

تأثیر میان‌کنش بین مورفین و سیستم آلفا-نورآدرنرژیک در هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر اضطراب و حافظه

فرهاد ولی‌زادگان^{۱*}، شهربانو عربیان^۲، محمدرضا زرین‌دست^۳

دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۲۷ / پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۰۶

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران، بابلسر

^۲ گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران

^۳ گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

* مسئول مکاتبات: fh_valizadegan@yahoo.com

چکیده. هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال (BLA) نوعی جایگاه مهم مغزی در تنظیم اضطراب است. هدف این پژوهش بررسی میان‌کنش بین مورفین و داروهای نورآدرنرژیک بر رفتارهای اضطرابی و حافظه بود. موش‌های نر به صورت گروه‌های شش تایی ابتدا بیهوش و در دستگاه استریوتاکسیک قرار داده شده و هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال به صورت دوطرفه کانول گذاری شدند. سپس در دستگاه آزمون elevated plus maze قرار داده شدند. پارامترهای میزان حضور در بازوها بارگیری درون‌صفاقی مورفین (۶ mg/kg)، درصد حضور در بازوها باز و میزان فعالیت حرکتی حیوان تحت سنجش آماری قرار گرفت. به کارگیری درون‌صفاقی مورفین (۶ mg/kg)، دروز بازوها باز را افزایش داد. تزریق درون BLA کلونیدین (۴ µg/rat) اضطراب را افزایش داد. در حالی که تزریق توأمان درون BLA ترکیبات (۴ µg/rat) و دوز غیر مؤثر مورفین (۴ mg/kg) آزمون معناداری را در OAT% افزایش نداشت. تزریق درون BLA یوهیمین (۲ µg/rat) نشان‌دهنده افزایش موجب افزایش رفتارهای اضطرابی شد. در حالی که تزریق توأمان درون BLA کلونیدین (۴ µg/rat) همراه با دوز مؤثر مورفین (۶ mg/kg) نشان‌دهنده افزایش معنادار در OAT% است. به کارگیری توأمان دوزهای غیر مؤثر مورفین (۴ mg/kg) و یوهیمین (۰.۵ µg/rat) به همراه دوز مؤثر کلونیدین (۰.۵ µg/rat) نشان داد که یوهیمین توانست اثر اضطراب زدایی مورفین و کلونیدین را برگرداند. سیستم‌های اپیوپیدرژیک و نورآدرنرژیک، هردو سبب بروز تأثیر مشابه بر اضطراب و ثیت حافظه شدند، اما این دو سیستم به صورت موازی عمل کردند و پیامدهای سینرژیستیک دارند.

واژه‌های کلیدی. داروهای نورآدرنرژیک، ناحیه آمیگدال، مازصلیی شکل بالاتر از زمینه، اپیوپیدرژیک، موش صحرایی

Impact of the interaction between morphine and α -noradrenergic system of basolateral Amygdala on anxiety-related behavior and memory

Farhad Valizadegan^{1*}, Shahrbanoo Oryan² and Mohammad Reza Zarrindast³

Received: 18/10/2015 / Accepted: 26/11/2015

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran

² Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

³ Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Medical Sciences University of Tehran, Tehran, Iran

* Correspondent author: fh_valizadegan@yahoo.com

Abstract. Basolateral Amygdala is an important site of anxiety. Interactions between α -noradrenergic and opioidergic systems in Basolateral amygdala were, then, selected to investigate anxiety and memory. The elevated plus-maze was employed and the male wistar rats were tested. The site of BLA was cannulated bilaterally. Morphine (4, 5, 6 mg/kg) was injected to rats intraperitoneally, while clonidine (1, 2, 4 µg/rat) and yohimbine (0.5, 1, 2 µg/rat) were injected to BLA. Open arm time percentage (%OAT), open arm entry (%OAE) and locomotor activity were determined by this behavioral test. Retention was tested 24 hours later. Administration of morphine (6 mg/kg) increased the OAT% in anxiety test, indicating anxiolytic-like effect. Intra Basolateral amygdala infusion of clonidine (4 µg/rat) has an anxiolytic-like effect. While co-administration of clonidine (4 µg/rat) and ineffective dose of morphine (4 mg/kg) showed significant increase of OAT% in anxiety test; presenting anxiolytic response. Intra Basolateral amygdala administration of yohimbine (2 µg/rat) decreased OAT% indicating of decrease anxiety-like behavior. While co-administration of intra Basolateral amygdala clonidine (4 µg/rat) and effective dose of morphine (6 mg/kg) showed a significant increase of OAT%, presenting anxiolytic response; co-administration of ineffective doses of morphine (4 mg/kg) and yohimbine (1 µg/rat) with the effective dose of clonidine (4 µg/rat) showed that yohimbine could reverse the anxiolytic-like effect of morphine and clonidine. It should be noted that there are no significant changes in locomotor activity. The results indicate that morphine creates the compromise changes in adrenergic neurons of Basolateral amygdala by changing the α -noradrenergic system on anxiety.

Keywords. noradrenergic drugs, amygdala region, elevated plus maze, opioidergic, rat

مقدمه

نشان می دهد که بسیاری از نورو مو دولیتورها از طریق میان کنش با سیستم نورآدرنرژیک بر ذخیره حافظه تأثیر می گذارند (Cahill et al., 1996).

آنتاگونیست های β -آدرنرژیک تزریق شده به درون آمیگدال تأثیر تعدیلی هورمون های استرس محیطی نظری اپی نفرین و گلوکوکورتیکوئیدها بر حافظه را در یادگیری اجتناب مهاری بلوکه می کنند. تزریق آنتاگونیست های α -آدرنرژیک به درون آمیگدال تأثیر تعدیل کننده حافظه القاء شده با داروهای مؤثر بر سیستم های گابا ائرژیک و اپیوئیدرژیک را بلوکه می کند (Quirarte et al., 1997). نتایج حاضر نشان می دهد که تزریق درون بطنی آگونیست رسپتور β -اپویید نظری مورفین، اجتناب از بازو های باز را طی آزمون کاهش داد که پیشنهاد کننده یک پاسخ شبه اضطراب زدا در آزمون EPM است. به علاوه تأثیر اضطراب زدایی مورفین در آزمون Retest ظهور می کند. تأثیر فوق پیشنهاد می کند که ثبت حافظه ناخوشایند در این گروه ها بهبود می یابد. به نظر می رسد روش بکار گیری مورفین و دوز های مورد استفاده آن، عوامل تأثیر گذار اثر مورفین بر یادگیری و حافظه است. به علاوه تزریق درون آمیگدالی پس از آموزش نور اپی نفرین (NE) و آگونیست های آدرنرژیک حافظه، به خاطر آوری اجتناب مهاری و آموزش آزمون آبی فضایی (spatial water-maze training) را به ترتیب افزایش می دهد و بهبود می بخشدند. این نتایج پیشنهاد می کنند که آزادشدن نورآدرنالین به درون آمیگدال القا شده با آموزش و داروها در تأثیر نورو مو دولیتوری ذخیره حافظه دخالت مستقیم دارد (Introini-Collison et al., 1995).

جانبی به دلیل نقش آن در حافظه و یادگیری برای مطالعه در این تحقیق انتخاب شده است. از آنجا که هیچ مطالعه ای تعدیل آمیگدال قاعده ای-جانبی را با سیستم های نورآدرنرژیک و اپیوئیدرژیک بر اضطراب و حافظه بررسی نکرده است، هدف این مطالعه ابتدا بررسی تأثیر تزریقات آگونیست و آنتاگونیست α -رسپتور های نورآدرنالین به درون آمیگدال قاعده ای-جانبی و بررسی نقش احتمالی آنها در رفتار مرتبط با اضطراب و شکل-گیری حافظه با استفاده از آزمون (EPM) و ثانیاً بررسی تأثیر مورفین در این جایگاه و در نهایت نقش های برهم کننی این دو سیستم بر رفتارهای ذکر شده است.

به نظر می رسد سازو کارهای نورو شیمیایی مختلفی می توانند رفتارهای اضطراب و ترس را تعديل و تنظیم کنند (McGaugh, 2004).

اضطراب که خود تحت کنترل آمیگدال و هیپو کامپ است تحت تأثیر داروهای اضطراب زدا قرار می گیرد. در حالی که ترس مقاوم تر از اضطراب است و ممکن است ماده خاکستری دور قنات سیلویوس (PAG) جایگاه اصلی ایجاد آن باشد.

