

## بررسی اثر ضدافسردگی داروی پیوگلیتازون در موش‌های سوری اواریکتومی شده با دخالت مسیر سنتز نیتریک اکساید

### چکیده

دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۷ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۳ آنلاین: ۱۴۰۱/۰۱/۰۱

سمانه جهان‌آبادی<sup>۱\*</sup>، سمیرا دبستانی تفتی<sup>۱</sup>

۱- گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

۲- مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

**زمینه و هدف:** پیوگلیتازون آگونیست انتخابی ریسپور PPAR- $\gamma$  می‌باشد که در درمان دیابت نوع ۲ تجویز می‌شود و می‌تواند خاصیت ضدافسردگی نیز داشته باشد. نیتریک اکساید به‌عنوان نورومدولاتور در فرآیندهای گسترده‌ای در مغز همانند یادگیری حافظه و نوروزن و بیماری آلزایمر، پارکینسون و افسردگی نقش دارد. میزان شیوع افسردگی در زنان با بالا رفتن سن به‌علت کمبود استروژن افزایش یافته و این افراد بیشتر در معرض افسردگی، تحریک‌پذیری و بد خلقی قرار می‌گیرند. از این رو در این مطالعه اثر ضدافسردگی داروی پیوگلیتازون و تداخل آن با سیستم نیتروژیک (Nitregic system) در موش‌های سوری ماده اواریکتومی (Ovariectomy) شده بررسی می‌شود.

**روش بررسی:** این مطالعه تجربی از فروردین ۱۳۹۸ تا دی ۱۳۹۸ در گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد بر روی موش‌های سوری نژاد NMRI انجام شد. پس از انجام اواریکتومی، در هر گروه تاثیر دوزهای مختلف پیوگلیتازون (۱۰، ۲۰، ۴۰ mg/kg)، پیوگلیتازون به‌همراه ال-آرژنین و پیوگلیتازون به‌همراه L-NAME به کمک تست‌های رفتاری تست‌شناسی اجباری (FST)، تست دم معلق (TST) و تست جعبه باز (OFT) مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** اواریکتومی کردن موش‌های ماده باعث بروز رفتارهای شبه‌افسردگی در آن‌ها می‌شود که با افزایش زمان بی‌حرکتی در FST و TST و عدم تغییر در فعالیت لوکوموتور در OFT مشخص شد. پیوگلیتازون (۴۰ mg/kg) موجب کاهش زمان بی‌حرکتی در موش‌های اواریکتومی شده در تست‌های رفتاری شد. همچنین تجویز توام L-NAME به‌همراه دوز غیر موثر پیوگلیتازون سبب معکوس شدن افسردگی در موش‌های سوری می‌شود و تجویز ال-آرژنین اثر ضدافسردگی پیوگلیتازون را مهار کرد.

**نتیجه‌گیری:** داروی پیوگلیتازون می‌تواند موجب بروز اثرات ضدافسردگی در موش‌های سوری اواریکتومی گردد و بخشی از این اثرات توسط سیستم نیتروژیک اعمال می‌شود.

**کلمات کلیدی:** افسردگی، موش سوری، نیتریک اکساید، اواریکتومی، پیوگلیتازون.

\* نویسنده مسئول: یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی.

تلفن: ۰۳۵-۳۸۲۰۳۴۱۹

E-mail: sjahanabadi@yahoo.com

### مقدمه

با وجود اینکه نوروپاتوفیزیولوژی این بیماری بخوبی شناخته نشده، نظریه پذیرفته شده کمبود مونوآمین‌ها (تهی بودن مغز از سروتونین، نوراپی‌نفرین و دوپامین) تا حدودی علت این بیماری را توجیه می‌کند. درمان بیماری افسردگی بر پایه افزایش میزان مونوآمین‌ها در محل سیناپس‌ها از جمله مهم‌ترین مکانیسم‌های

اختلال افسردگی یک بیماری مزمن، و بالقوه ناتوان‌کننده و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های زندگی بشر است. اختلال عملکرد فیزیکی و اجتماعی ناشی از افسردگی، تاثیر عمیقی بر زندگی افراد مبتلا دارد.<sup>۱</sup>

پیش‌ساز سنتز نیتریک اکساید سنتاز و L-NAME به‌عنوان مهارکننده غیر اختصاصی سنتز نیتریک اکساید سنتاز به موش‌های سوری اووریکتومی شده انجام شد.

## روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی بوده و از فروردین ۱۳۹۸ تا دی ۱۳۹۸ در گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد بر روی موش‌های سوری نژاد NMRI انجام شد. تمام مواد از کمپانی Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) تهیه شد.

