

Investigating the expression of N-methyl-D-aspartate receptors and cognitive function in children with attention-deficit hyperactivity disorder: A comparative study

Sajad Haghshenas^{1,2} , Mohammad Reza Zarrindast^{3*} , Mohammad Nasehi⁴,
Peyman Hassani Abharian¹, Solmaz Khalifeh⁴

1. Department of Neuroscience, Institute of Cognitive Sciences Studies, Tehran, Iran

2. Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

3. Department of Pharmacology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Neuroscience Research Center, Amir-Al Momenin Hospital, Azad University of Medical Science, Tehran, Iran

Abstract

Introduction: Clinical, genetic, and animal model studies have shown that N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors may play an active role in the occurrence of many neurological and mental disorders. A deficiency of NMDA receptors leads to disturbances in concentration and impulsive behavior. The present study measured the expression level of NR1 and NR2 proteins, which are the primary subunits of NMDA receptors.

Methods: First, the K-SADS test and Raven IQ test were taken, and then 70 subjects were included in the study in two groups: people with hyperactivity (50 people) and their peers in the control group (20 people). The IVA-2 test was performed, and blood samples were taken from both groups. Expression of NR1 and NR2 subunits was calculated using the western blotting method.

Results: The results revealed that the concentration of NR1 and NR2 proteins in the blood of people with hyperactivity is significantly lower than that of their peers in the control group. According to the concentration performance scores in the IVA-2 test, which showed a decrease in concentration performance in the experimental group compared to the control group, the lower concentration of NR1 and NR2 subunits can cause a decrease in performance attention and reduce cognitive symptoms.

Conclusion: This significant difference obtained in the results of this study shows the effectiveness of the expression of NR1 and NR2 subunits in NMDA receptors, and finally, the glutamatergic system in attention deficit hyperactivity disorder, its severity, and related cognitive symptoms. Indicatively, it can ultimately lead to the redefinition of the drug route and the creation of rehabilitation treatment protocols for this disorder.

Received: 22 Dec. 2023

Revised: 4 Jan. 2024

Accepted: 8 Jan. 2024

Keywords

Cognitive function

N-methyl-D-aspartate receptor

NR1

NR2


Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder

Corresponding author

Mohammad Reza Zarrindast,
Department of Pharmacology,
Tehran University of Medical
Sciences, Tehran, Iran

Email: Zarinmr@ams.ac.ir



 doi.org/10.30514/icss.25.4.111

Citation: Haghshenas S, Zarrindast MR, Nasehi M, Hassani Abharian P, Khalifeh S. Investigating the expression of N-methyl-D-aspartate receptors and cognitive function in children with attention-deficit hyperactivity disorder: A comparative study. *Advances in Cognitive Sciences*. 2024;25(4):111-123.

Extended Abstract

Introduction

N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors hold profound importance in shaping an individual's mental and physical health. These receptors, forming heterotetrametric complexes, play a pivotal role in synaptic plasticity, learning,

and memory. Dysfunction in NMDA receptors has been associated with a spectrum of neurological and psychiatric disorders, including Alzheimer's disease, schizophrenia, depression, and Attention-Deficit Hyperactivity

Disorder (ADHD). The intricate regulatory mechanisms of these receptors, involving subunit diversity, allow for fine-tuning of synaptic transmission. Therapeutically, drugs targeting NMDA receptors, such as ketamine for depression, underscore their crucial role in mental health. Ongoing research explores their involvement in physical health, with potential implications for conditions like ADHD. Understanding and modulating NMDA receptor function emerge as critical endeavors for promoting comprehensive well-being, highlighting the intricate interplay between molecular processes and overall health outcomes.

In this context, the present research aims to unravel the specific interplay between NMDA receptor subunits NR1 and NR2 and ADHD. It aims to elucidate the potential role of NR1 and NR2 receptors in the pathophysiology of ADHD and contribute valuable insights that may pave the way for more targeted therapeutic interventions in ADHD and potentially other neuropsychiatric disorders.

Methods

The study involved 70 male participants aged 6 to 15 years, comprising 50 individuals diagnosed with mixed ADHD and 20 age-matched healthy controls. Participants meeting DSM-IV criteria for mixed ADHD were recruited from the rehabilitation clinics in Tehran, Iran. Inclusion criteria specified ages between 6 and 15 years. Exclusively male participants were selected to minimize potential gender-related confounding factors. Additionally, individuals with a history of neurological or neuropsychological problems and severe physical illness were excluded from the research. Healthy controls were recruited through advertisements targeting children in some schools, screened, and matched for age and gender.

ADHD participants underwent a comprehensive diagnostic assessment conducted by an expert clinician involving pre-assessment questionnaires, semi-structured inter-

views aligned with DSM-5 criteria, and administration of the K-SADS-PL and IVA2 tests for enhanced diagnostic validity. The K-SADS-PL screening interview focused on ADHD symptoms, with responses rated on a scale. The IVA2 assessed attention and impulsivity through responses to auditory and visual stimuli and total attention quotient. Blood samples drawn without specific timing or fasting requirements were collected from both study and control groups, processed, and stored at -80°C . Serum samples were later used to quantify NR1 and NR2 receptor expression through western blotting, with fluorescence visualization and computer-assisted analysis software for relative abundance determination. All analyses were performed using SPSS software version 26.

Results

The investigation revealed noteworthy distinctions in the mean expression levels of NR1 and NR2 receptors between the experimental group (ADHD) and the healthy control group. Specifically, the mean expression of NR1 receptors in the ADHD group was found to be 97.7, significantly lower than the corresponding mean expression of 124.25 observed in the healthy control group, as indicated by the p-value of $P < 0.00001$, denoting statistical significance at $P < 0.05$. Similarly, the mean expression of NR2 receptors in the ADHD group, quantified at 154.6, demonstrated a significant variance from the mean expression of 173.25 in the healthy control group, corroborated by a p-value of $P < 0.00001$, thereby establishing statistical significance at $P < 0.05$. These findings underscore the substantial disparities in the expression profiles of NMDA glutamate receptors in individuals with ADHD compared to their neurotypical counterparts, providing valuable insights into the molecular underpinnings of this neurodevelopmental disorder. The decrease in the expression of these proteins in the ADHD group causes a decrease in cognitive symptoms, including attention quo-

tient, in this group compared to healthy people.