آمیگدال یکی از مهم ترین ساختارهای مغز برای ثبت و ذخیره حافظه عاطفی است و طی آزمایش های بسیار زیادی با استفاده از روش های آزمایشگاهی تحت بررسی قرار گرفته است و قادر است از طریق پاسخ های ترس شرطی شده اندازه گیری شود (Fanselow & Poulos, 2005). به علاوه آمیگدال وجود برانگیختگی مرتبط با یادگیری را در دیگر نواحی مغزی نظری کورنکس و هیپو کامپ تغییر می دهد (McGaugh, 2004). از بی مهرگان تا انسان (McGaugh, 2004)، حافظه بلندمدت برای یک واقعه می تواند دقایق یا ساعاتی پس از یادگیری افزایش یا کاهش یابد. این امر منجر به ارائه این پیشنهاد شد که اشکال حافظه در طی زمان به آرامی شکل می گیرند که پدیده ثبت نامیده می شود. اولین نشانه بروز این پدیده زمانی کشف شد که Pilzecker و Muller در سال ۱۹۰۰ گزارش کردند که حافظه اطلاعات تازه آموخته شده از طریق یادگیری دیگر پدیده ها، کمی پس از اولین یادگیری قطع می شود. پس از آن، ثبت حافظه اطلاعاتی که اخیراً یاد گرفته شده است برای دستکاری Cahill, (McGaugh, 2004)، مهار کنندگان ستتر پروتین (2000)، تزریقات دارویی (Duque et al., 2000) و تحریک الکتریکی نواحی مختلف مغز (McGaugh, 1996) صورت می گیرد. اگرچه افزایش فعالیت آمیگدال بلا فاصله پس از به خاطر آوری بلندمدت تغییرات یادگیری صورت می گیرد (Parent et al., 1995)، آمیگدال جایگاه ذخیره این حافظه نیست. آمیگدال پردازش های مربوط به ذخیره حافظه را در نواحی مغزی به راه می اندازد. نواحی دیگر در حافظه با تداعی معانی دخالت دارند (Liang et al., 1982).

ثانیه به درون (BLA) فرستاده شد که این کار با استفاده از سرنگ همیلتون FL ۲/۵ انجام شد. یک کاتر پلی اتیلن به انتهای سوزن دندانپزشکی متصل شد و برای تزریق به کار رفت. یک حباب هوا درون لوله پلی اتیلن به عنوان یک نشانگر برای مشاهده تزریق دقیق دارو ایجاد شد. سوزن‌ها پس از تکمیل تزریق طی ۶۰ ثانیه برداشته شدند.

دستگاه آزمایش ماز صلبی شکل بالاتر از زمینه (EPM)

ماز صلبی شکل بالاتر از زمینه (EPM)، یک وسیله چوبی به علاوه‌ای شکل است که از چهار بازو به شکل بعلاءه ساخته شده است. دو بازو هیچ دیوارهای ندارند (بازوی باز ۱۰ cm × ۵۰ cm). دو بازوی دیگر دارای دیواره بوده اما بالای آنها باز است (بازوی بسته؛ ۱۰ × ۴۰ cm). جایی که بازوها به هم می‌رسند یک سکوی میدانی شکل دارد با ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی‌متر. ماز، ۵۰ سانتی‌متر بالای سطح زمین قرار دارد. حیوان در این میدان میانی قرار می‌گیرد. موش‌ها به صورت تکی در مرکز باز قرار می‌گیرند و صورت آنها رو به بازوی باز است و سپس به مدت ۵ دقیقه به صورت آزاد در ماز گردش می‌کنند. تعداد ورود به بازوهای باز، تعداد ورود به بازوهای بسته و کل زمان گذرانده شده در بازوی باز و کل زمان گذرانده شده در بازوی بسته اندازه‌گیری می‌شوند. ورود به یک بازو تنها در هنگامی محاسبه می‌شود که حیوان هر چهار پنجه خود را در آن قرار داده باشد.

آزمون‌های رفتاری

همان‌گونه که قبلًا ذکر شد، ما از EPM برای سنجش میزان حافظه و رفتارهای شباهنگ‌طلبی استفاده کردیم که بر اساس یک الگوی test-retest انجام شد. موش‌ها، یک ساعت قبل از آزمون به اتاق آزمایش آورده می‌شدند تا با محیط آزمایش سازگار شوند. آنها سپس به صورت جداگانه در قسمت ابتدایی بازوی باز و در مرکز بازو قرار می‌گرفتند و به مدت پنج دقیقه به رفتار جستجوگرانه می‌پرداختند. آزمایش‌ها در نور حاصل از یک لامپ ۶۰ واتی که به ماز می‌تایید انجام شد. مشاهده گر که حداقل یک متر دورتر از دستگاه ایستاده بود با استفاده از کرنومتر پارامترهای سنجشی را که قبلًا ذکر شد را اندازه‌گیری

مواد و روش‌ها

موش‌های نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور تهران) به وزن ۲۰ ± ۲۰ گرم در هنگام جراحی مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات به صورت چهارتایی در قفس‌های استاندارد قرار داشتند و در اتاق حیوانات با چرخه نور-تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت و در دمای ۱ ± ۲ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شدند. غذای مخصوص جوندگان و آب کافی در اختیار آنها بود. این امر به آنها اجازه می‌داد که با آزمایشگاه طی یک هفته قبل از جراحی سازگار شوند. حیوانات، هر روز پنج دقیقه قبل از جراحی مورد تیمار قرار می‌گرفتند. شش حیوان در هر گروه آزمایشی به کار رفتند. در مجموع ۲۰۰ سر موش در آزمایش‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند. همه روش‌های انجام آزمایش‌ها براساس موازین آزمایشگاهی برای مراقبت و استفاده از حیوانات رعایت شد.

جراحی استریوتاکسیک و تزریق دارو

کتابمین هیدروکلراید ۱۰ درصد به علاوه زیلزین ۲ درصد (Alpason, Woerdem, Holand) به صورت درون‌بطنی به موش‌ها تزریق شد و سپس آنها در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند. اهرم قدامی بالایی بر ۳/۳ میلی‌متر قرار گرفت و جمجمه به صورت افقی بین نقاط لامبدا و برگما مستقر شد. دو کانول راهنمای به صورت دوطرفه (به منظور تزریقات از طریق کانول که ۵ تا ۷ روز بعد انجام می‌شد) در مغز موش‌ها قرار گرفت. تعیین یک نقطه به عنوان نقطه مرجع و براساس اطلس پاکسینوس و واتسون انجام شد. مختصات دقیق محل تزریق براساس اطلس به صورت DV = 6.5 mm, AP = 2.8 mm, ML = ± 5 mm بود. کانول‌ها در جمجمه به وسیله رزین آکریلیک محکم شدند. یک سیم نازک درون هر کانول راهنمای، به منظور جلوگیری از بسته شدن آنها قرار گرفت. بعد از جراحی، موش‌ها دوباره به قفس‌های خود برگردانده شدند و در گروههای چهارتایی قرار داده شدند که شیوه پیش از جراحی بود. ۵ تا ۷ روز بعد موش‌ها یک تزریق درون (BLA) دوطرفه دریافت کردند که به وسیله سوزن‌های دندانپزشکی (gauge - ۲۷) انجام شد که به درون کانول‌های راهنمای فرستاده شده بود. انتهای سوزن‌های مذکور، ۱ میلی‌متر بالای انتهای کانول‌های راهنمای قرار گرفتند. ۱ از محلول‌های تزریقی در هر طرف، طی ۶ FL

آزمایش قرار داده شد. تزریقات و انجام مراحل آزمون، همگی در ساعت ۱۰ صبح انجام شد. آزمایش مجدد (retest) نیز دقیقاً ۲۴ ساعت بعد از آزمون و در همان ساعت ۱۰ صبح صورت گرفت.

تحلیل‌های آماری

با به دست آوردن نرمالیته توزیع و همگنی واریانس، نتایج به one-way ANOVA صورت آماری به وسیله تحلیل واریانس Mean \pm SEM بررسی شدند. برای مقایسه خروجی‌های میان گروه‌های آزمایشی با کنترل آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت. زمانی که F-value، معنی‌دار بود، تحلیل post-hoc (tukey) انجام شد. تفاوت با $p < 0.05$ میان گروه‌ها، به لحاظ آماری معنی‌دار تلقی شد. همچنین از آزمون T و repeated measures نیز برای تعیین معناداری بین دو شکل متناظر استفاده شد.