جامعه مورد بررسی مطالعه موش‌های ماده سالم نژاد سوری (NMRI) با وزن  $25 \pm 5$  gr بودند. محل نگهداری حیوانات دارای تجهیزات کنترل نور، تهویه و سیستم ثابت‌کننده دما بود. حیوانات در شرایط شبانه روزی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای  $23 \pm 2$  °C و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی با کد اخلاق IR.SSU.MEDICINE.REC.1397.107 انجام شد. حیوانات به‌صورت تصادفی به هشت گروه تقسیم شدند که عبارت بود از: گروه کنترل، گروه Sham، گروه اواریکتومی (OVX)، گروه OVX تحت درمان با داروی پیوگلیتازون با دوز ۱۰ mg/kg، گروه OVX تحت درمان با داروی پیوگلیتازون با دوز ۲۰ mg/kg و گروه OVX تحت درمان با داروی پیوگلیتازون با دوز ۴۰ mg/kg، گروه OVX دریافت‌کننده دوز غیر مؤثر پیوگلیتازون به‌همراه L-NAME و گروه OVX دریافت‌کننده دوز مؤثر پیوگلیتازون به‌همراه L-Arginine.<sup>۱۳،۱۴</sup>

پروسه جراحی اواریکتومی با بیهوشی عمومی توسط کتامین (۸۰ mg/kg) و زایلازین (Xylazine) (۱۰ mg/kg) که به‌صورت داخل پریتونئال تزریق گردید، ایجاد شد. موهای ناحیه پشت کمری تراشیده شده و حیوان روی تخت جراحی فیکس گردید. سپس شکافی در خط پشتی وسطی در پوست نزدیک به حاشیه پشتی در دنده‌ها ایجاد شد. شکاف درست در زیر ماهیچه‌هایی که جهت بیرون آوردن تخمدان‌ها مد نظر است ایجاد شد. لوله‌های فالوپ و تخمدان خارج شدند.<sup>۱۴</sup>

داروهای ضدافسردگی است، با این وجود داروهای ضدافسردگی که در بالین مصرف می‌شوند، حداکثر ۷۰٪-۶۰٪ در بین بیماران اثر درمانی دارند.<sup>۲</sup> خانم‌ها به‌علت نوسانات سطوح استروژن درون‌زاد در شروع قاعدگی، در طول زایمان، پس از زایمان و یائسگی بیشتر در معرض ریسک افسردگی و اضطراب قرار دارند.<sup>۳،۴</sup>

در دوران یائسگی به‌علت کمبود استروژن، سیکل‌های قاعدگی زن به پایان رسیده و این کمبود نه تنها منجر به آتروفی واژن، گرگرفتگی، از دست رفتن توده استخوانی و افزایش خطرات قلبی عروقی می‌گردد بلکه ممکن است زنان را در معرض افسردگی، تحریک‌پذیری و بد خلقی نیز قرار دهد.<sup>۵،۶</sup>

درمان‌های دارویی در دسترس برای افسردگی شامل گروه داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای، مهارکننده‌های اختصاصی بازجذب سروتونین، مهارکننده آنزیم مونوآمین اکسیداز و چند نمونه از داروهای جدید نظیر بوپروپیون (Bupropion)، نفازودون (Nefazodone) و غیره می‌باشد که به‌علت اثرات تاخیری این داروها و عوارض جانبی زود هنگام آن‌ها همانند عوارض گوارشی، عوارض جنسی و اختلالات خواب، باعث ناراضی‌تبی شماری از بیماران و عدم تکمیل روند درمان آن‌ها می‌شود.<sup>۷،۸</sup>

علاوه بر درمان‌های رایج اختلال افسردگی، مطالعات جدید بیانگر آثار شبه ضدافسردگی برخی دیگر از داروها از جمله پیوگلیتازون جهت درمان این بیماری می‌باشد.

پیوگلیتازون (Pioglitazone)، آگونیست گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسی‌زوم گاما (PPAR- $\gamma$ )، دارویی از خانواده تiazolidinediones است که باعث افزایش حساسیت به انسولین در بافت‌های هدف می‌شود.<sup>۱۰</sup>

درواقع تiazolidinediones دیون‌ها از طریق مکانیسم‌های متعددی از جمله تنظیم فعالیت‌های التهابی و اکسیداتیو، کاهش شار یون کلسیم به نورون‌های هیپوکامپ و کاهش تولید نیتریک اکساید در هیپوکامپ از نورون‌ها محافظت می‌کنند.<sup>۱۱،۱۲</sup> نیتریک اکساید (NO) یکی از انتقال‌دهنده‌های عصبی اصلی در CNS می‌باشد که در فرآیندهای یادگیری، حافظه و افسردگی نقش دارد.<sup>۱۳</sup>

با توجه به شواهد یاد شده این مطالعه به‌منظور بررسی اثر ضدافسردگی داروی پیوگلیتازون در موش‌های سوری اواریکتومی شده با دخالت مسیر L-Arg/NO با تجویز L-Arginine به‌عنوان

می‌کند و بدون حرکت به صورت شناور باقی می‌ماند و تنها حرکتی که انجام می‌دهد این است که سرش را بالای آب نگه می‌دارد.<sup>۱۶،۱۷</sup>