Conclusion

The current study revealed a significant link between ADHD and abnormal expression of NMDA glutamate receptors, particularly the NR1 and NR2 subunits, in the blood plasma of individuals with ADHD compared to healthy controls. This suggests a potential role for NMDA receptors in ADHD's pathophysiology, implying that impaired NMDA receptor function may contribute to the disorder's development. Dysfunctional NMDA receptors can impact dopamine and epinephrine levels in the brain, influencing ADHD symptoms. Notably, disruptions in NMDA receptors can lead to excessive and insufficient dopamine levels, contributing to hyperactivity, impulsivity, attention regulation difficulties, motivation, and focus issues. The findings highlight the need for a more comprehensive understanding of ADHD's neurobiological foundations and suggest potential therapeutic avenues targeting NMDA receptor function. Additionally, the study contributes to personalized medicine in ADHD and has broader implications for understanding brain function in neuropsychiatric disorders influenced by glutamatergic signalling, offering insights that deepen our comprehension of ADHD, provide therapeutic potential, and contribute to a broader understanding of brain function in neuropsychiatric contexts.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This article is extracted from the PhD dissertation with the approval ID IR.IUMS.REC.1398.1328. The research demonstrates adherence to ethical principles by ensuring adequate information provision, obtaining consent from participants, and upholding the principle of confidentiali-

ty concerning participants' information. Only researchers were allowed to access the data, and all digital files were password-protected. All efforts were made to minimize any possible harm to the participants. The research protocol was designed to eliminate any physical, psychological, or emotional harm. Participants were not exposed to any additional stress or discomfort during the study. The research process allowed participants the freedom to withdraw from the study at any point, respecting their autonomy and commitment to ethical research practices.

Authors' contributions

In this research, Mohammad Reza Zarrindast contributed to developing the initial idea and assisted with designing the study method and defining the hypothesis. Peyman Hassani Abharian assisted with diagnostic tests for cognitive features. Solmaz Khalifeh supervised the western blotting method, and Mohammad Nasehi contributed to the scientific discussion on data interpretation, and source support, and editing of the final draft.

Funding

The research was conducted without external financial support or funding. The first author provided all financial costs.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to all the participants and people who facilitated the implementation of this research.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted without any relationships that could potentially create a conflict of interest.

بررسی بیان گیرنده NMDA و عملکردهای شناختی در کودکان مبتلا به اختلال نقص توجه و بیش‌فعالی: مطالعه تحلیلی مقایسه‌ای

سجاد حق‌شناس^۱، محمدرضا زرین‌دست^{۲*}، محمد ناصحی^۳، پیمان حسنی ابهریان^۱، سولماز خلیفه^۴

۱. دپارتمان علوم اعصاب، پژوهشکده علوم شناختی، تهران، ایران

۲. دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳. دپارتمان فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

۴. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، بیمارستان امیرالمومنین، دانشگاه آزاد پزشکی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: یافته‌های مطالعات بالینی، ژنتیکی و مدل حیوانی نشان داده‌اند که گیرنده‌های (N-methyl-D-aspartate (NMDA) ممکن است نقش فعالی در بروز بسیاری از اختلالات اعصاب و روان داشته باشند و نقص درگیرنده‌های NMDA منجر به اختلال در تمرکز و بروز رفتارهای تکانشگری می‌شود. سطح بیان پروتئین‌های NR1 و NR2 که از زیرواحدهای اصلی گیرنده‌های NMDA می‌باشند در این مطالعه مورد سنجش قرار گرفت.

روش کار: ابتدا آزمون K-SADS و تست هوش ریون گرفته شد، سپس آزمودنی‌ها در تعداد ۷۰ نفر در دو گروه افراد مبتلا به بیش‌فعالی (۵۰ نفر) با همسالان خود در گروه کنترل (۲۰ نفر) وارد مطالعه شدند. تست IVA-2 انجام گرفت و از هر دو گروه، نمونه خونی گرفته و با استفاده از روش وسترن‌بلاتینگ، بیان زیرواحدهای NR1 و NR2 محاسبه گردید. **یافته‌ها:** نتایج نشان دادند، غلظت پروتئین‌های NR1 و NR2 در خون افراد دارای بیش‌فعالی به مقدار قابل توجهی کمتر از همسالان خود در گروه کنترل می‌باشد. با توجه به نمرات بهره تمرکز در تست IVA-2 که نشان‌دهنده کاهش بهره تمرکز در افراد گروه آزمایش به نسبت گروه کنترل بود پس مشخص می‌کند که غلظت پایین‌تر زیرواحدهای NR1 و NR2 می‌تواند باعث کاهش بهره تمرکز و نیز کاهش زیرواحدهای شناختی باشد.

نتیجه‌گیری: این اختلاف معنادار در نتایج این مطالعه، اثربخشی بیان زیرواحدهای NR1 و NR2 در گیرنده‌های NMDA و در نهایت سیستم گلوتاماترژیک را در اختلال نقص توجه و بیش‌فعالی، شدت آن و علایم شناختی مرتبط با آن، مشخص می‌کند که در نهایت می‌تواند منجر به تبیین مجدد مسیر دارویی و ایجاد پروتکل‌های درمان توان‌بخشی در این اختلال گردد.

دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۱

اصلاح نهایی: ۱۴۰۲/۱۰/۱۴

پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۸

واژه‌های کلیدی

عملکرد شناختی

گیرنده NMDA

NR1

NR2

اختلال نقص توجه و بیش‌فعالی

نویسنده مسئول

محمدرضا زرین‌دست، دپارتمان فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

ایمیل: Azizih@modares.ac.ir



doi.org/10.30514/ics.25.4.111

مقدمه

بخش‌های اتصال پروتئین-پروتئین است (۱، ۲). هر کدام از این بخش‌ها نقش خاصی در عملکرد کلی گیرنده ایفا می‌کنند (۲). این اتصال‌ها به گیرنده این امکان را می‌دهند که با سایر پروتئین‌ها و مسیرهای سیگنال‌دهی در داخل سلول متصل شوند. اتصال همزمان به گلیسین و گلوتامات برای فعال‌سازی گیرنده و باز شدن کانال ضروری می‌باشد (۲). از لحاظ عملکردی گیرنده‌های NMDA نقش بسیار حیاتی در

گیرنده‌های NMDA از نظر ساختار از انواع گیرنده‌های هتروترامتری و یکی از انواع اصلی گیرنده‌های گلوتامات می‌باشند که از دو زیرواحد اصلی NR1 و NR2 تشکیل شده‌اند (۱). این گیرنده‌ها از چهار بخش اصلی تشکیل می‌شوند: بخش نخستین، بخش متصل‌کننده آگونیست که به لیگاند‌های گیرنده متصل می‌شود، بخش تراکم‌غشایی که بخش پایانی کربوکسیلی که در قسمت پایانی گیرنده قرار دارد و شامل

کتامین و فنسیکلیدین (PCP) به عنوان مخدرها استفاده شده‌اند و همان‌طور که قبلاً اشاره شد، اثرات درمانی بالقوه‌ای در درمان اختلال افسردگی، اختلالات عاطفی و عصبی دیگر دارند (۱۱). به عنوان مثال، Duman و Li اثر آنتاگونیست‌های انتخابی NR2B مانند MK-0657 و CP-101,606 را بررسی کردند و پتانسیل درمانی آن را برای اختلال افسردگی ثابت کردند (۱۲). علاوه بر این، مطالعات پیش‌دارویی همچون مطالعه انجام شده توسط Large نشان داد که آنتاگونیست‌های انتخابی نسبت به زیرواحد NR2B گیرنده NMDA، مانند آیفنپرودیدیل و Ro25-6981، اثرات شبیه به آنتی‌سایکوتیک در مدل‌های حیوانی اسکیزوفرنی دارند (۱۳). با این حال، شواهدی که به طور پایدار نشان‌دهنده تفاوت‌های در کل سطوح گیرنده‌های NR1 و NR2 بین افراد مبتلا به اسکیزوفرنیا و افراد بدون این اختلال است، وجود ندارد (۱۳) علاوه بر آنها، آنتاگونیست‌های انتخابی NR2A به عنوان یک درمان بالقوه برای بیماری آلزایمر پیشنهاد شده‌اند (۱۴) به عنوان مثال، دی-سایکلوسرین، یک آگونیست گیرنده NMDA نشان داده شده است که یادگیری و حافظه را بهبود می‌بخشد و ممکن است اثرات درمانی برای درمان نقص‌های شناختی در اختلالاتی چون بیماری آلزایمر داشته باشد (۱۵).