نتایج

تأثیر مورفین بر رفتارهای شباهاضطرابی و شکل‌گیری حافظه

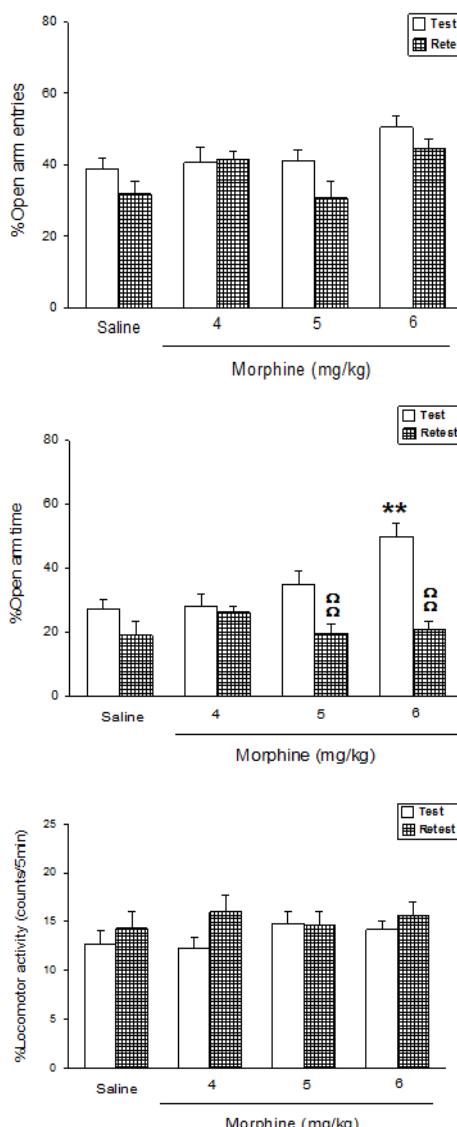
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در تزریق درونصفاقی دوزهای مختلف، مورفین، حداقل تأثیر را در دوز ۶ mg/kg در کاهش اضطراب در مرحله test (بر زمان حضور در بازوی باز) ایجاد کرد، اما تأثیر معناداری، بر تعداد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان نداشت.

آزمون Retest ۲۴ ساعت بعد انجام شد. آزمون one-way ANOVA نشان داد که مورفین به صورت وابسته به دوز، که نشان‌دهنده یک پاسخ اضطراب‌زا بود و حافظه به وسیله مورفین بهبود پیدا کرده است. هیچ تغییر معنی‌داری در مقدار مشاهده نشد و فعالیت حرکتی [F (3,20) = 2.2990 ; $p < 0.001$] OAE% داری را نشان نداد (شکل ۱).

می‌کرد. ماز پس از هر آزمون توسط آب مقطر و الکل شسته و تمیز می‌شد. داده‌های خام ثبت شده برای محاسبه (OAT%) (درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز) به کار می‌رفت. کل زمان گذرانده شده در بازوی بسته (OAE%) مورد محاسبه قرار می‌گرفت که معیاری برای سنجش فقدان حافظه در طی آزمون retest بود. جمع کل تعداد ورود به بازوهای باز و بسته فعالیت (EPM) نیز با برانگیختگی مرتبط است. روش test-retest، روشی مناسب برای آزمایش وجوده مرتبط با اضطراب و حافظه است. در مجموع، حیوانات اطلاعاتی با توجه به محیط‌های امن و بی خطر در ماز طی آزمون بدست آوردن. تکرار آزمون از (EPM) ۲۴ ساعت پس از آزمون) تغییرات رفتاری وابسته به تجربه را القا کرده و نشانگر شاخصی از کسب، تثیت و به خاطرآوری است. هنگامی که حیوان در یک مرحله retest قرار می‌گیرد، زمان جستجوی بازوی باز کاهش می‌یابد و این نشان‌دهنده حضور یادگیری و حافظه است.

داروهای مورد استفاده، زمان و نحوه تزریقات

در این مطالعه مخلوط داروهای کتابیم و زایلزین به نسبت ۵ به ۱ برای بیهوشی حیوانات به وسیله سرنگ انسولین در مقدار میلی- گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش و به صورت درون- صفاقی به موش‌ها تزریق شد. مورفین سولفات (به‌ منزله یک آگونیست رسپتور اپیوپیدی mu)، برای تزریق درون‌ بطی (i.p)، در محلول سالین حل شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. کلونیدین (به‌ منزله آگونیست α - آدرنورسپتور) (Irandarou)، برای تزریق درون BLA و یوهیمین (بعنوان آنتاگونیست α - آدرنورسپتور) Irandarou (Iran) به صورت درون BLA تزریق شدند. کلونیدین و یوهیمین در سالین استریل ۰/۹ درصد حل شدند. سپس در مقدار پیش‌گفته به وسیله سرنگ همیلتون و با استفاده از لوله نازک پلی‌اتیلنی که به سرنگ متصل می‌شد، در حجم ۰/۲ میلی- لیتر در هر کانول و در طی ۴۵ ثانیه به آرامی تزریق شد. در هر تزریق ابتدا مورفین و بعد از ۳ دقیقه داروی مورد نظر تزریق شد و مجدداً پس از ۳ دقیقه موش در دستگاه EPM برای انجام



شکل ۱- تأثیر مورفین بر رفتارهای شباهاضطرابی و شکل گیری حافظه.

Fig. 1. Effects of morphine injection on anxiety and memor.

$F_{\text{treatment} \times \text{session}} (3,40) = 283.291; p < 0.001$

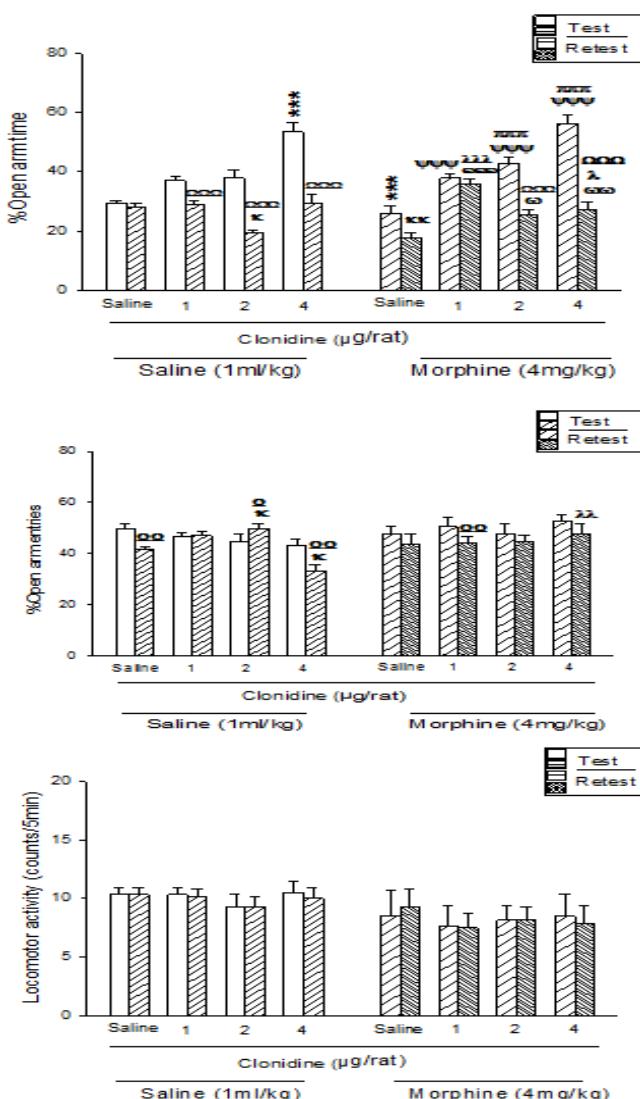
$= 3.192; p < 0.05$. می‌توان چنین نتیجه گرفت که کلونیدین

و مورفین، دارای اثر سینزرویستیک یا هم‌افزا در کاهش میزان اضطراب در آزمون (EPM) هستند. تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که میزان فعالیت حرکتی در پی تزریق کلونیدین تغییری نکرد.

تزریق کلونیدین به همراه مورفین نیز با توجه به تحلیل two-way ANOVA تغییری نکرده است [$F_{\text{treatment}} (3,40) = 19.800; p < 0.001$] . $F_{\text{session}} (1,40) = 3.779, p < 0.05$] , $F_{\text{treatment} \times \text{session}} (3,40) = 0.098, p < 0.05$

تأثیر کلونیدین به تنها یا همراه با مورفین بر رفتارهای شباهاضطرابی و تشکیل حافظه

تأثیر کلونیدین به تنها یا با مورفین بر حافظه و اضطراب در شکل ۲ نشان داده شده است. تحلیل one-way ANOVA نشان می‌دهد که کلونیدین ($4 \mu\text{g/rat}$) تزریق کلونیدین (جانبی) تأثیر اضطراب‌زدایی درخور توجهی را نشان میدهد [$F (3,20) = 130.422; p < 0.001$]. تزریقات کلونیدین در تمام دوزها به همراه مورفین تفاوت معناداری را در مقادیر OAT% با استفاده از تحلیل ANOVA two-way $F_{\text{session}} (1,40) = 0.129, p < 0.05$ - دهد.