در تست دم معلق (Tail Suspension Test (TST)، موش‌های سوری در مدت زمان شش دقیقه، ۵۰ cm بالاتراز کف با نوار چسب تقریباً ۱ cm از نوک دم به صورت آویزان قرار گرفتند. دو دقیقه اول زمان آدایته شدن با محیط بود و در چهار دقیقه آخر زمان بی‌حرکی موش اندازه گرفته شد.<sup>۱۶</sup>

تمام نتایج به صورت Mean±SEM نشان داده شده است. نتایج به دست آمده، با استفاده از تست آنالیز واریانس یک‌طرفه One-way analysis of variance (ANOVA) همراه با تست تکمیلی Tukey تجزیه و تحلیل گردید و سطح  $P < 0.05$  معناداری در نظر گرفته شد. برای آنالیز از GraphPad Prism 6 software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) استفاده شد.

## یافته‌ها

نتایج ارایه شده در نمودار ۱ و ۲ نشان می‌دهد که در تست‌های رفتاری FST و TST زمان بی‌حرکی در گروه اواریکتومی نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار است ( $P \leq 0.05$ ) و از طرفی زمان بی‌حرکی گروه دریافت‌کننده پیوگلیتازون نسبت به گروه اواریکتومی کاهش یافته به نحوی که در گروه دریافت‌کننده پیوگلیتازون با دوز ۴۰ mg/kg این کاهش معنادار بوده است ( $P \leq 0.05$ ,  $P \leq 0.01$ ).

ارزیابی سیستم حرکتی: فعالیت حرکتی شش گروه در نمودار ۳ نشان داده شده است. موش‌هایی که تحت جراحی قرار گرفته‌اند نسبت به گروه کنترل تعداد دفعات کمتری از مربع‌های جعبه مد نظر گذشته‌اند اما از نظر آماری این اختلاف معنادار نیست و دریافت دوزهای متفاوت داروی پیوگلیتازون تاثیری بر فعالیت حرکتی حیوان نداشته است.

چنان‌که در نمودار ۴ نشان داده شده تجویز مهارکننده غیر انتخابی NOS، L-NAME (۲ mg/kg) توام دوز غیر موثر پیوگلیتازون باعث کاهش زمان بی‌حرکی می‌شود که از نظر آماری نیز معنادار است ( $P \leq 0.01$ ), در حالی که L-NAME به‌تنهایی تاثیری بر زمان بی‌حرکی در FST و TST نداشت.

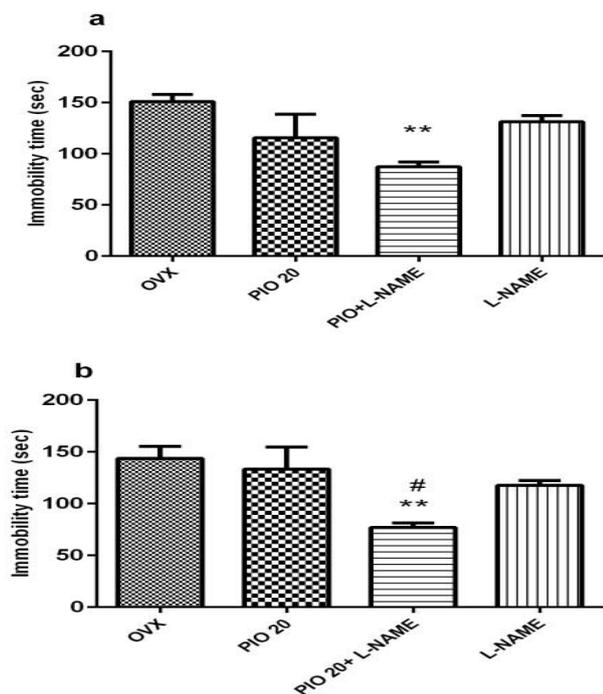
به منظور جلوگیری از دهیدراته شدن بدن حیوان هنگام جراحی از نرمال سالین استفاده شد. در انتها محل جراحی بخیه و به‌وسیله پنبه آغشته به پایدون آبداین ضدعفونی گردید. پس از هفت روز نگهداری در لانه حیوانات، تست‌های رفتاری تحت شرایط یکسان برای این گروه‌ها صورت گرفت.

دوزهای پیوگلیتازون (۱۰، ۲۰ و ۴۰ mg/kg) در گروه‌های جداگانه چهار ساعت پیش از انجام تست‌های رفتاری به موش‌ها تزریق شد و سپس حیوانات تحت آزمون قرار گرفتند. در این مرحله دوزهای موثر و غیر موثر پیوگلیتازون در آزمون، جهت ارزیابی در مراحل بعدی مطالعه مشخص شد.