شواهد روزافزون وجود چنین رابطه‌ای را در اختلال نقص‌توجه و بیش‌فعالی هم پیشنهاد داده‌اند. در واقع فرضیه دوپامین بر این مبنا رایج شده است که هر دو سیستم دوپامین و گلوتامات در اختلال نقص‌توجه و بیش‌فعالی نقش دارند. به طور خاص، این فرضیه در اختلال ADHD پیشنهاد می‌دهد که ناهنجاری در عملکرد و میزان انتقال‌دهنده عصبی دوپامین در بروز و شدت این اختلال نقش مهمی را بازی می‌کند (۱۶). این فرضیه بر پایه‌ای مطالعاتی ساخته شده که ثابت کرده است که تجویز داروهای محرکی که سطح دوپامین را افزایش می‌دهند، در درمان علائم این اختلال مؤثر هستند (۱۶). در ضمن مطالعات ژنتیک، ارتباطاتی بین آغاز و شدت علائم ADHD و همچنین تعداد و عملکرد گیرنده‌های گلوتامات را نشان داده‌اند (۱، ۵). به همین ترتیب، مطالعات دیگر ثابت کرده‌اند که ضعف در عملکرد گیرنده‌های گلوتامات می‌تواند به نقص در سیستم‌های دوپامینی و به علائمی چون افسردگی، اضطراب، مشکل در تمرکز و اختلال حافظه منجر شوند (۵، ۶). با این حال، قطعیت این مطالعات هنوز تایید نشده است. به دلیل یافته‌های متضاد گزارش شده در مطالعات مختلف، نگاه پژوهشگران به مطالعات بیشتر با مبنای ژنتیکی، شیوع بالای اختلال نقص‌توجه و بیش‌فعالی در کودکان، تاثیرات منفی و زیاد اجتماعی و شخصی این اختلال، نبود داروهای مطمئن و پروتکل‌های دقیق علمی در درمان این اختلال،

انعطاف‌پذیری سیناپسی، یادگیری و حافظه، همچنین در فیزیوپاتولوژی اختلالات عصبی و روان‌پزشکی ایفا می‌کنند (۲). Hansen و همکاران نقش این گیرنده‌ها در ایجاد تقویت پتانسیل بلندمدت (LTP) را بررسی کرده و یک مدل از انعطاف‌پذیری سیناپسی پیشنهاد داده‌اند که در آن فعال‌سازی گیرنده‌های NMDA منجر به ورود یون کلسیم و فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی داخلی می‌شود که ارتباطات سیناپسی را تقویت می‌کنند (۳). تنوع زیاد زیرواحدهای گیرنده‌های NMDA امکان تنظیم دقیق انتقال سیناپسی را فراهم می‌کند و در نتیجه نقص گیرنده‌های NMDA در ایجاد اختلالات عصبی و روان‌پزشکی اهمیت دارد (۴). ارتباط بین نقص گیرنده‌های NMDA و وضعیت شناختی در برخی اختلالات روان‌پزشکی به خوبی ثابت شده است. مطالعه Liu و همکاران نشان داد که نقص گیرنده‌های NMDA ممکن است در شیوع اختلال شناختی در بیماران مبتلا به بیماری آلزایمر مهم باشد (۵). همچنین، در مطالعه دیگری از Coyle و همکاران ارتباط بین نقص عملکرد گیرنده‌های NMDA، به خصوص کاهش فعالیت زیرواحد NR2A و رشد نقص‌های شناختی مشاهده شده در اسکیزوفرنی را تایید کرد (۶). علاوه بر این، نقص این گیرنده‌ها ممکن است نقشی مهمی در بروز و شدت افسردگی ایفا کند (۷). Sanacora و همکاران گزارش داده‌اند که مصرف کتامین، یک مهارکننده غیر رقابتی گیرنده NMDA، تأثیرات ضدافسردگی سریع و قابل‌توجهی در بیماران مبتلا به افسردگی مقاوم به درمان داشته است (۸). به همین دلیل، چندین داروی درمانی که با گیرنده NMDA ارتباط دارند، برای درمان اختلالات افسردگی ساخته شده است. Dang و همکاران یک مرور جامع از داروهای نوین و عملکرد آنها در تنظیم سیستم گلوتاماتیک برای درمان افسردگی را تنظیم کردند (۹). نکته دیگر این است که گیرنده‌های NMDA به فاکتورهای اصلی اختلالات نقص‌توجه و بیش‌فعالی (ADHD) (Attention Deficit Hyperactivity Disorder) مرتبط شده‌اند (۱۰). هرچند مکانیسم‌های دقیق هنوز کاملاً درک نشده‌اند اما مطالعات نشان می‌دهند که نقص در عملکرد گیرنده‌های NMDA ممکن است نقشی مهم در علائم مشاهده شده در این اختلالات داشته باشد (۱۰) که ممکن است به علت انعطاف‌پذیری سیناپسی ناکافی باشد که بر عملکرد صحیح گیرنده‌های NMDA اثر دارد (۱۰). پژوهش‌های متعددی در خصوص نقش گیرنده‌های NMDA در اختلالات نقص‌توجه و بیش‌فعالی از نگاه ژنتیک وجود دارد ولی بررسی‌های بیشتری لازم است تا نقش خاص آنها به طور کامل درک شود و درمان‌های هدفمندتری ارائه گردد (۹، ۱۰).