شکل ۲- تأثیر تزریق کلونیدین درون BLA، به تنها یا به همراه با مورفین بر رفتارهای شباهاضطرابی و به خاطرآوری حافظه.

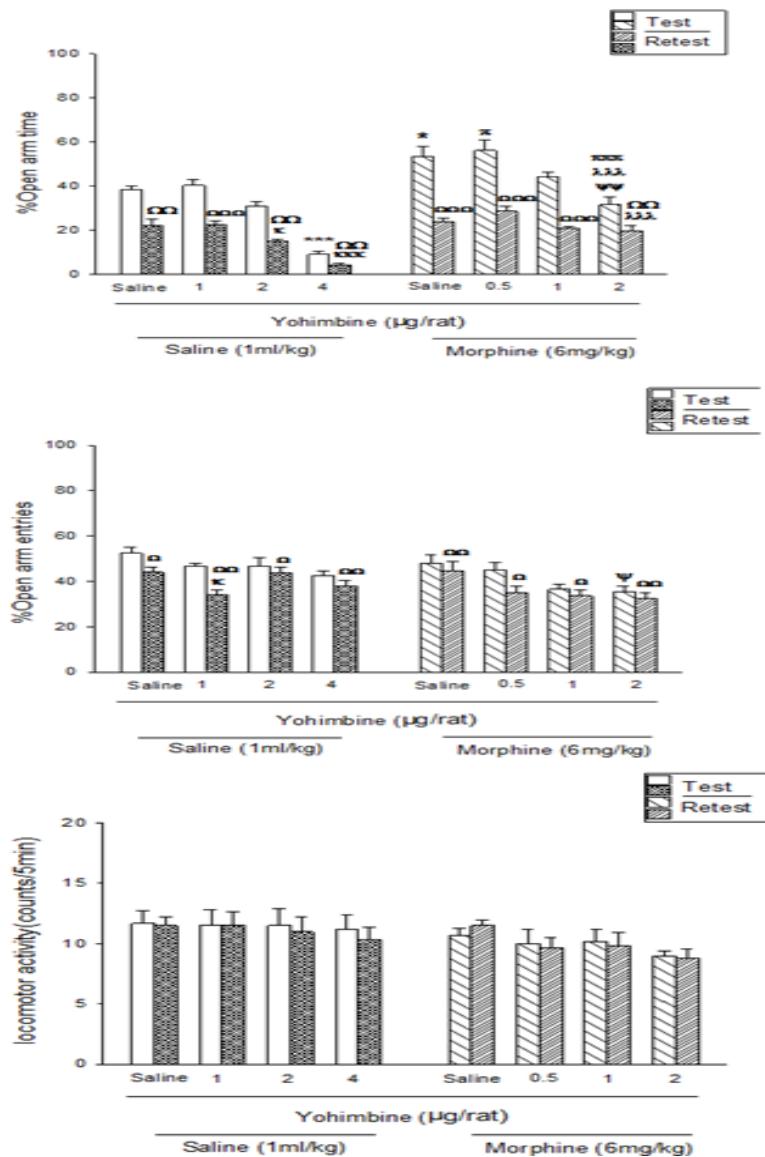
Fig. 2. Effects of clonidine injection intra-BLA, only or with morphine on anxiety and memory retrieval.

تأثیر تزریق یوهیمین درون BLA، به تنها یا همراه با مورفین بر رفتارهای شباهاضطرابی و به خاطرآوری حافظه تأثیر تزریق یوهیمین درون BLA، به تنها یا همراه با مورفین به دست آمده از آزمون روز اول (test) در مقایسه با روز دوم (retest) حکایت دارد که نشان‌دهنده وجود حافظه در روز دوم در مقایسه با روز اول است. مقادیر آماری مربوط به آزمون‌های T و Repeated measures نیز این یافته‌ها را تأیید کردند. $F_1 (1,20) = 220.611, p < 0.001$; $F_{1 \times \text{group}} (3,20) = 20.506, p < 0.001$; $F_{\text{group}} (1,20) = 37.751, p < 0.001$.

تحلیل واریانس یک‌طرفه در بال اثر کلونیدین بر حافظه تفاوت معناداری را در مقدار $F (3,20) = 7.454, p < 0.001$; OAT% [OAT%] در مرحله retest در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. اما پارامترهای مذکور در پی تزریق کلونیدین و مورفین به صورت توأمان، افزایش معنی‌داری را در مقادیر OAT% براساس تحلیل واریانس دوطرفه $F_{\text{treatment}} (3,40) = 14.266, p < 0.001$; $F_{\text{treatment} \times \text{session}} (1,40) = 0.010, p < 0.001$] در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. آزمون‌های T انجام شده نیز از تفاوت معناداری در مقادیر

در دوین BLA (2 µg/rat) کاهش ۲ دارند. در صد حضور در بازوی باز را کاهش یافت. $[F_{\text{treatment}} (3,40) = 32.954, p < 0.001]$ و $[F_{\text{session}} (1,40) = 57.774, p < 0.001]$ و فرمول دیگر به شکل

تحلیل one-way ANOVA نشان می‌دهد که یوهیمین با دوز داده و موجب افزایش میزان اضطراب شده است (شکل ۳). تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که اثر اضطراب‌زدای مورفین (۶ mg/kg)، دربی تزریق دوز مؤثر یوهیمین (۲ µg/rat) (۶)



شکل ۳- تأثیر تزریق یوهیمین در دوین BLA، به تنها یا همراه با مورفین بر رفتارهای شباهنگی و به خاطرآوری حافظه.

Fig. 3. Effects of yohimbine injection intra-BLA, only or with morphine on anxiety and memory retrieval.

با استفاده از تحلیل واریانس دوطرفه می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر یوهیمین تزریق شده در BLA در افزایش حافظه، دربی به کارگیری دوز مؤثر مورفین از بین می‌رود. این نتیجه را می‌توان در ارتباط با پارامتر %OAT کسب کرد $[F_{\text{treatment}} (3,40) = 0.798, p < 0.05]$ $[F_{\text{session}} (1,40) = 31.117, p < 0.001]$ $[F_{\text{treatment} \times \text{session}} (3,40) = 4.992, p < 0.01, [p < 0.001]$ مقادیر آماری مربوط به آزمون T و آزمون repeated

تحلیل $[F_{\text{treatment} \times \text{session}} (3,40) = 0.798, p < 0.05]$ واریانس یک طرفه، نشان‌دهنده کاهش معناداری در مقدار OAT% در مرحله retest در باب موش‌هایی بود که دوز ۲ میکروگرم یوهیمین را دریافت کردند. این امر نشان‌دهنده میزان افزایش اکتساب حافظه در پی دریافت متعاقب یوهیمین است.