برای بررسی نقش احتمالی مسیر نیتریک اکساید در اثرات پیوگلیتازون، دوزهای غیر موثر L-NAME (۲ mg/kg) ۳۰ دقیقه پیش از تزریق دوزهای غیر موثر پیوگلیتازون جهت اندازه‌گیری تست‌های رفتاری به موش‌ها تزریق شد. همچنین در گروه‌های دیگر، ۳۰ دقیقه پیش از تجویز دوز موثر پیوگلیتازون، L-Arginine (۱۰۰ mg/kg) به موش‌ها تزریق و تست‌های رفتاری، تحت شرایط یکسان برای این گروه‌ها صورت گرفت.

ارزیابی سیستم حرکتی حیوان با استفاده از Open Filed (OFT) Test انجام شد و جهت جلوگیری از مداخلات احتمالی در تفسیر داده‌های حاصله از تست‌های افسردگی حیوانات، OFT پیش از تست‌های رفتاری دیگر انجام گرفت. این آزمون برای ارزیابی پاسخ‌های رفتاری مانند فعالیت حرکتی، بیش‌فعالی و رفتار جست‌وجوگرانه و همچنین اندازه‌گیری اضطراب نیز استفاده شده است. در این آزمایش موش‌های آزمایشگاهی در جعبه چوبی به ابعاد ۵۰ cm × ۶۰ cm × ۴۰ cm که کف جعبه به ۱۶ مربع مساوی تقسیم شده قرار می‌گیرند و تعداد خانه‌هایی که طی شش دقیقه از آن عبور می‌کنند محاسبه می‌گردد.<sup>۱۶،۱۷</sup>

تست‌شنای اجباری Forced Swimming Test (FST) تستی برای ارزیابی افسردگی است. جهات انجام این تست، موش‌ها در یک مخزن شیشه‌ای عمودی با قطر ۱۰ cm و ارتفاع ۲۵ cm که تا ارتفاع ۱۹ cm با آب  $23 \pm 1^\circ C$  پر شده، قرار داده می‌شوند و به هر موش به مدت شش دقیقه فرصت شنا کردن داده می‌شود. مدت زمان بی‌حرکتی که در چهار دقیقه آخر این تست ثبت می‌شود زمانی است که هر موش تلاش خود را برای شنا کردن متوقف

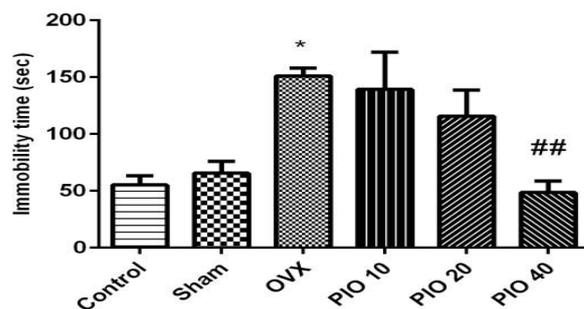


نمودار ۱: بررسی اثر تجویز دوز غیر موثر پیوگلیتازون به همراه L-NAME بر مدت زمان بی‌حرکی موش‌های سوری در آزمون FST (a) و TST (b). تفاوت معنادار بین گروه OVX و PIO+L-NAME به صورت \*\* ( $P \leq 0.01$ ) نشان داده شده است (a). تفاوت معنادار بین گروه OVX و PIO20+L-NAME به صورت \*\* ( $P \leq 0.01$ ) و تفاوت معنادار بین گروه PIO20+L-NAME و پیوگلیتازون با دوز ۲۰ mg/kg به صورت # ( $P \leq 0.05$ ) نشان داده شده است (b).

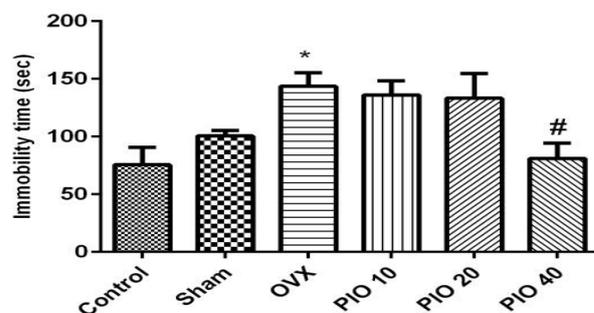
برای بررسی بیشتر نقش مسیر نیتریک اکسید در اثر شبه ضدافسردگی پیوگلیتازون، L-Arginine به‌عنوان یک پیش‌ساز مسیر نیتریک اکسید به‌کار برده شد. مصرف هم‌زمان L-Arginine (۱۰۰ mg/kg) با پیوگلیتازون به‌طرز قابل‌توجهی اثر ضد عدم تحرک پیوگلیتازون که چهار ساعت پیش از FST و TST مصرف شده‌اند را به‌صورت معناداری معکوس کرد ( $P \leq 0.05$ ,  $P \leq 0.001$ ).

