Mol Neurosci 2015; 56: 237-43.

27-Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. **Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury.** Int Rev Cell Mol Biol 2012; 298: 229-317.

28-Erfani S, Khaksari M, Oryan S, Shamsaei N, Aboutaleb N, Nikbakht F, et al. **Visfatin Reduces Hippocampal CA1 Cells Death and Improves Learning and Memory Deficits after Transient Global Ischemia/Reperfusion** Neuropeptides 2015; 49: 63-8.

29-Shabani M, Erfani S, Abdolmaleki A, Afzali FE, Khoshnazar SM. **Alpha-Pinene Modulates Inflammatory Response and Protects Against Brain Ischemia Via Inducible Nitric Oxide Synthase-Nuclear Factor- κ B-Cyclooxygenase-2 Pathway.** Molecular Biology Reports 2023; 50(8): 6505-16.

30- Qin C, Yang S, Chu YH, Zhang H, Pang XW, Chen L, et al. **Signaling Pathways Involved in Ischemic Stroke: Molecular Mechanisms and Therapeutic Interventions.** Signal Transduct Target Ther 2022; 7(1): 215.

31- Törteli A, Tóth R, Berger S, Samardzic S, Bari F, Menyhárt Á, et al. **Spreading Depolarization Causes**

- Reperfusion Failure after Cerebral Ischemia.** J Cereb Blood Flow Metab 2023; 43(5): 655-64.
- 32- Jens Dreier. **The Role of Spreading Depression, Spreading Depolarization and Spreading Ischemia in Neurological Disease.** Nat Med 17(4): 439-47
- 33- Sarkala HB, Jahanshahi M, Dolatabadi LK, Namavar MR. **G-CSF Improved the Memory and Dendritic Morphology Impairments in the Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons after Brain Ischemia in the Male Rats.** Metab Brain Dis 2023; 38(8): 2573-81.
- 34- Radenovic L, Nenadic M, Ułamek-Kozioł M, Januszewski S, Czuczwar SJ, Andjus PR, et al. **Heterogeneity in Brain Distribution of Activated Microglia and Astrocytes in a Rat Ischemic Model of Alzheimer's Disease after 2 Years of Survival.** Aging 2020; 12(12): 12251-67.
- 35- Zhang Q, Jia M, Wang Y, Wang Q, Wu J. **Cell Death Mechanisms in Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury.** Neurochem Res 2022; 47(12): 3525-42.
- 36- Zhao L, Biesbroek JM, Shi L, Liu W, Kuijf HJ, Chu WW, et al. **Strategic Infarct Location for Post-Stroke Cognitive Impairment: A Multivariate Lesion-Symptom Mapping Study.** J Cereb Blood Flow Metab 2018; 38(8): 1299-311.
- 37- Lugtmeijer S, Lammers NA, de Haan EHF, de Leeuw FE, Kessels RPC. **Post-Stroke Working Memory Dysfunction: A Meta-Analysis and Systematic Review.** Neuropsychol Rev 2021; 31(1): 202-19.
- 38- Andrew RD, Hartings JA, Ayata C, Brennan KC, Dawson-Scully KD, Farkas E, et al. **The Critical Role of Spreading Depolarizations in Early Brain Injury: Consensus and Contention.** Neurocrit Care 2022; 37(Suppl 1): 83-101.
- 39- Belov Kirdajova D, Kriska J, Tureckova J, Anderova M. **Ischemia-Triggered Glutamate Excitotoxicity from the Perspective of Glial Cells.** Front Cell Neurosci 2020; 14: 51.
- 40- Malik AR, Willnow TE. **Excitatory Amino Acid Transporters in Physiology and Disorders of the Central Nervous System.** Int J Mol Sci 2019; 20(22): 5671.
- 41- Sakowitz OW, Kiening KL, Krajewski KL, Sarrafzadeh AS, Fabricius M, Strong AJ, et al. **Preliminary Evidence that Ketamine Inhibits Spreading Depolarizations in Acute Human Brain Injury.** Stroke 2009; 40(8): e519-22.
- 42- Hertle DN, Dreier JP, Woitzik J, Hartings JA, Bullock R, Okonkwo DO, et al. **Effect of Analgesics and Sedatives on the Occurrence of Spreading Depolarizations Accompanying Acute Brain Injury.** Brain 2012; 135(Pt 8): 2390-8.
- 43- Santos E, Olivares-Rivera A, Major S, Sánchez-Porrás R, Uhlmann L, Kunzmann K, et al. **Lasting S-ketamine Block of Spreading Depolarizations in Subarachnoid Hemorrhage: A Retrospective Cohort Study.** Crit Care 2019; 23(1): 427.
- 44- Kirino T. **Delayed Neuronal Death in the Gerbil Hippocampus Following Ischemia.** Brain Res 1982; 239(1): 57-69.
- 45- Hara H, Friedlander RM, Gagliardini V, Ayata C, Fink K, Huang Z, et al. **Inhibition Of Interleukin 1beta Converting Enzyme Family Proteases Reduces Ischemic And Excitotoxic Neuronal Damage.** Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94(5): 2007-12.
- 46- Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J. **Place Navigation Impaired in Rats with Hippocampal Lesions.** Nature 1982; 297(5868): 681-3.

The effect of S-ketamine administration on improving memory and learning following cerebral ischemia and reperfusion in male Wistar rats

Seyedeh Mahdiah Khoshnazar¹, Sohaila Erfani^{2*}, Reza Sinaei³

Original Article

Introduction: This study investigated the effect of S-ketamine administration as a neuroprotective treatment for necrotic cell death and memory and learning impairments following a cerebral ischemia model in male rats.

Methods: In this experimental study, 28 male Wistar rats with weighing between 250-300 g, were randomly divided into four groups: Sham, Ischemia-Saline, Ischemia-S-ketamine (low dose), and Ischemia-S-ketamine (high dose). In the ischemia groups receiving low and high doses of S-ketamine, the drug was administered immediately right after the onset of ischemia at doses of 0.1 mg/kg and 0.25 mg/kg body weight, respectively. Memory and learning were evaluated in the different groups through the passive avoidance learning test. Four days after induction of ischemia, necrotic cell death was measured using Cresyl violet staining. Data were analyzed using SPSS software.

Results: The results showed that in the ischemia-saline group, significantly increased in the number of necrotic cells compared to the sham group ($p < 0.05$). Treatment with S-ketamine substantially decreased necrotic cell death in the CA1 region of the hippocampus. The reduction in ischemia-induced cell death was more significant in the high-dose S-ketamine treatment group compared to the low-dose S-ketamine treatment group ($p < 0.05$). Moreover, S-ketamine treatment improved memory and learning deficits caused by ischemia in a dose-dependent manner.

Conclusion: Treatment with S-ketamine has been able to affect the consequences of cerebral ischemia, and therefore the introduction of S-ketamine therapy is proposed as a new therapeutic method in the treatment of cerebral ischemia.

Keywords: Necrosis, S-ketamine, Ischemia-Reperfusion, Hippocampus.

Citation: Khoshnazar S.M, Erfani M, Sinaei R. **Protective Effects of S-ketamine on Improving Learning and Memory Hippocampal Cell Death Following Cerebral Ischemia and Reperfusion.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2024; 32(12): 8549-61.

¹Gastroenterology and Hepatology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

²Department of Biology, Faculty of Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.

³Department of Pediatrics Rheumatology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

*Corresponding author: Tel: 09183418932, email: s.erfani@ilam.ac.ir