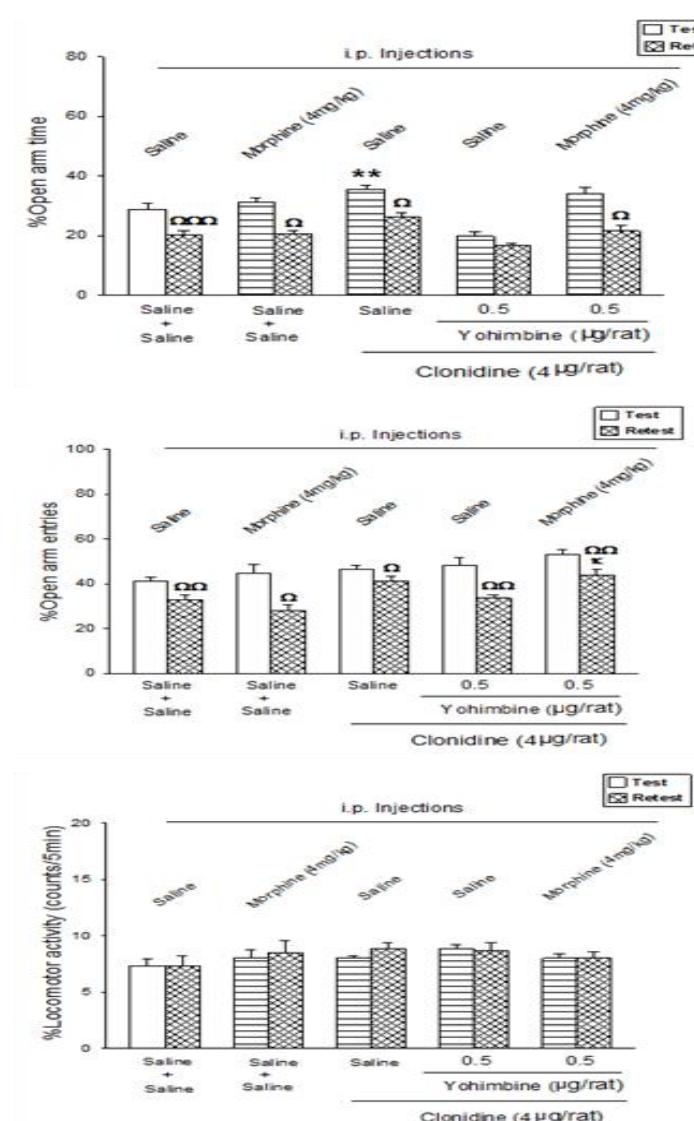
$[F (3,20) = 4.97, p < 0.05]$

یا دوز زیرآستانه‌ای یوهیمین تیمار شده بودند در حضور فقدان دوز زیرآستانه‌ای مورفین تحت آزمایش قرار گرفتند. ۲۴ ساعت بعد همه گروه‌ها بدون تزریق هیچ دارویی مورد retest قرار گرفتند. تزریق دوز غیر مؤثر یوهیمین، درصد حضور در بازوی باز $[F(4,25) = 16.941, p < 0.001]$; OAT% [$F(4,25) = 2.230, p < 0.001$] القا شده به وسیله تعداد ورود به بازوی باز $[F(4,25) = 2.230, p < 0.001]$ کلوبیدین در مرحله test را کاهش داد. این کاهش کمتر از میزان کاهش در حضور مورفین بود. این نتایج در مرحله retest OAE% [$F(4,25) = 4.132, p < 0.001$] OAT% [$F(4,25) = 8.501, p < 0.001$] مشابه نتایج فوق بود.

نیز یافته‌های مذبور را تأیید می‌کنند ($F_{group} (1,20) = 6.742, F_{group \times group} (1,20) = 291.856, p < 0.001$] $p < 0.01$]. [$F_{1 \times group} (3, 20) = 8.714, p < 0.01$]

تأثیر کلونیدین و یوهیمین یا کلونیدین و یوهیمین همراه با مورفین بر رفتارهای شباهضمترایی و تشکیل حافظه

شکل ۴، تأثیر تزریق درون BLA یوهیمین را بر رفتار جستجو گرانه القا شده به وسیله کلونیدین و کلونیدین به همراه مورفین نشان می‌دهد. موش‌ها، ۵ دقیقه پس از تزریق سالین (۱ ml/rat) یا کلونیدین (۴ μ g/rat) در آنهایی که توسط سالین (۱ ml/rat)



شکل ۴- تأثیر کلونیدین و یوهیمین یا کلونیدین و یوهیمین همراه با مورفین بر رفتارهای شباهضمترایی و تشکیل حافظه.

Fig. 4. Effects of clonidine and yohimbine or clonidine and yohimbine with morphine injections intra-BLA, on anxiety and memory retrieval.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در تزریق درون‌صفاقی دوزهای مختلف، مورفین، حداکثر تأثیر را در دوز 6 mg/kg در کاهش اضطراب در مرحله test (بر زمان حضور در بازوی باز) ایجاد کرد، اما تأثیر معناداری، بر تعداد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان نداشت (شکل ۱). یافته فوق بهوضوح، حاکی از اثر اضطراب‌زدایی مورفین تزریق شده در BLA، در دوز اشاره شده است، که با مطالعات پیش گفته هم خوان می‌باشد.

در مطالعه پیش‌رو، موش‌هایی که دوزهای ۵ و ۶ میلی‌گرم مورفین دریافت کردند کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان درصد OAT، در مرحله retest نشان دادند. تحلیل ANOVA یک-طرفه، نشان می‌دهد که موش‌ها در دوزهای پیش گفته، تغییر معناداری در مقایسه با گروه کنترل نشان نمی‌دهند، که حاکی از حفظ سطوح اکتساب حافظه علی‌رغم تغییرات اضطرابی ایجاد شده است.

از سوی دیگر، آزمون T نشان‌دهنده ایجاد تفاوت معنادار بین مرحله test در مقایسه با مرحله retest، در هر گروه آزمایشی است. نتایج تحلیل repeated measures از تفاوت معنادار بین تغییرات سطوح OAT، در مراحل test و تغییرات آن در مراحل retest، حکایت می‌کنند.

در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که اعمال سیستمیک مورفین موجب افزایش یا کاهش معناداری در اکتساب حافظه نشده است.

مطالعات متعدد پیش‌بالینی نشان داده است که استرس و اضطراب موجب افزایش در آزادسازی نورآدرنالین در مناطق مختلف مغزی، از جمله هیپوتalamوس، آمیگدال و لوکوس سرولیوس می‌شود. "یوهیمین" (Yohimbine)، آنتاگونیست گیرنده α_2 -آدرنرژیک، که آزادسازی نورآدرنالین را در مغز، افزایش می‌دهد، تأثیر اضطراب‌زایی در موش‌ها دارد (Tanakata *et al.*, 2000). نتایج آزمایش‌های فارماکولوژیکی، از جمله به کار گیری آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های مختلف گیرنده α_2 -آدرنرژیک در مدل‌های حیوانی اضطراب، متناقض است که شاید به دلیل میان‌کنش‌های متعدد این گیرنده‌ها با دیگر گیرنده‌های مونوآمینی در مغز باشد.

اضطراب، پاسخ سازگار کننده‌ای است که فرد را برای رویارویی با خطرهای واقعی یا بالقوه، آماده می‌کند. مشخص شده است که به کار گیری سیستمیک مورفین، تأثیر شباهاضطراب‌زدایی را القا می‌کند (Zarrindast *et al.*, 2005). در مقابل، آنتاگونیست‌های رسپتور اوپیوپیدی، اضطراب در انواع مختلف مدل‌های رفتاری، نظیر "EPM" (Tsuda *et al.*, 1996)، "i.c.v" (Kawaki و همکاران, 2006)، گزارش دادند که در مورد اضطراب تزریق دارویی مورفین به درون بطن‌های مغزی (intra-cerebroventricular injection) یا "i.c.v" درخور توجهی دارد، که احتمالاً از طریق سیستم "وازوپرسیترژیک" و مسیرهای "نیتریک اکساید" (NO)، میانجی گری می‌شود. همچنین، تزریق مورفین، درون هیپوکامپ شکمی یا هسته اکومبنس (Zarrindast *et al.*, 2008) و نه هسته مرکزی آمیگدال، تعداد ورود به بازوی باز و زمان حضور در آن را در آزمون "EPM" (Elevated-Plus Maze) افزایش می‌دهند، که نشان‌دهنده اثر شباهاضطراب‌زدایی آن است (Filliol *et al.*, 2000). تزریق آنتاگونیست رسپتور "دلتا" ("i.c.v", Naltrindole)، نظیر نالتریندول (Delta)، به صورت "light-dark test" اضطراب را در آزمون تاریک-روشن (Privette & Terrian, 1995) در صورتیکه، تزریق آگونیست‌های رسپتور "کاپا" (Kappa)، به صورت سیستمیک، موجب کاهش اضطراب در موشها می‌شوند (Sasaki *et al.*, 2002). مطالعات دیگر نشان دادند که تزریق آنتاگونیست رسپتورهای μ -اوپیوپیدی، مثل نالوکسان، درون هیپوکامپ شکمی یا هسته اکومبنس، پاسخ شباهاضطراب‌زدایی ناشی از مورفین را بلوکه می‌کند. محققان چنین اثر اضطراب‌زدایی ناشی از نالوکسان را به تداخل میان سیستم‌های اوپیوپیدرژیک و گاباپرژیک نسبت می‌دهند.

مورفین از طریق رسپتورهای μ -اوپیوپیدی، اثر اضطراب‌زدایی خود را احتمالاً از طریق میان‌کنش با سیستم گابا به انجام می‌رساند (Kabuto *et al.*, 1995). به طوری که مورفین، با سرکوب ورودی‌های مهاری گابا، بر نورون‌های دوپامینرژیک (ventral tegmentum area) "VTA" مزولیمیک که از هسته Davis, 2000) می‌آیند این تأثیر را اعمال می‌کند.