## بحث

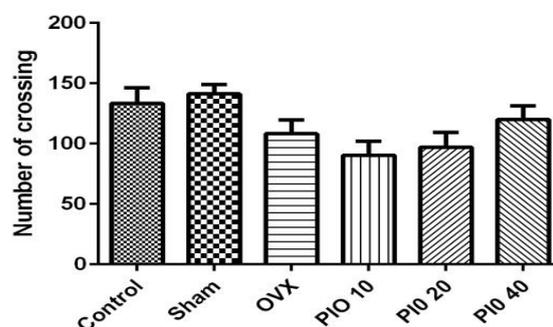
در مطالعه حاضر مشاهده شد که داروی پیوگلیتازون دارای اثر شبه ضدافسردگی در موش‌های سوری اواریکتومی شده است که با کاهش زمان بی‌حرکی در FST و TST نمایان می‌شود. همچنین



نمودار ۱: بررسی اثر تجویز دوزهای مختلف پیوگلیتازون بر مدت زمان بی‌حرکی موش‌های سوری در آزمون FST. تفاوت معناداری بین گروه OVX و پیوگلیتازون با دوز ۴۰ mg/kg به صورت ## ( $P \leq 0.01$ ) و تفاوت معنادار بین گروه OVX و گروه کنترل به صورت \* ( $P \leq 0.05$ ) نشان داده شده است.



نمودار ۲: بررسی اثر تجویز دوزهای مختلف پیوگلیتازون بر مدت زمان بی‌حرکی موش‌های سوری در آزمون TST. تفاوت معنادار بین گروه OVX و پیوگلیتازون با دوز ۴۰ mg/kg به صورت # ( $P \leq 0.05$ ) و تفاوت معنادار بین گروه OVX و گروه کنترل به صورت \* ( $P \leq 0.05$ ) نشان داده شده است.



نمودار ۳: بررسی اثر تجویز دوزهای مختلف پیوگلیتازون بر تعداد دفعات عبور موش‌های سوری در آزمون OFT.

می‌کنند که از جمله آن‌ها افزایش فاکتورهای نوروتروفیک، کاهش بیان سیکلو‌اکسیژناز-۲ و کاهش تولید نیتریک اکساید در هیپوکامپ می‌باشد.<sup>۳۱،۳۳</sup>

در مطالعه Ji و همکاران تجویز پیوگلیتازون پس از ایسکمی مغزی خفیف گذرا نشان‌دهنده کارایی پیوگلیتازون در بهبود حافظه و یادگیری می‌باشد.<sup>۲۴</sup> همچنین استفاده از پیوگلیتازون در مغز به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب کاهش انفارکتوس و تورم مغزی و بهبود نقص حسی ناشی از ایسکمی مغزی می‌گردد. فعال‌سازی PPAR- $\gamma$  داخل مغزی می‌تواند اثرات محافظت عصبی و ضدالتهابی به‌دنبال آسیب ایسکمیک را به‌دنبال داشته باشد.<sup>۲۵</sup>

طی مطالعه صورت گرفته بر روی گروهی از بیماران مبتلا به دیابت تیپ ۲، پیوگلیتازون توانست به‌طور چشمگیری سطح TNF- $\alpha$  را کاهش دهد که نشان‌دهنده اثرات ضدالتهابی این دارو می‌باشد.<sup>۳۶</sup> یکی از مکانیسم‌های محافظت عصبی آگونیست‌های PPAR- $\gamma$  شامل مهار فعال‌سازی میکروگلیا و کاهش بیان و فعالیت نیتریک اکسید سنتاز القا (iNOS) است.<sup>۱۹</sup> پیوگلیتازون بیان iNOS ناشی از LPS و تولید NO را مهار می‌کند که این اثر احتمالاً از طریق فعال‌سازی مسیر پیوگلیتازون می‌تواند موجب محافظت از نورون‌های دوپامینرژیک در برابر نوروتوکسیستی ناشی از LPS گردد.<sup>۱۹</sup>

مطالعات زیادی به افزایش سطح نیتریک اکساید در بیماران با افسردگی ماژور اشاره دارد و میزان متابولیت‌های نیتریک اکساید به‌طور چشمگیری در پلاسمای افرادی که اقدام به خودکشی کرده‌اند بیشتر است.<sup>۲۷</sup> افزایش سطح نیتریک اکساید در افسردگی به‌دنبال پاسخ‌های التهابی رخ می‌دهد که دارای اثرات مخرب از جمله از دست رفتن عملکرد نورونی می‌باشد.<sup>۲۸</sup>

از طرفی مهارکننده‌های NOS سطح سروتونین و دوپامین را در هیپوکامپ موش، محل اصلی مغز که در پاتوفیزیولوژی افسردگی درگیر است، افزایش می‌دهند.<sup>۲۹</sup> شواهد حاکی از آنند که مهار آنزیم NOS به‌عنوان یک استراتژی می‌تواند تاثیرگذاری بالینی ضدافسردگی سرتونرژیک را تقویت کند.<sup>۳۰</sup>

مشاهدات مطالعات حاضر بیان می‌کند که داروی پیوگلیتازون در دوز ۴۰ mg/kg در بهبود رفتارهای شبه‌افسردگی ناشی از اواریکتومی دوطرفه موش سوری اثر داشته است و باعث کاهش زمان بی‌حرکی

پیوگلیتازون بخشی این اثر خود را در موش‌های سوری اواریکتومی شده با دخالت مسیر NO/L-Arg اعمال می‌کند به طوری که مصرف ال-آرژنین به‌عنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید سنتاز، اثرات ضدافسردگی را در FST و TST کاهش می‌دهد در حالی که L-NAME به‌عنوان مهارکننده غیر اختصاصی نیتریک اکساید سنتاز (Nitric oxide synthase)، اثرات ضدافسردگی را FST و TST افزایش می‌دهد.