از دیدگاه فارماکولوژیک، آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA مانند

پرستار مجرب انجام گرفت و نمونه‌های خون برای روند سانتیریفیوژ و جداسازی پلاسما و انجام وسترن‌بلاتینگ به بیمارستان امیرالمومنین تهران ارسال شد. همچنین از تمامی شرکت‌کنندگان، آزمون تمرکزی IVA-2 انجام گرفت. در نهایت داده‌های این آزمون‌ها جهت بررسی و تفاسیر آماری با نرم‌افزار SPSS-26 مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

یافته‌های حاصل از وسترن‌بلاتینگ ابتدا با نرم‌افزار imagej به صورت باند ظاهر و به صورت کمی محاسبه شد. هر یک از این باندها منعکس‌کننده میزان نسبی حجم مولکولی در یک گروه بود. هر گروه شامل ۵ عدد نمونه خونی منتسب به ۵ کودک می‌باشد. از حجم مولکولی پروتئین‌ها در هر گروه میانگین گرفته شد سپس میانگین کل برای همه گروه‌ها محاسبه گردید. در مورد نتایج تست IVA-2 متناظر با هر گروه ۵ نفری تست وسترن‌بلات، میانگین بهره تمرکزی آنها محاسبه شد. جهت تحلیل آماری ویژگی‌های متغیرهای مستقل این مطالعه (میزان NR1 و میزان NR2) و متغیرهای وابسته (بهره تمرکزی و شدت اختلال) از شاخص‌های فراوانی، میانگین و انحراف معیار و همچنین جهت مقایسه دو گروه آزمایش و کنترل از آزمون T-test استفاده شد. لازم به ذکر است که از تحلیل رگرسیون و ضریب همبستگی پیرسون جهت بررسی رابطه بین متغیرهای مستقل و وابسته بهره گرفته شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-26 صورت گرفت. در نهایت مقدار P به دست آمد تا معنادار بودن نتیجه مشخص گردد. نتیجه محاسبات نشان داد که ضریب همبستگی کمتر از $0/05$ ($P < 0/05$) می‌باشد.

ابزار

پرسشنامه K-SADS

این مصاحبه در مورد کودکان ۶ تا ۱۸ سال به کار برده می‌شود. این مصاحبه نیمه‌ساختاریافته به منظور ارزیابی اپیزودهای فعلی و قبلی بیماری‌های روانی در کودکان و نوجوانان بر اساس DSM-V طراحی شده است که شامل ۵ گروه تشخیصی می‌باشد: (۱) اختلالات خلقی شامل افسردگی و مانیا (۲) اختلالات سایکوز (۳) اختلالات اضطرابی شامل فوبیای اجتماعی، آگورافوبی، فوبیای خاص، اختلال وسواس فکری، اختلال اضطراب جدایی، اختلال اضطراب فراگیر، اختلال هراس و اختلال استرس پس از حادثه (۴) اختلالات رفتاری از جمله ADHD، اختلال سلوک، اختلال نافرمانی مقابله‌ای (۵) سوء مصرف مواد، اختلالات تیک، اختلالات خوردن و اختلال شبادراری و دفع. مصاحبه با سوالاتی در مورد جمعیت‌شناسی اولیه آغاز می‌شود و اطلاعات مربوط

ضرورت بررسی مسیرهای متنوع فیزیوپاتولوژی در این اختلال، نیاز به پژوهش‌های دقیق‌تر و بیشتر در این زمینه را ضروری می‌گرداند. فرض گردیده است که مقدار بیان زیرواحدهای NR1/NR2 در افراد دارای اختلال نقص توجه و بیش‌فعالی با افراد نرمال متفاوت است و به همین دلیل مطالعه حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای بین بیان زیرواحدهای NR1/NR2 در افراد دارای اختلال نقص توجه و بیش‌فعالی و ارتباط آن با مهارت‌های تمرکزی و شناختی، طراحی و اجرا شد.

روش کار

شرکت‌کنندگان

پس از دریافت موافقت برای پژوهش و تایید کد اخلاقی از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران، آزمون‌های تشخیصی و غربال‌گری تهیه و آماده‌سازی شدند و نامه ارجاع به کلینیک‌های توان‌بخشی دریافت شد. معیارهای ورود شامل موارد زیر برای داوطلبان تعیین شد: (۱) مطابقت با معیارهای تشخیصی ADHD ترکیبی که توسط مصاحبه بالینی ساختاریافته و پزشک متخصص اعصاب و روان کودکان ارزیابی شده است، (۲) سن بین ۶ تا ۱۵ سال و (۳) عدم مصرف دارو حداقل یک هفته قبل از شروع مطالعه، (۴) عدم وجود اختلال همراه و (۵) جنسیت مرد. انتخاب یک جنس برای کاهش تفاوت‌های جنسی انجام شد. معیارهای خروج شامل عدم تمایل فرد به ادامه همکاری، بروز مشکلات عصبی و عصبی-روانی شدید، بروز علائم تشنج و اجبار برای مصرف دارو در حین انجام مطالعه بود. از مراجع‌کنندگان به کلینیک‌های توان‌بخشی شهر تهران به عنوان داوطلب برای آزمودنی‌های دارای اختلال و از افرادی در مدارس که در طیف سنی مورد نظر بودند به عنوان گروه کنترل استفاده شد. در ابتدا از همه داوطلبان آزمون هوش ریون جهت غربال‌گری هوش نرمال انجام گرفت سپس پرسشنامه K-SADS با هدف یافتن نمونه‌های افراد ADHD بدون اختلال همراه از افراد مبتلا به بیش‌فعالی انجام شد و پزشک متخصص اعصاب و روان کودکان نیز در نهایت آنها را ارزیابی نمود و تعداد نمونه‌های نهایی وارد دو گروه مطالعه شدند. در نتیجه نمونه نهایی از ۷۰ داوطلب مذکر در سنین ۶ تا ۱۵ سال تشکیل شد که شامل ۵۰ داوطلب در گروه آزمون (ADHD ترکیبی) و ۲۰ نفر در گروه کنترل می‌باشد. علت بیشتر بودن داوطلبان گروه آزمون به دلیل افزایش توان مطالعه می‌باشد. پیش از انجام ارزیابی‌ها و آزمون‌های شناختی، توضیحات لازم در خصوص روش و هدف مطالعه به تمام شرکت‌کنندگان و والدین آنها داده شد و حداقل یک هفته قبل از نمونه‌گیری، همه آزمودنی‌ها از مصرف دارو منع شدند. سپس خون‌گیری به مقدار ۷ سی‌سی از رگ دست شرکت‌کنندگان توسط

سختی چیده شده است (۱۹). در محیطی ساکت و بدون محرکات حواس‌پرت‌کن، از آزمون‌گر با تجربه خواسته شد تا آزمون هوش را از کودکان به صورت انفرادی بگیرد و در نهایت مقدار بهره هوشی افراد به دست آمد.