که آمیگدال اثر تسهیل کنندگی هورمون‌های استرس بر حافظه را میانجی‌گری می‌کند. به علاوه، مشخص شده است که تخریب یا غیرفعال کردن کمپلکس قاعده‌ای-جانبی آمیگدال (BLA) و نه هسته مرکزی آمیگدال (CeA)، تأثیر تعديل کنندگی بر حافظه که از طریق آدرنالکتومی ایجاد می‌شود، را بلوکه می‌کند، همان‌گونه که دربی اعمال یا تزریق گلوکوکورتیکوئیدهای محیطی (Roozendaal *et al.*, 1996) یا مصرف دیازپام (Tomaz *et al.*, 1992) ایجاد می‌شود. به علاوه، نتایج مشابهی دربی تخریب ساختار استریاترمینالیس (Stria terminalis)، که یکی از مسیرهای اصلی خروجی آمیگدال است، حاصل شده است. تغییر فعالیت آمیگدال بلاfacسله بعد از یادگیری، بر به‌یادآوری بلندمدت، اثر می‌گذارد، اما تخریب‌های اعمال شده بر BLA هیچ تأثیری بر این روند ندارد (Parent *et al.*, 1995). این موضوع نشان می‌دهد که تأثیر تنظیم کنندگی این مودولیتورها، از تغییر ذخیره حافظه در آمیگدال ناشی نمی‌شود، بلکه در ساختارهایی که جایگاه ذخیره اشکال خاص حافظه هستند صورت می‌گیرد (Cahill & McGaugh, 1999). به‌علاوه، تیمارهای اعمال شده پس از یادگیری، که احتمالاً تحریک‌پذیری BLA و نه CeA را کاهش یا افزایش می‌دهد، به‌خاطرآوری را به ترتیب کم و زیاد می‌کند؛ برای مثال تزریق لیدوکائین به درون BLA، به صورت موضعی، به‌خاطرآوری را کاهش می‌دهد (Parent & McGaugh, 1994).

مورد تزریق آگونیست‌های GABA_a و GABA_b (Castellano *et al.*, 1995) و آنتاگونیست‌های رسپتور β -آدرنرژیک (Roozendaal *et al.*, 1995) نیز صادق است. در عوض، به‌خاطرآوری، دربی تزریقات درون آمیگدالی ییکوکولین (Dickinson *et al.*, 1993) و آگونیست‌های رسپتورهای β -آدرنرژیک (Ferry *et al.*, 1993) افزایش می‌یابد. مطالعات موسکارینی (Salinas *et al.*, 1993) افزایش می‌یابد. مطالعات پاکارد و همکاران (1994)، نشان می‌دهد که تزریق آمفاتامین‌ها پس از یادگیری، درون BLA، ذخیره هپیکامپی "hidden platform water maze" افزایش می‌دهد و اطلاعات پاسخ در آزمون "visible platform maze" را زیاد می‌کند. در حالی که، تزریق درون آمیگدالی لیدوکائین، بلاfacسله قبل آزمون به-

(Schramm *et al.*, 2001) تحریک آمیگدال از هسته لوکوس سرولیوس، بر نورون‌های حرکتی یا از طریق پروجکشن به نورون‌های "رافه" واحد سروتونین می‌تواند منجر به افزایش فعالیت حرکتی طی ترس و اضطراب شود. زیرا هم نورآدرنالین و هم ۵-هیدروکسی‌تریپتامین یا ۵-HT، تحریک نورون‌های حرکتی را تسهیل می‌کنند (Keay & Bandler, 2001). تأثیر نورآدرنالین در بخش آمیگدال قسمت قاعده‌ای-جانبی، عمدتاً ناشی از ورودی‌های نورآدرنرژیک به BLA است که خود از لوکوس سرولیوس منشأ می‌گیرند (Fallon *et al.*, 1978).

تأثیر نورآدرنالین در آمیگدال قاعده‌ای-جانبی، عمدتاً ناشی از ورودی‌های نورآدرنرژیک به BLA است، که خود از لوکوس سرولیوس منشأ می‌گیرند (Fallon *et al.*, 1978).

شواهد مختلف، نشان می‌دهند که سرعت تخلیه نورون‌های لوکوس سرولیوس، طی استرس، افزایش می‌یابد. به علاوه، همبستگی زیادی میان سرعت فایرینگ لوکوس سرولیوس و غلظت نورآدرنالین در جایگاه‌های پروجکشن آنها وجود دارد (Berridge & Abercrombie, 1999)؛ بنابراین، غلظت افزایش یافته نورآدرنالین دربی استرس در آمیگدال مشاهده شده است.

فعال شدن α -آدرنورسپتورها، ترانسمیشن گلوتاماترژیک را کاهش می‌دهد (Ferry *et al.*, 1997). مطالعات نشان داده است که زیر نوع α_1 -آدرنورسپتور، به صورت پس‌سیناپسی قرار دارد (Hardmann *et al.*, 1996). مشخص شده است که در BLA α_1 -آدرنورسپتورها، تأثیرات خود بر ذخیره‌سازی حافظه را تنها در صورت فعال بودن β -آدرنورسپتورها انجام می‌دهند (Starke, 2001). α_2 -آدرنورسپتورها، که به صورت پیش-سیناپسی قرار دارند، آزادسازی نوروتانسミتر را در آمیگدال مهار می‌کنند (Ferry, 1997).

مطالعات اخیر که براساس تحریک الکتریکی ساختارهای مغزی جداسده، انجام گرفته است، حاکی از نقش آمیگدال در تعديل تثیت حافظه است (Gold & McGaugh, 1975). مطالعاتی که براساس تخریب یا ایجاد ضایعه انجام شده است نشان می‌دهد

سوی دیگر، تحلیل واریانس دو طرفه نیز تفاوت‌های معناداری در مقادیر OAT%， در دوزهای ۲ و ۴ میکروگرم کلونیدین (به همراه مورفین)، در مقایسه با گروه‌های متناظر خود (گروه‌هایی که دوزهای ۲ و ۴ میکروگرم کلونیدین، بدون مورفین را دریافت کرده‌اند) ایجاد کرد. تحلیل‌های اشاره شده، هیچ تفاوت معناداری را در مقادیر OAE% نشان نداد (شکل ۲). می‌توان نتیجه گرفت که کلونیدین و مورفین دارای اثر سینثزیستیک یا هم‌افرا در کاهش میزان اضطراب در آزمون "EPM" هستند.

در باب اثر داروهای فوق بر حافظه، تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت معناداری را در مقدار OAT% و OAE%， حاصل از تزریق دوزهای مختلف کلونیدین، در مرحله retest در مقایسه با گروه کنترل، نشان نمی‌دهد. اما پارامترهای مذبور، در پی تزریق کلونیدین به همراه مورفین افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل خود نشان دادند. آزمون‌های "T" انجام شده نیز از تفاوت معناداری در مقادیر OAT% و OAE% بدست آمده در آزمون روز اول (test) در مقایسه با روز دوم (retest)، در آزمایش‌های اخیر حکایت می‌کند، که نشان‌دهنده وجود حافظه در روز دوم در مقایسه با روز اول است.

در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که تزریق کلونیدین درون BLA، در دوزهای به کاررفته، تغییری در میزان اکتساب و / یا تثیت حافظه در آزمون EPM ایجاد نکرد. اما اعمال دوز کلونیدین، به همراه دوز بی‌اثر مورفین به صورت درون‌صفاقی، سبب کاهش در روند اکتساب و / یا تثیت حافظه شد. درنهایت می‌توان گفت که کلونیدین و مورفین در روند کاهش اضطراب و کاهش حافظه مرتبط با آن، در آزمون EPM، به صورت هم‌افرا عمل می‌کنند. گفتنی است که در کلیه آزمایش‌های فوق، تمام تحلیل‌های آماری انجام شده حاکی از عدم تغییر معنادار در میزان فعالیت حرکتی حیوان هستند. نتایج آزمون آماری میزان فعالیت حرکتی باز post hoc نیز نشان‌دهنده ارتباط معنادار بین روند repeated measures تغییرات در اضطراب و حافظه است.