در مطالعه Demouliere و همکاران و همچنین مطالعه سعیدی ساروی و همکاران اعلام شد اواریکتومی کردن موش‌های سوری رفتاری شبه افسردگی در آن‌ها القا می‌کند که با افزایش زمان بی‌حرکی در FST و TST و کاهش Locomotor activity در OFT همراه است و این‌گونه تصور می‌شود رفتارهای ناامیدانه‌ای مانند بی‌حرکتی در FST و TST افسردگی را در آن‌ها نشان می‌دهند.<sup>۱۸،۱۷</sup> در مطالعه حاضر OFT جهت اطمینان از عدم تاثیر فعالیت‌های حرکتی به‌دنبال اواریکتومی حیوان بر نتایج تست‌های رفتاری FST و TST انجام شد که نتایج این مطالعه بیانگر عدم ارتباط بی‌حرکتی حیوانات در تست‌های رفتاری FST و TST با فعالیت‌های حرکتی آن‌ها می‌باشد.

مکانیسم‌های متعددی در روند بروز علائم بیماری افسردگی تاثیرگذارند که در میان آن‌ها می‌توان به کاهش غلظت نوروترانسمیترهای مغزی در فضاهای سیناپسی، التهاب، استرس و صدمات عصبی اشاره کرد. در این بین تغییر غلظت نیتریک اکساید و سایتوکین‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$  بیشتر مورد توجه محققان قرار گرفته است.<sup>۱۹</sup> همچنین مشخص شد که نوسانات سطح استروژن آندروژن در شروع قاعدگی-در طول بارداری و زایمان پس از زایمان و یائسگی همراه با توقف تولید استروژن تخمدان‌ها موجب افزایش ریسک ابتلا به افسردگی، اضطراب و کمبود انرژی می‌شود.<sup>۲۰</sup>

در سال‌های اخیر روش‌های درمانی متفاوتی در درمان اختلال افسردگی ماژور (MDD) بر پایه فرآیندهای پاتوفیزیولوژیک در بیماران مبتلا به MDD متمرکز شده است. این فرآیندهای پاتوفیزیولوژیک شامل اختلال در عملکرد سیستم ایمنی بدن، اختلالات محور هیپوتالاموس-هیپوفیز آدرنال (HPA) و اختلالات متابولیکی، اختلالات محافظتی نورون‌ها یا التهابات عصبی می‌باشد.<sup>۳۱</sup> آگونیست‌های PPAR- $\gamma$  اثرات ضدالتهاب، آنتی‌اکسیداتیو و محافظت نورونی خود را بر روی مغز با مکانیسم‌های مختلف اعمال

مسیر L-Arg/NO اعمال می‌شود که با کاهش زمان بی‌حرکی در FST و TST نمایان می‌شود، در حالی که فعالیت حرکتی در OFT تغییر نمی‌کند.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی اثر ضدافسردگی داروی پیوگلیتازون در موش‌های سوری اواریکتومی شده با دخالت مسیر سنتز نیتریک اکساید" در مقطع دکتری داروسازی در سال ۱۳۹۷ و کد ۵۹۷۴ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد اجرا شده است.

در تست‌های رفتاری FST و TST می‌شود. تجویز توام L-NAME به‌همراه دوز غیر موثر پیوگلیتازون سبب معکوس شدن افسردگی در موش‌های سوری اواریکتومی شده می‌شود و تزریق ال-آرژنین به‌همراه دوز موثر پیوگلیتازون به‌طور قابل‌توجهی رفتارهای شبه افسردگی ناشی از اواریکتومی دوطرفه در موش‌ها را نسبت به گروه دریافت‌کننده داروی پیوگلیتازون تشدید می‌کند.

براساس یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً بخشی از اثرات ضدافسردگی داروی پیوگلیتازون در مدل افسردگی القا شده توسط اواریکتومی دوطرفه در موش سوری، با مشارکت