آزمون وسترن‌بلا تینگ

وسترن‌بلا تینگ یا روش لکه‌گیری غربی به نام‌های لکه‌گیری پروتئین و یا ایمونوبلا تینگ هم شناخته شده است. این روش برای تشخیص و تجزیه و تحلیل پروتئین‌ها در پژوهش‌های بیولوژیکی و مولکولی به جهت اندازه‌گیری سطح بیان پروتئین‌های خاص به ویژه پروتئین‌هایی که فراوانی بالایی ندارند و در محیط‌های پیچیده مانند لیزیت‌های سلولی یا پلاسما خون قرار دارند، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۰). در علوم اعصاب، روش وسترن‌بلا ت به طور گسترده‌ای برای مطالعه بیان نسبی پروتئین‌های هدف مرتبط با نورون‌ها با آنتی‌بادی‌های خاص مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این پژوهش، وسترن‌بلا ت به عنوان یک ابزار مورد اعتماد برای شمارش تعداد و غلظت گیرنده‌های NR1/NR2 در نمونه‌های پلاسما خون استفاده شده است. به این ترتیب که نمونه‌های خون از هر دو گروه آزمایش و کنترل با جمع‌آوری ۷ میلی‌لیتر خون از ورید آنتکیوبیتال گردآوری شدند (۲۰). خون جمع‌آوری شده در لوله‌های استاندارد قرار گرفت و سپس با سرعت $1000 \times g$ به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ و شستشو، نمونه‌های سرم جدا شده و سریعاً به یک فریزر تنظیم شده با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. این نمونه‌ها تحت شرایط یکسان برای هر دو گروه بیماران و افراد داوطلب نگهداری شدند. به طور خلاصه، با استفاده از روش وسترن‌بلا کینگ، پروتئین‌های پلاسما بر روی ژل SDS باز کننده ۷ درصد جدا شدند و به غشا انتقال یافتند (۲۰). غشا با آنتی‌بادی‌های بتا-اکتین مخلوط شد، پس از مراحل شستشو باندهای پروتئین متناظر با استفاده از فلورسانس دیده شدند. شدت این باندها سپس با استفاده از نرم‌افزار تجزیه و تحلیل تصویر به کمک رایانه اندازه‌گیری شد تا فراوانی نسبی گیرنده‌ها مشخص شود (شکل ۱ و ۲)

به ارائه شکایات و مشکلات روان‌پزشکی قبلی نیز به دست می‌آید. این پرسشنامه با توجه به مصاحبه با والدین، کودک و جمع‌بندی اطلاعات از تمامی منابع موجود تکمیل می‌گردد. اعتبار و حساسیت نسخه فارسی این آزمون بسیار بالا می‌باشد (۱۷).

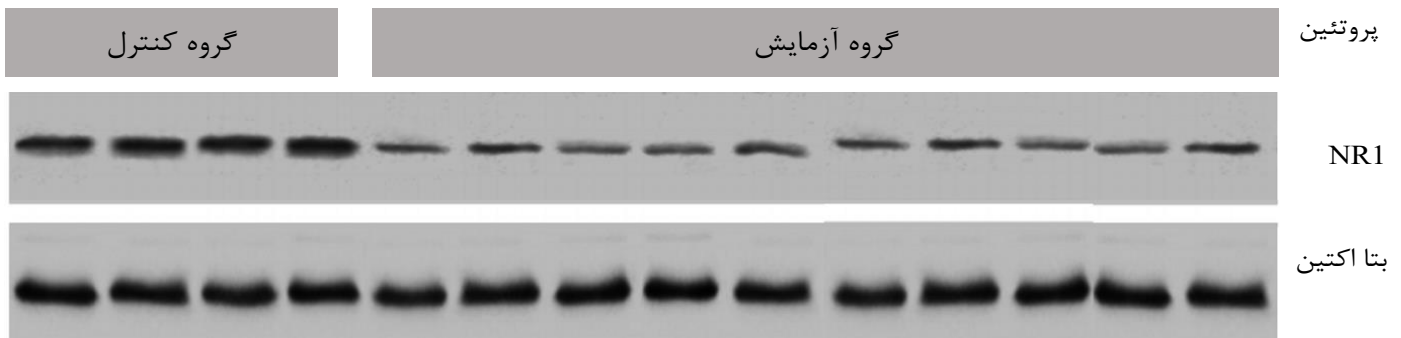
آزمون عملکرد پیوسته دیداری و شنیداری (IVA-2)

برای تشخیص دقیق‌تر اختلال ADHD و ویژگی‌های تمرکزی و نیز یافتن بهره تمرکزی از آزمون عملکرد پیوسته دیداری و شنیداری IVA-2 استفاده شد. یک آزمون پیوسته بینایی-شنوایی می‌باشد که دارای پانصد محرک یک و نیم ثانیه‌ای به صورت محرکات تصادفی بینایی و شنوایی است و در کل به مدت پانزده دقیقه طول می‌کشد (۱۸). در محیطی ساکت و بدون محرک مخدوش‌کننده تمرکزی، از شرکت‌کننده خواسته شد که جلوی لپ‌تاپ نشسته و با دیدن و شنیدن عدد ۱ دکمه مورد نظر را فشار داده و با شنیدن و یا دیدن عدد ۲ خود را مهار کرده و دکمه را فشار ندهد. این آزمون عواملی مثل بازداری و مهار، توجه پایدار، توجه متمرکز و گوش‌بزرگی را در دو مسیر بینایی و شنیداری در فرد می‌سنجد و با محاسبه این مقادیر بهره تمرکزی بینایی و شنوایی و در نهایت بهره تمرکزی کل را برای هر فرد ارائه می‌دهد. این آزمون قدرت طبقه‌بندی کردن انواع اختلال ADHD را نیز دارد. سن اجرا در این تست بالای ۶ سال می‌باشد (۱۸).

آزمون ماتریس‌های پیش‌رونده ریون

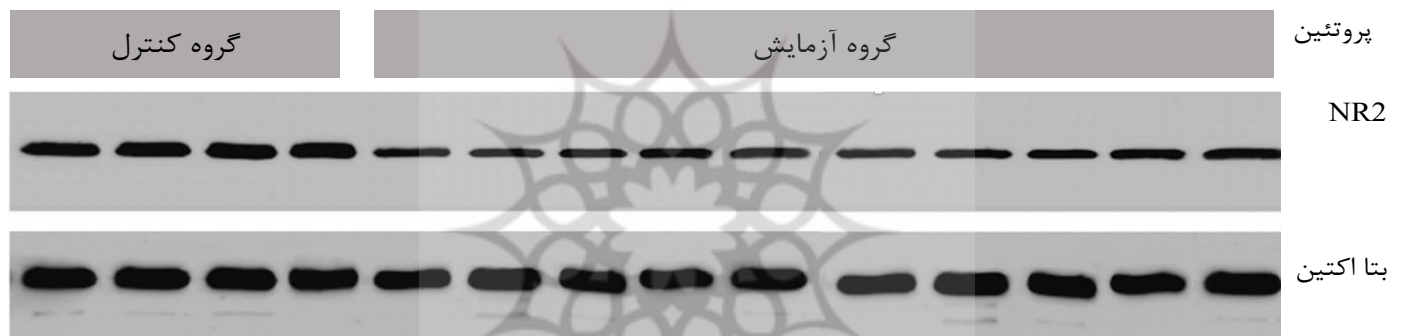
ماتریس‌های پیش‌رونده ریون (Raven) که اغلب به آن به عنوان ماتریس ریون یا (RPM) نیز گفته می‌شود، یک آزمایش هوش غیر کلامی است که معمولاً در محیط‌های آموزشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۹). این معمولاً یک آزمایش ۶۰ ماده‌ای است که در اندازه‌گیری استدلال انتزاعی مورد استفاده قرار می‌گیرد و یک تخمین غیر کلامی از هوش سیال فرد محسوب می‌شود. این ابزار رایج‌ترین و پرکاربردترین آزمایش است که برای گروه‌های مختلف از ۵ ساله تا افراد مسن اجرا می‌شود. این آزمون از ۶۰ سؤال چند گزینه‌ای ساخته شده است که به ترتیب

نتیجه آزمون وسترن بلائینگ



هر باند شامل ۵ نمونه پلاسمای خونی از ۵ شرکت کننده می‌باشد.