در مجموعه آزمایش‌های بعدی، تزریق یوهیمین به درون BLA در دوز ۲ میکروگرم، موجب افزایش اضطراب شد. تحلیل post hoc نشان می‌دهد که اثر اضطراب‌زدایی ناشی از تزریق درون‌صفاقی دوز مؤثر مورفین (۶ mg/kg)، درپی تزریق دوز مؤثر

یادآوری، تأثیری بر دو نوع آزمون ذکر شده نخواهد گذاشت (Packard *et al.*, 1994). از سوی دیگر، تزریق لیدوکائین پیش از یادآوری درون هیپوکامپ یا هسته دمدار، تنها می‌تواند تأثیر ظرفیت یابی حافظه ناشی از تزریق درون آمیگدالی آمفتابین را در آزمون‌های "water maze"، به ترتیب پنهان و آشکار، بلوکه کند (Packard & Teather, 1998). در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که آمیگدال، در شرایط برانگیختگی عاطفی، تحت تأثیر مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های استرس محیطی قرار دارد و تثیت حافظه بلندمدت را در دیگر ساختارهای مغزی که حافظه در آنها ذخیره می‌شود تسهیل می‌کند. مشخص شده است که تعديل حافظه به وسیله BLA در انسان نیز صادق است؛ برای مثال، داستان‌های برانگیزانده عواطف بهتر از داستان‌های معمولی به خاطرآورده می‌شوند و این تأثیر در موارد همراه با تخریب آمیگدال غایب است (Adolphs *et al.*, 1997).

تأثیر نورآدرنالین، که عمده‌تاً ناشی از مهار پیش‌سیناپسی است، از آزادسازی گلوتامات در BLA حاصل می‌شود، که خود از طریق رسپتورهای α_2 ، میانجی‌گری می‌شوند. براساس نظر فری و همکارانش (1997)، اثر فعلالشدن آدرنورسپتورهای β در BLA به مراتب از اهمیت کمتری برخوردار است. نشان داده شده است که در جریان این فعال شدن: ۱- کاهش در فرکانس اسپایک، از طریق مهار برخی زیرنوع‌های جریان‌های پتانسیم وابسته به کلسیم و ۲- تسهیل شدگی پیش‌سیناپسی در ترانسمیشن سیناپسی تحریکی ایجاد می‌شود که هر دو، ناشی از مستعدشدن برخی زیرنوع‌های کانال‌های کلسیم دریچه‌دار ولتاژی است (Huang *et al.*, 1996; Ferry *et al.*, 1997).

در مطالعه حاضر، تزریق دوز ۴ μg/rat کلونیدین، به متزله آگونیست رسپتورهای α_2 آدرنرژیک، موجب افزایش درصد ورود به بازووهای باز (post hoc) شد (شکل ۲). تحلیل post hoc نشان می‌دهد که کلونیدین در دوز اشاره شده سبب بروز پاسخ‌های اضطراب‌زدا شد تزریق دوزهای مختلف کلونیدین به همراه دوز بی‌اثر مورفین (۴ mg/kg) تأثیر اضطراب‌زدایی درخور توجهی را نشان می‌دهد. تحلیل واریانس یک‌طرفه، نشان می‌دهد که تزریقات فوق در تمام دوزهای کلونیدین به همراه مورفین، تفاوت‌های معناداری در مقادیر OAT ایجاد کرد. از

اعمال درون صفاتی مورفین به همراه داروهای فوق نیز تا حدودی اثر اضطراب زدایی ایجاد کرد، اما نتوانست آن را به سطح اولیه برگرداند. در مورد حافظه نیز مشخص شد که تمام گروههای آزمایشی حافظه داشتند، اما تغییر معناداری در پی آزمایشها، دیده نشد (شکل ۴).

با توجه به آزمایش‌های انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که فعال شدن سیستم نورآدرنرژیک آلفا و بتا، چنان‌که در بخش نتایج دیده می‌شود، موجب کاهش اضطراب شده و بلوکه شدن رسپتورهای آن توسط آنتاگونیست‌های نورآدرنرژیک، موجب معکوس شدن اثر اضطراب زدایی اشاره شده می‌شود.

در آزمایش‌های مربوط به ثبت حافظه، با توجه به نتایج تحلیل‌های مختلف آماری، دست کم در دوزهایی که در این آزمایش به کار رفته است، آگونیست‌های نورآدرنرژیک، تأثیر در خور توجهی بر ثبیت حافظه ندارند. اما اعمال آنتاگونیست‌های نورآدرنرژیک در هسته BLA سبب افزایش ثبیت حافظه شدند. به کارگیری مورفین، تأثیری بر ثبیت حافظه نداشت.

به نظر می‌رسد سیستم‌های اپیوپریورالرژیک و نورآدرنرژیک، هردو سبب بروز تأثیر مشابه بر اضطراب و ثبیت حافظه شدند، اما با توجه به یافته‌ها، این دو سیستم به صورت موازی عمل می‌کند و اثر مشابهی دارند. ولی احتمالاً این اثر، تنها به صورت سینرژیستیک بوده و اثر این دو سیستم مودولیتوری، بر اضطراب و ثبیت حافظه ناشی از آن در هسته BLA مستقل از هم است. از سوی دیگر، تحلیل‌های آماری، نشان از ارتباط مستقیم بین دو رفتار مذکور دارند که خود تأییدی بر ارزش سازشی اضطراب در مواجهه بعدی با یک عامل اضطراب‌زا است.

یوهیمین ($2 \mu\text{g}/\text{rat}$)، کاهش یافت (شکل ۳). در باب اثر داروهای مزبور بر حافظه، آزمون‌های T انجام شده نشان می‌دهند که تمامی گروههای آزمایشی در روز دوم (مرحله retest)، نسبت به روز اول حافظه داشتند. تحلیل واریانس یک‌طرفه، نشان دهنده یک کاهش معنادار در مقدار OAT% در مرحله retest، مربوط به موش‌هایی که دوز $2 \mu\text{g}/\text{rat}$ یوهیمین را دریافت کردند، در مقایسه با گروه کنترل است. این امر نشان دهنده افزایش در میزان اکتساب حافظه، در پی دریافت این دوز از یوهیمین در این موش‌هاست. از سوی دیگر، براساس نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه، تزریق دوز مؤثر مورفین (6 mg/kg)، در پی تزریق دوز مؤثر یوهیمین ($2 \mu\text{g}/\text{rat}$)، تفاوت معناداری را در مقایسه با گروه کنترل خود نشان نمی‌دهد. علاوه‌بر این، تحلیل واریانس دو طرفه نیز، نشان دهنده یک افزایش بارز در میزان OAT% مربوط به مرحله retest در گروه مذکور در مقایسه با گروهی است که دوز مؤثر یوهیمین را دریافت کرده بودند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که تأثیرات یوهیمین تزریق شده در BLA در افزایش حافظه، در پی به کارگیری دوز مؤثر مورفین از بین می‌رود. گفتنی است که آزمون‌های آماری repeated measures نیز نشان دهنده ارتباط معناداری میان روند تغییرات در میزان اضطراب و حافظه هستند. این امر نشان می‌دهد که تغییر در میزان اضطراب در پی اعمال داروهای اشاره شده، بر روند تغییرات مربوط به اکتساب حافظه تأثیر می‌گذارد و دو رفتار مذکور با یکدیگر همبستگی دارند.

در آزمایش‌های مربوط به میان‌کنش کلونیدین و یوهیمین همراه با مورفین تحلیل واریانس یک‌طرفه، نشان می‌دهد که دوز بی‌اثر یوهیمین نتوانست تأثیر اضطراب‌زدایی کلونیدین را برگرداند.

References

- Aggleton, J.P.** 2000. The amygdala: a functional analysis. University Press. Oxford.
- Adolphs, R., Cahill, L., Schul, R. and Babinsky, R.** 1997. Impaired declarative memory for emotional stimuli following bilateral amygdala damage in human. – Learn. Mem. 4: 291-300.
- Berridge, C.W. and Abercrombie, E.D.** 1999. Relationship between locus coeruleus discharge rates and rates of norepinephrine release within neocortex as assessed by *in vivo* microdialysis. – Neurosci. 93: 1263-1270.
- Cahill, L., Haier, R., Fallon, J., Alkire, M., Tang, C., Keator, D., Wu, J. and McGaugh,**
- J.L.** 1996. Amygdala activity at encoding correlated with long-term, free recall of emotional information. – Proc. Nat. Acad. Sci. 93: 8016-8021.
- Cahill, L.** 2000. Modulation of long-term memory storage in humans by emotional arousal: adrenergic