## References

- Adongo DW, Kukuia KK, Mante PK, Ameyaw EO, Woode E. Antidepressant-Like Effect of the Leaves of *Pseudospondias microcarpa* in Mice: Evidence for the Involvement of the Serotonergic System, NMDA Receptor Complex, and Nitric Oxide Pathway. *Biomed Res Int* 2015;2015:397943.
- Shahsavarian A, Javadi S, Jahanabadi S, Khoshnoodi M, Shamsaee J, Shafaroodi H, et al. Antidepressant-like effect of atorvastatin in the forced swimming test in mice: the role of PPAR-gamma receptor and nitric oxide pathway. *Eur J Pharmacol* 2014;745:52-8.
- Misdrabi D, Pardon MC, Pérez-Díaz F, Hanoun N, Cohen-Salmon C. Prepartum chronic ultramild stress increases corticosterone and estradiol levels in gestating mice: implications for postpartum depressive disorders. *Psychiatry Res* 2005;137(1-2):123-30.
- Chhibber A, Woody SK, Karim Rumi MA, Soares MJ, Zhao L. Estrogen receptor  $\beta$  deficiency impairs BDNF-5-HT2A signaling in the hippocampus of female brain: A possible mechanism for menopausal depression. *Psychoneuroendocrinology* 2017;82:107-16.
- Avis NE, Brambilla D, McKinlay SM, Vass K. A longitudinal analysis of the association between menopause and depression. Results from the Massachusetts Women's Health Study. *Ann Epidemiol* 1994;4(3):214-20.
- Heydarpour P, Salehi-Sadaghiani M, Javadi-Paydar M, Rahimian R, Fakhfoury G, Khosravi M, et al. Estradiol reduces depressive-like behavior through inhibiting nitric oxide/cyclic GMP pathway in ovariectomized mice. *Horm Behav* 2013;63(2):361-9.
- López-Jaramillo P, Terán E, Molina G, Rivera J, Lozano A. Oestrogens and depression. *Lancet* 1996;348(9020):135-6.
- Carvalho AF, Sharma MS, Brunoni AR, Vieta E, Fava GA. The Safety, Tolerability and Risks Associated with the Use of Newer Generation Antidepressant Drugs: A Critical Review of the Literature. *Psychother Psychosom* 2016;85(5):270-88.
- Ferguson JM, Khan A, Mangano R, Entsuah R, Tzani E. Relapse prevention of panic disorder in adult outpatient responders to treatment with venlafaxine extended release. *J Clin Psychiatry* 2007;68(1):58-68.
- Hanefeld M. Pharmacokinetics and clinical efficacy of pioglitazone. *Int J Clin Pract Suppl* 2001;(121):19-25.
- Sepanjnia K, Modabbernia A, Ashrafi M, Modabbernia MJ, Akhondzadeh S. Pioglitazone adjunctive therapy for moderate-to-severe major depressive disorder: randomized double-blind placebo-controlled trial. *Neuropsychopharmacology* 2012;37(9):2093-100.
- Babaei R, Javadi-Paydar M, Sharifian M, Mahdavian S, Almasi-Nasrabadi M, Norouzi A, et al. Involvement of nitric oxide in pioglitazone memory improvement in morphine-induced memory impaired mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2012;103(2):313-21.
- Shafizadeh M, Rajaba A, Imran Khan M, Ostadhadi S, Rastegar H, Dehpour A. Anti-pruritic activity of pioglitazone on serotonin-induced scratching in mice: possible involvement of PPAR-gamma receptor and nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 2014;744:103-7.
- Mirbaha H, Tabaeizadeh M, Shaterian-Mohammadi H, Tahsili-Fahadan P, Dehpour AR. Estrogen pretreatment modulates morphine-induced conditioned place preference in ovariectomized mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2009;92(3):399-403.
- He T, Guo C, Wang C, Hu C, Chen H. Effect of early life stress on anxiety and depressive behaviors in adolescent mice. *Brain Behav* 2020;10(3):e01526.
- Lee JS, Kang JY, Son CG. A Comparison of Isolation Stress and Unpredictable Chronic Mild Stress for the Establishment of Mouse Models of Depressive Disorder. *Front Behav Neurosci* 2021;14:616389.
- Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology (Berl)* 2005;177(3):245-55.
- Saeedi Saravi SS, Arefidoust A, Yafthian R, Saeedi Saravi SS, Dehpour AR. 17 $\alpha$ -ethinyl estradiol attenuates depressive-like behavior through GABAA receptor activation/nitric pathway blockade in ovariectomized mice. *Psychopharmacology (Berl)* 2016;233(8):1467-85.
- Xing B, Xin T, Hunter RL, Bing G. Pioglitazone inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide synthase is associated with altered activity of p38 MAP kinase and PI3K/Akt. *J Neuroinflammation* 2008;5:4. 1):4.
- Avis NE, Brambilla D, McKinlay SM, Vass K. A longitudinal analysis of the association between menopause and depression. Results from the Massachusetts Women's Health Study. *Ann Epidemiol* 1994;4(3):214-20.
- Sepanjnia K, Modabbernia A, Ashrafi M, Modabbernia MJ, Akhondzadeh S. Pioglitazone adjunctive therapy for moderate-to-severe major depressive disorder: randomized double-blind placebo-controlled trial. *Neuropsychopharmacology* 2012;37(9):2093-100.
- Sepanjnia K, Modabbernia A, Ashrafi M, Modabbernia MJ, Akhondzadeh S. Pioglitazone adjunctive therapy for moderate-to-severe major depressive disorder: randomized double-blind placebo-controlled trial. *Neuropsychopharmacology* 2012;37(9):2093-100.
- Babaei R, Javadi-Paydar M, Sharifian M, Mahdavian S, Almasi-Nasrabadi M, Norouzi A, et al. Involvement of nitric oxide in