شکل ۱. زیر واحد NR1 در پلاسمای خون گروه ADHD و گروه کنترل در مقایسه با آنتی‌بادی بتا اکتین



هر باند شامل ۵ نمونه پلاسمای خونی از ۵ شرکت کننده می‌باشد.

شکل ۲. زیر واحد NR2 در پلاسمای خون در گروه ADHD و گروه کنترل در مقایسه با آنتی‌بادی بتا اکتین

یافته‌ها

کنترل می‌باشد. نتایج حاصل از این داده‌ها فرضیه صفر را قویا رد می‌کند و ضریب همبستگی کمتر از ۰/۰۵ را نشان می‌دهد پس تفاوت معناداری بین سطح بیان پروتئین‌های NR1 و NR2 در افراد سالم و افراد مبتلا به اختلال نقص توجه و بیش‌فعالی وجود دارد ($P < 0/05$). با استفاده از شاخص‌های توصیفی (جدول ۷) میانگین و انحراف معیار متغیرها محاسبه شد و با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون (جدول ۸) و تحلیل رگرسیون ارتباط بین بیان زیرواحدهای NR1 و NR2 با بهره‌تمرکزی و شدت اختلال بررسی شد. در بررسی و تحلیل رگرسیون نیز اثر متغیرهای مستقل NR1 و NR2 به صورت معادله خطی روی متغیر وابسته بهره‌تمرکزی بررسی شد. بررسی نتایج داده‌ها نشان داده است که بین سطح بیان گیرنده‌های NR1 و NR2 و متغیر وابسته بهره‌تمرکزی در آزمون IVA-2 در گروه آزمایش ارتباط معناداری وجود دارد به طوری که کاهش سطح بیان این گیرنده‌ها منجر به کاهش

با توجه به متغیرهای مطالعه که بیان زیرواحدهای NR1 و NR2 به عنوان متغیر مستقل و بهره‌تمرکزی افراد، متغیر وابسته می‌باشند، میانگین بیان پروتئین‌های NR1 در گروه آزمایش ۹۹/۷ MW/kDa بوده، در حالی که این میانگین برای بیان گیرنده‌های NR1 در گروه کنترل ۱۲۴/۲۵ MW/kDa می‌باشد (جدول ۱ و ۲). از طرف دیگر میانگین بیان پروتئین‌های NR2 در گروه کودکان بیش‌فعال ۱۵۴/۵۶ kDa بوده و این میانگین در گروه کودکان سالم ۱۷۳/۲۵ MW/kDa ثبت شده است (جدول ۳ و ۴). میانگین بهره‌هوشی در تمامی افراد شرکت کننده در این مطالعه در طیف نرمال و ۹۲ تا ۱۰۳ بود. میانگین بهره‌تمرکزی در گروه آزمایش ۸۰/۸ و این میانگین در گروه کنترل ۱۰۸/۲۵ بود (جدول ۵ و ۶) که نشان‌دهنده ضعف مهارت‌های تمرکزی و شدت علائم بیش‌فعالی در گروه آزمایش به نسبت گروه

کرده و شدت اختلال بیش فعالی افزایش می‌یابد. لازم به ذکر است که اثر متغیر مستقل بیان زیر واحد NR1 بر متغیر وابسته بهره تمرکزی بیشتر از زیر واحد NR2 بر بهره تمرکزی می‌باشد. مجدد با استفاده از فرمول همبستگی پیرسون نیز اثر هماهنگ متغیرهای مستقل NR1 و NR2 بر متغیر وابسته بهره تمرکزی محاسبه شد.

نمرات بهره تمرکزی در گروه کنترل شده است. همچنین بین سطح بیان گیرنده‌های NR1 و NR2 و متغیر وابسته مهارت‌های شناختی و در نتیجه افزایش شدت اختلال بیش فعالی نیز ارتباط معناداری وجود دارد به این صورت که با کاهش سطح بیان زیر واحدهای NR1 و NR2، متغیر وابسته مهارت‌های شناختی نیز در گروه آزمایش کاهش پیدا

جدول ۱. میزان بیان پروتئین‌های NR1 در گروه آزمایش

گروه آزمایش	۱ گ	۲ گ	۳ گ	۴ گ	۵ گ	۶ گ	۷ گ	۸ گ	۹ گ	۱۰ گ	جمع
تعداد نمونه	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵۰
حجم ملکولی	۹۵	۹۸	۹۳	۹۲	۱۰۰	۱۰۳	۹۸	۹۹	۹۳	۹۳	۹۶۴

تعداد: ۵۰ نفر در گروه آزمایش، میانگین بیان پروتئین‌های NR1 ۹۷/۷ می‌باشد.

جدول ۲. میزان بیان پروتئین‌های NR1 در گروه کنترل

گروه آزمایش	۱ گ	۲ گ	۳ گ	۴ گ	جمع
تعداد نمونه	۵	۵	۵	۵	۲۰
حجم ملکولی	۱۱۲	۱۲۸	۱۳۰	۱۲۷	۴۹۷

تعداد: ۲۰ نفر در گروه کنترل، میانگین بیان پروتئین‌های NR1 ۱۲۴/۲۵ می‌باشد.

جدول ۳. میزان بیان پروتئین‌های NR2 در گروه آزمایش

گروه آزمایش	۱ گ	۲ گ	۳ گ	۴ گ	۵ گ	۶ گ	۷ گ	۸ گ	۹ گ	۱۰ گ	جمع
تعداد نمونه	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵۰
حجم ملکولی	۱۶۳	۱۶۸	۱۵۰	۱۴۶	۱۴۰	۱۶۰	۱۶۲	۱۵۸	۱۵۰	۱۴۹	۱۵۴۶

تعداد: ۵۰ نفر در گروه آزمایش، میانگین پروتئین‌های NR2 ۱۵۴/۶ می‌باشد.

جدول ۴. میزان بیان پروتئین‌های NR2 در گروه کنترل

گروه آزمایش	۱ گ	۲ گ	۳ گ	۴ گ	جمع
تعداد نمونه	۵	۵	۵	۵	۲۰
حجم ملکولی	۱۸۰	۱۶۰	۱۷۰	۱۸۳	۶۹۳

تعداد: ۲۰ نفر در گروه کنترل، میانگین پروتئین‌های NR2 ۱۷۳/۲۱ می‌باشد.