- activation and the amygdala. In: Aggleton, J.P. (Ed.), *the Amygdala: A Functional Analysis.* – Oxford University Press, Oxford. pp. 425-445.
- Castellano, C., Brioni, J.D., Nagahara, A.H. and McGaugh, J.L.** 1989. Post-training systemic and intra-amygdala administration of the GABA-B agonist baclofen impairs retention. – *Behav. Neural. Biol.* 52: 170-179.
- Davis, M. and Shic, J.** 2000. The amygdale. – *Curr. Biol.* 10: 131-135.
- Davis, M.** 2000. The role of the amygdala in conditioned and unconditioned fear and anxiety. In *The Amygdala*, J.P. Aggleton, ed. – Oxford University Press. UK. pp. 213-288.
- Davis, M. and Whalen, P.J.** 2001. The amygdala: vigilance and emotion. – *Mol. Psychiatr.* 6:13-34.
- Dickinson, A.H., Mesches, M.H., Coleman, K. and McGaugh, J.L.** 1993. Bicuculline administered into the amygdala blocks benzodiazepine-induced amnesia. – *Behav. Neural. Biol.* 60: 1-4.
- Duque, A., Balatoni, B., Detari, L. and Zaborszky, L.** 2000. EEG correlation of the discharge properties of identified neurons in the basal forebrain. – *J. Neurophysiol.* 84: 1627-1635.
- Fallon, J.H., Koziell, D.A. and Moore, R.Y.** 1978. Catecholamine innervations of the basal forebrain. II. Amygdala, suprarhinal cortex and entorhinal cortex. – *J. Comp. Neurol.* 180: 509-531.
- Fanselow, M.S. and Poulos, A.M.** 2005. The neuroscience of mammalian associative learning. – *Annu. Rev. Psychol.* 56: 207-234.
- Ferry, B., Magistretti, P.J. and Pralong, E.** 1997. Noradrenaline modulates glutamate-mediated neurotransmission in the rat basolateral amygdala *in vitro*. – *Eur. J. Neurosci.* 9: 1356-1364.
- Filliol, D., Ghozland, S., Chluba, J., Martin, M., Matthes, H.W., Simonin, F., Befort, K., Gaveriaux-Ruff, C., LeMeur, M., Valverde, O., Maldonado, R. and Kieffer, B.L.** 2000. Mice deficient for delta- and mu-opioid receptors exhibit opposing alterations of emotional responses. – *Nat. Genetics* 25: 195-200.
- Gold, P.E. and McGaugh, J.L.** 1975. A single-trace, two process view of memory storage processes. In: Deutsch, D., Deutsch, J.A. (Eds.), *Short-Term Memory*. – Academic Press. New York. pp. 355-378.
- Hardmann, J.G., Limbird, L.R., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W. and Gilman, A.G.** 1996. Catechol amines and sympathomimetic drugs: endogenous catechol amines. *Pharmacological Basis of Therapeutics*. (9th edn). – McGraw-Hill. New York. pp. 204-248.
- Introini-Collison, I.B., Ford, L. and McGaugh, J.L.** 1995. Memory impairment induced by intra-amygdala b-endorphin is mediated by noradrenergic. – *Influences Neurobiol. Learn. Mem.* 63: 200-205.
- Johnson, S.W. and North, R.A.** 1992. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. – *J. Neurosci.* 12: 483-488.
- Kabuto, H., Yokoi, I., Iwaya, K. and Mori, A.** 1995. Monoamine release in the rat striatum is induced by delta-guanidinovaleric acid and inhibited by GABA agonists. – *Life. Sci.* 56: 1741-1748.
- Keay, K.A. and Bandler, R.** 2001. Parallel circuits mediating distinct emotional coping reactions to different types of stress. – *Neurosci. Biobehav. Rev.* 25: 669- 678.
- Le Doux, J.E.** 2000. Emotion circuits in the brain. – *Annu. Rev. Neurosci.* 23:155-184.
- Liang, K.C., McGaugh, J.L., Martinez, J., Jensen, R.A., Vasquez, B.J. and Messing, R.B.** 1982. Post training amygdala lesions impair retention of an inhibitory avoidance response. – *Behave. Brain. Res.* 4: 237-249.
- Maren, S. and Quirk, G.J.** 2004. Neuronal signaling of fear memory. – *Nature Rev. Neurosci.* 5: 844-852.
- McGaugh, J.L.** 2004. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. – *Annu. Rev. Neurosci.* 27: 1-28.
- McGaugh, J.L. and Gold, P.E.** 1976. Modulation of memory by electrical stimulation of the brain. In: Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L. (Eds.), *Neural Mechanisms of Learning and Memory*. – MIT Press. Cambridge. pp. 549-560.
- McGaugh, J.L., Cahill, L. and Roozendaal, B.** 1996. Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. – *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93: 13508-13514.
- Millan, M.J.** 2003. The neurobiology and control of anxious states. – *Prog. Neurobiol.* 70: 83244-83251.
- Koks, S., Soosaar, A., Voikar, V., Bourin, M. and Vasar, E.** 1999. BOC-CCK-4, CCK (B) receptor agonist, antagonizes anxiolytic-like action of morphine in elevated plus-maze. – *Neuropeptides.* 33: 63-69.
- Packard, M.G. and Teather, L.A.** 1998. Amygdala modulation of multiple sensory systems: hippocampus and caudate putamen. – *Neurobiol. Learn. Mem.* 69: 163-203.
- Parent, M.B., Quirarte, G.L., Cahill, L. and McGaugh, J.L.** 1995. Spared retention of inhibitory avoidance learning after post-training amygdala lesions. – *Behav. Neurosci.* 109: 803-807.

- Privette T.H and Terrian D.M.** 1995. Kappa opioid agonists produce anxiolytic-like behavior on the elevated plus-maze. – *Psychopharmacology* 118: 444-450.
- Quirarte, G. L., Roozendaal, B. and McGaugh, J.L.** 1997. Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral amygdala. – *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 14048-14053.
- Roozendaal, B., Sapolsky, R.M. and McGaugh, J.L.** 1998. Basolateral amygdala lesions block the disruptive effects of long-term adrenalectomy on spatial memory. – *Neurosci.* 84: 453-465.
- Sasaki, K., Fan, L.W., Tien, L.T., Ma, T., Loh, H.H. and Ho, I.K.** 2002. The interaction of morphine and gamma-aminobutyric acid (GABA)ergic systems in anxiolytic behavior: using mu-opioid receptor knockout mice. – *Brain. Res. Bull.* 57: 689-694.
- Salinas, J.A., Introini-Collison, I.B., Dalmaz, C. and McGaugh, J.L.** 1997. Posttraining intraamygdala infusions of oxotremorine and propranolol modulate storage of memory for reductions in reward magnitude. – *Neurobiol. Learn. Mem.* 68: 51-59.
- Schramm, N.L., McDonald, M.P. and Limbird, L.E.** 2001. The 2A-adrenergic receptor plays a protective role in mouse behavioral models of depression and anxiety. – *J. Neurosci.* 21: 4875-4882.
- Shin, I.C., Kim, H.C., Swanson, J., Hong, J.T. and Oh, K.W.** 2003. Anxiolytic effects of acutemorphine can be modulated by nitric oxide systems. – *Pharmacol.* 68: 183-189.
- Starke, K.** 2001. Presynaptic autoreceptors in the third decade: focus on α 2-adrenoceptors. – *J. Neurochem.* 78: 685-693.
- Tanakata, M., Yoshida, M., Emoto, H. and Ishii, H.** 2000. Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety basic studies. – *Eur. J. Pharmacol.* 405: 397-406.
- Tomaz, C., Dickinson-Anson, H. and McGaugh, J.L.** 1992. Basolateral amygdala lesions block diazepam-induced anterograde amnesia in an inhibitory avoidance task. – *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89: 3615-3619.
- Tsuda, M., Suzuki, T., Misawa, M. and Nagase, H.** 1996. Involvement of the opioid system in the anxiolytic effect of diazepam in mice. – *Eur. J. Pharmacol.* 307: 7-14.
- Zarrindast, M.R., Rostami, P., Zarei, M. and Roohbakhsh, A.** 2005. Intra cerebra ventricular effects of histaminergic agents' on morphine-induced anxiolysis in the elevated plus-maze in rats. – *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 97: 276-81.
- Zhang, H.T., Xu, Z.M., Luo, Z.P. and Qin, B.Y.** 1996. Anxiogenic effect of naltrexone in social interaction test in rats. – *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 17: 314-317.
- Zarrindast, M.R., Babapoor-Farrokhran, S., Babapoor-Farrokhran, S. and Rezayof, A.** 2008. Involvement of opioidergic system of the ventral hippocampus, the nucleus accumbens or the central amygdala in anxiety-related behavior. – *Life. Sci.* 82: 1175-1181.

Valizadegan, F., Oryan, S. and Zarrindast M.R. 2016. Impact of the interaction between morphine and α -noradrenergic system of basolateral Amygdala on anxiety-related behavior and memory. – *Nova Biol. Rep.* 3(1): 69-79.

ولیزادگان، ف.، عربان، ش. و زرین دست، م.ر. ۱۳۹۵. بررسی میانکنش بین مورفین و سیستم آلفا-نورآدرنرژیک در هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر اضطراب و حافظه. – *یافته‌های نوین در علوم زیستی* ۱۴: ۱-۳.