- pioglitazone memory improvement in morphine-induced memory impaired mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2012;103(2):313-21.
24. Ji S, Kronenberg G, Balkaya M, Färber K, Gertz K, Kettenmann H, et al. Acute neuroprotection by pioglitazone after mild brain ischemia without effect on long-term outcome. *Exp Neurol* 2009;216(2):321-8.
  25. Zhao Y, Patzer A, Gohlke P, Herdegen T, Culman J. The intracerebral application of the PPARgamma-ligand pioglitazone confers neuroprotection against focal ischaemia in the rat brain. *Eur J Neurosci* 2005;22(1):278-82.
  26. Shim Shimizu H, Oh-I S, Tsuchiya T, Ohtani KI, Okada S, Mori M. Pioglitazone increases circulating adiponectin levels and subsequently reduces TNF-alpha levels in Type 2 diabetic patients: a randomized study. *Diabet Med* 2006;23(3):253-7.
  27. Kim YK, Paik JW, Lee SW, Yoon D, Han C, Lee BH. Increased plasma nitric oxide level associated with suicide attempt in depressive patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006;30(6):1091-6.
  28. Suzuki E, Yagi G, Nakaki T, Kanba S, Asai M. Elevated plasma nitrate levels in depressive states. *J Affect Disord* 2001;63(1-3):221-4.
  29. Wegener G, Volke V, Rosenberg R. Endogenous nitric oxide decreases hippocampal levels of serotonin and dopamine in vivo. *Br J Pharmacol* 2000;130(3):575-80.
  30. Harkin A, Connor TJ, Burns MP, Kelly JP. Nitric oxide synthase inhibitors augment the effects of serotonin re-uptake inhibitors in the forced swimming test. *Eur Neuropsychopharmacol* 2004;14(4):274-81.

## Evaluation of the antidepressant effects of pioglitazone in ovariectomized mice through nitric oxide pathway

Samane Jahanabadi Ph.D.<sup>1,2\*</sup>  
Samira Dabestani Tafti  
Pharm D.<sup>1</sup>

1- Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

2- Pharmaceutical Science Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

\* Corresponding author: Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.  
Tel: +98-35-38203419  
E-mail: sjahanabadi@yahoo.com

### Abstract

Received: 08 Nov. 2021 Revised: 15 Nov. 2021 Accepted: 14 Mar. 2022 Available online: 21 Mar. 2022

**Background:** Pioglitazone is the selective PPAR- $\gamma$  receptor agonist, which is prescribed for the treatment of type 2 diabetes and may also have antidepressant effects. Nitric oxide (NO) has been involved in some crucial roles, including learning, cognition and neurogenesis as well as some neurodegenerative diseases, including Parkinson, Alzheimer's disease (AD) and depression. Reduced estrogen levels throughout ovariectomy, postpartum and menopause make women more likely to suffer from depression. The existing study was designed to examine the antidepressant-like effects of pioglitazone, a PPAR- $\gamma$  agonist, and the probable involvement of NO with the use of non-specific NO synthase inhibitor (L-NAME) or an NO precursor (L-arginine) in female ovariectomized (OVX) mice.

**Methods:** The present study was conducted experimentally on female NMRI mice from April to December 2019 at the Pharmacology Department of Pharmacy Faculty, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran. Female mice were subjected to bilaterally ovariectomy, and various doses of pioglitazone (10, 20, 40 mg/kg) were administered either alone or in combination with non-specific NO synthase (NOS) inhibitor (L-NAME) or a NO precursor (L-arginine). Antidepressant-like activity of pioglitazone was evaluated in the forced swimming test (FST) and the tail suspension test (TST). Moreover, the open field test was done to evaluate the locomotor activity of mice following different treatments.

**Results:** OVX mice demonstrated a major increase in immobility time versus sham therapy following procedure ( $P \leq 0.05$ ). Mice were injected with 40 mg/kg pioglitazone Intraperitoneally, 4 h before the behavioral test, exhibited marked antidepressant-like effects in OVX mice ( $P \leq 0.01$ ,  $P \leq 0.05$  in FST and TST, respectively). Co-administration of sub-effective dose of L-NAME (2 mg/kg) with a sub-effective dose of pioglitazone (20 mg/kg) resulted in a strong antidepressant-like effect in OVX mice ( $P \leq 0.01$ ), whereas L-arginine inhibited this effect. The various treatments did not change the total locomotion of mice in OFT.

**Conclusion:** Antidepressant-like effects of pioglitazone may be associated with inhibition of the NO synthase/NO in OVX mice and provided a new strategy for depression.

**Keywords:** depression, mice, nitric oxide, ovariectomy, pioglitazone.