جدول ۵. بهره تمرکزی در گروه آزمایش (نتایج کلی تست IVA-2)

گروه آزمایش	۱ گ	۲ گ	۳ گ	۴ گ	۵ گ	۶ گ	۷ گ	۸ گ	۹ گ	۱۰ گ	جمع
تعداد نمونه	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵۰
بهره تمرکزی	۷۸	۹۱	۸۳	۷۹	۸۰	۷۸	۷۷	۷۸	۸۲	۸۲	۸۰۸

تعداد ۵۰ نفر گروه آزمایش، میانگین بهره تمرکزی ۸۰/۸ می‌باشد.

جدول ۶. بهره تمرکزی در گروه کنترل (نتایج کلی تست IVA-2)

گروه آزمایش	۱ گ	۲ گ	۳ گ	۴ گ	جمع
تعداد نمونه	۵	۵	۵	۵	۲۰
بهره تمرکزی	۱۱۳	۱۰۴	۱۰۳	۱۱۳	۴۳۳

تعداد: ۲۰ نفر گروه کنترل، میانگین بهره تمرکزی ۱۰۸/۲۵ می‌باشد.

جدول ۷. شاخص میانگین، انحراف معیار و پراکندگی هر متغیر در هر گروه

تعداد	میانگین	انحراف معیار	پراکندگی	بیشینه	کمینه	طیف
۱۰	۹۷/۷۰۰۰	۴/۲۴۳۹۵	۱۸/۰۱۱	۱۰۵	۹۳	ADHD در NR1
۴	۱۲۴/۲۵۰۰	۸/۲۶۱۳۶	۶۸/۲۵۰	۱۳۰	۱۱۲	NR1 در گروه کنترل
۱۰	۱۵۴/۶۰۰۰	۸/۸۵۹۴۰	۷۸/۴۸۹	۱۶۸	۱۴۰	ADHD در گروه NR2
۴	۱۷۳/۲۵۰۰	۱۰/۴۳۶۳۱	۱۰۸/۹۱۷	۱۸۳	۱۶۰	NR2 در گروه کنترل
۱۰	۸۰/۸۰۰۰	۴/۱۳۱۱۸	۱۷/۰۶۷	۹۱	۷۷	بهره تمرکزی در گروه ADHD
۴	۱۰۸/۲۵۰۰	۵/۵۰۰۰۰	۳۰/۲۵۰	۱۱۳	۱۰۳	بهره تمرکزی در گروه کنترل

جدول ۸. ضریب همبستگی پیرسون

تعداد ۱۴ نفر	NR1	NR2	بهره تمرکزی	بهره تمرکزی
	۰/۵۳۴*	۰/۷۶۲**	۰/۸۳۴**	
۰/۰۴۹	۰/۰۰۲	۰/۰۴۹	NR2	
۰/۸۳۴**	۰/۷۶۲**	۱	بهره تمرکزی	
۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰		

$P < 0.01^{**}$, $P < 0.05^*$

بحث

فیزیوپاتولوژی ADHD تایید می‌کند و نشان‌گر این موضوع است که نقص عملکرد گیرنده‌های NMDA ممکن است با شدت بروز علایم این اختلال ارتباط داشته باشد. اختلال در گیرنده‌های NMDA می‌تواند تأثیرات پیچیده‌ای بر سطوح انتقال‌دهنده‌های عصبی مانند دوپامین و اپینفرین در مغز داشته باشد که می‌تواند باعث افزایش علایم ADHD گردد. از این یافته‌ها می‌توان برای چربی عدم اثربخشی بسیاری از مسیره‌های دارویی حال حاضر بر اختلال بیش‌فعالی بهره برد و نیز با مطالعات بیشتر می‌توان مسیره‌های درمان دارویی و ایجاد پروتکل‌های توان‌بخشی شناختی را برای این افراد استفاده کرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق در پژوهش

این پژوهش با کد اخلاق به شماره IR.IUMS.REC.1398.1328 از دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفت. پس از ارائه اطلاعات دقیق در مورد مطالعه، موافقت‌نامه‌های کتبی از والدین و کودکانی که در این پژوهش شرکت کردند، دریافت شد. علاوه بر این محرمانه بودن اطلاعات جمع‌آوری شده تضمین شد. تمام اطلاعات شخصی و حساس جمع‌آوری شده از شرکت‌کنندگان در تمام طول و بعد از اتمام پژوهش به طور محرمانه و بدون اسم نگه‌داری شد. اطلاعات شناسایی مانند نام‌ها و جزئیات تماس‌ها حذف و با کدهای خاص جایگزین شدند تا ناشناسی شرکت‌کنندگان تضمین شود. فقط پژوهشگران مجاز به دسترسی به داده‌ها بودند و تمام پرونده‌های دیجیتال دارای رمز عبور بودند. تمام تلاش‌ها به کار گرفته شد تا هرگونه آسیب ممکن به شرکت‌کنندگان کاهش یابد. پروتکل پژوهش به صورتی طراحی شد که هرگونه آسیب فیزیکی، روانی یا عاطفی از بین برود. شرکت‌کنندگان در طول مطالعه در معرض هیچ استرس یا ناراحتی اضافی نبودند.

مشارکت نویسندگان

در این پژوهش، محمدرضا زرین‌دست ایده ابتدایی را ارائه نمودند و طراحی روش تحقیق و تعریف فرضیه را بر عهده داشتند. پیمان حسینی ابهریان انتخاب و اجرای آزمون‌های تشخیصی، غربال‌گری و شناختی، فراهم آوردن گروه نمونه و ارائه شماری از منابع مورد نیاز را عهده‌دار بودند. سولماز خلیفه به نظارت بر روش وسترن‌بلاتینگ و محمد ناصحی به بحث علمی برای تفسیر داده‌ها و پشتیبانی منابع و ویرایش نهایی کمک نمودند.

منابع مالی

تمام هزینه‌های این پژوهش توسط نویسنده اول پرداخت شده و

همان‌طور که در مطالعات متعددی مرتبط با پاداش، انگیزه و توجه نشان داده شده است گیرنده‌های NMDA نقش حیاتی در تنظیم آزادسازی دوپامین در مغز دارند (۱۶). وقتی گیرنده‌های NMDA به درستی عمل نکنند، می‌تواند تعادل ترشح دوپامین را مختل کند (۱۶). به این ترتیب که منجر به ترشح دوپامین بیش از حد یا کمبود آن در مناطق مختلف مغز شود (۲۱). ترشح بیش از حد دوپامین در برخی از مناطق مغز می‌تواند منجر به بیش‌فعالی و مشکلات در تنظیم توجه گردد که از علایم بارز اختلال نقص‌توجه و بیش‌فعالی می‌باشند (۲۱). علاوه بر این، سطوح کمتر دوپامین می‌تواند منجر به مشکلات در انگیزه، تمرکز و پردازش پاداش‌ها شود که به علایم بی‌توجهی مشاهده شده در این اختلال کمک می‌کند (۲۱).

مضافاً، هنگامی که گیرنده‌های NMDA نقص دارند، ممکن است منجر به بروز بیش از اندازه استرس گردد که در نتیجه منجر به ترشح زیاد اپینفرین می‌شود (۲۲). این شرایط می‌تواند علائم اختلال بیش‌فعالی را تشدید کند، به ویژه علایم تکانشگری در بیش‌فعالی را افزایش می‌دهد (۲۳). با این حال، مهم است به یادداشت که این مطالعه علی بودن این رابطه را تعیین نمی‌کند و نیاز به پژوهش‌های بیشتر برای روشن شدن مکانیسم‌ها و روابط علی بین کاهش بیان گیرنده‌های NR1/NR2 و رشد علائم بیش‌فعالی و همچنین بررسی مداخلات درمانی احتمالی جهت مدیریت علائم این اختلال است. به این معنی که مشخص نیست آیا نقص توجه و بیش‌فعالی منجر به نقص عملکرد گلوتامات می‌شوند و یا نقص تعداد و عملکرد گیرنده‌های گلوتامات منجر به بروز این اختلال می‌گردد.

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر ارتباط معناداری بین اختلال نقص‌توجه و بیش‌فعالی و بیان گیرنده‌های گلوتامات NMDA، به ویژه زیرواحدهای NR1 و NR2 در پلاسمای خون افراد مبتلا به اختلال نقص‌توجه و بیش‌فعالی نسبت به افراد سالم را نشان داد. به نظر می‌رسد که کاهش گیرنده‌های NR1 و NR2 اثر بسیار زیادی در کاهش و ضعف شاخص‌ها و مهارت‌های تمرکزی و شناختی و بروز رفتارهای تکانشی در افراد داشته باشد که البته همه این علائم از ویژگی‌های اختلال نقص‌توجه و بیش‌فعالی می‌باشد. هر چقدر بیان این گیرنده کمتر باشد، علائم این اختلال بیشتر و در نتیجه شدت آن بالاتر است. در این مطالعه مشخص شد که اثر زیرواحد NR1 بر بروز و شدت علائم این اختلال بیشتر از زیرواحد NR2 می‌باشد. این یافته‌ها نقش بالقوه گیرنده‌های NMDA را در

هیچ‌گونه کمک مالی از هیچ سازمان یا ارگانی دریافت نشده است.

و همه کسانی که سهمی در این مطالعه داشتند صمیمانه سپاس‌گذاریم.

تشکر و قدردانی

از تمامی داوطلبان خردسال و خانواده‌های آنها که با حسن‌نیت در این پژوهش مشارکت کردند، همکاران، آموزنگران و درمانگران مراکز توان‌بخشی

تعارض منافع

این پژوهش هیچ‌گونه تضاد منافع مالی و غیرمالی با شخص یا ارگان خاصی ندارد.

References

- Bard L, Groc L. Glutamate receptor dynamics and protein interaction: Lessons from the NMDA receptor. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2011;48(4):298-307.
- Flores-Soto ME, Chaparro-Huerta V, Escoto-Delgadillo M, Vazquez-Valls E, Gonzalez-Castaneda RE, Beas-Zarate C. Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits. *Neurologia (English Edition)*. 2012;27(5):301-310.
- Hansen KB, Wollmuth LP, Bowie D, Furukawa H, Menniti FS, Sobolevsky AI, et al. Structure, function, and pharmacology of glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Reviews*. 2021;73(4):1469-1658.
- Lakhan SE, Caro M, Hadzimechalis N. NMDA receptor activity in neuropsychiatric disorders. *Frontiers in Psychiatry*. 2013;4:52.
- Liu J, Chang L, Song Y, Li H, Wu Y. The role of NMDA receptors in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13:43.
- Coyle JT, Tsai G, Goff D. Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003;1003(1):318-327.
- Greger IH, Mayer ML. Structural biology of glutamate receptor ion channels: Towards an understanding of mechanism. *Current Opinion in Structural Biology*. 2019;57:185-195.
- Sanacora G, Treccani G, Popoli M. Towards a glutamate hypothesis of depression: An emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. *Neuropharmacology*. 2012;62(1):63-77.
- Dang YH, Ma XC, Zhang JC, Ren Q, Wu J, Gao CG, et al. Targeting of NMDA receptors in the treatment of major depression. *Current Pharmaceutical Design*. 2014;20(32):5151-5159.
- Hashimoto K. Emerging role of glutamate in the pathophysiology of major depressive disorder. *Brain Research Reviews*. 2009;61(2):105-123.
- Luczak J, Dickenson AH, Kotlinska-Lemieszek A. The role of ketamine, an NMDA receptor antagonist, in the management of pain. *Progress in Palliative Care*. 1995;3(4):127-134.
- Duman RS, Li N. A neurotrophic hypothesis of depression: role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2012;367(1601):2475-2484.
- Large CH. Do NMDA receptor antagonist models of schizophrenia predict the clinical efficacy of antipsychotic drugs. *Journal of Psychopharmacology*. 2007;21(3):283-301.
- Franco R, Rivas-Santisteban R, Casanovas M, Lillo A, Saura CA, Navarro G. Adenosine A2A receptor antagonists affects NMDA glutamate receptor function. Potential to address neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Cells*. 2020;9(5):1075.
- Liu J, Li D, Huang J, Cao J, Cai G, Guo Y, et al. Glutamatergic neurons in the amygdala are involved in paclitaxel-induced pain and anxiety. *Frontiers in Psychiatry*. 2022;13:869544.
- Spanagel R, Weiss F. The dopamine hypothesis of reward: Past and current status. *Trends in Neurosciences*. 1999;22(11):521-527.
- Unal F, Oktem F, Cetin Çuhadaroglu F, Cengel Kultur SE,

- Akdemi D, Foto Ozdemir D, et al. Reliability and validity of the Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version, DSM-5 November 2016-Turkish Adaptation (K-SADS-PL-DSM-5-T). *Turkish Journal of Psychiatry*. 2019;30(1):42-50.
18. Tinius TP. The integrated visual and auditory continuous performance test as a neuropsychological measure. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2003;18(5):439-454.
19. Raven J. Raven progressive matrices. In Handbook of non-verbal assessment. Boston, Massachusetts:Springer US;2003. pp. 223-237
20. Kurien BT, Scofield RH. Western blotting. *Methods*. 2006;38(4):283-293.
21. Schachar R. Attention deficit hyperactivity disorder in children, adolescents, and adults. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*. 2009;15(6):78-97.
22. Edinoff AN, Fitz-Gerald JS, Holland KA, Reed JG, Murnane SE, Minter SG, et al. Adjuvant drugs for peripheral nerve blocks: The role of NMDA antagonists, neostigmine, epinephrine, and sodium bicarbonate. *Anesthesiology and Pain Medicine*. 2021;11(3): e117146.
23. Reiner A, Levitz J. Glutamatergic signaling in the central nervous system: Ionotropic and metabotropic receptors in concert. *Neuron*. 2018;98(6):1080-1098.

