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

فرهاد ولی‌زادگان[۱*]، شهربانو عریان[۲]، محمدرضا زرین‌دست[۳]

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

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم پایهٔ دانشگاه مازندران، بابلسر
[۲]گروه علوم جانوری، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران
[۳]گروه فارماکولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
[*]مسئول مکاتبات: fh_valizadegan@yahoo.com

چکیده. هستهٔ 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 شش‌تایی ابتدا بیهوش و در دستگاه استریوتاکسیک قرار داده شده و هستهٔ قاعده-ای–جانبی آمیگدال به‌صورت دوطرفه کانول‌گذاری شدند. سپس در دستگاه آزمون elevated plus maze قرار داده شدند. پارامترهای میزان حضور در بازوهای باز، تعداد ورود به بازوهای باز و میزان فعالیت حرکتی حیوان تحت سنجش آماری قرار گرفت. به‌کارگیری درون‌صفاقی مورفین (۶ mg/kg)، درصد حضور در بازوهای باز را افزایش داد. تزریق درون BLA کلونیدین، (۴ µg/rat) اضطراب را افزایش داد. درحالی‌که تزریق توأمان درون BLA ترکیبات (۴ µg/rat)، و دوز غیرمؤثر مورفین (۴ mg/kg) افزایش معناداری را در OAT% در آزمون اضطراب یک‌پاسخ اضطراب‌زدا نشان داد. تزریق درون BLA یوهیمبین (۲ µg/rat)، موجب افزایش رفتارهای اضطرابی شد. درحالی‌که تزریق توأمان درون BLA کلونیدین (۴ µg/rat) همراه با دوز مؤثر مورفین (۶ mg/kg) نشان‌دهنده افزایش معنادار درOAT% است. به‌کارگیری توأمان دوزهای غیرمؤثر مورفین (۴ mg/kg) و یوهیمبین (۰/۵ µg/rat) به همراه دوز مؤثر کلونیدین (۴ µg/rat) نشان داد که یوهیمبین توانست اثر اضطراب‌زدایی مورفین و کلونیدین را برگرداند. سیستم‌های اپیوییدرژیک ونورآدرنرژیک، هردو سبب بروز تأثیر مشابه بر اضطراب و تثبیت حافظه شدند، اما این دو سیستم به‌صورت موازی عمل کردند و پیامدهای سینرژیستیک دارند.

واژه‌های کلیدی. داروهای نورآدرنرژیک، ناحیه آمیگدال، ماز صلیبی شکل بالاتر از زمینه، اپیوییدرژیک، 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 Oryan[2] and Mohammad Reza Zarrindast[3]

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]Deprtment 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 amygdale 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 intraperitonealy, while clonidine (1, 2, 4 µg/rat) and yohimbin (0.5, 1, 2 µg/rat) were injected to BLA. Open arm time percentage (%OAT), open arm entry (%0AE) 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, amygdale region, elevated plus maze, opiopidergic, rat

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

مقدمه

به‌نظر می‌رسد سازوکارهای نوروشیمیایی مختلفی می‌توانند رفتارهای اضطراب و ترس را تعدیل و تنظیم کنند (McGaugh, 2004).

اضطراب که خود تحت کنترل آمیگدال و هیپوکامپ است تحت تأثیر داروهای اضطراب‌زدا قرار می‌گیرد. درحالی‌که ترس مقاوم‌تر از اضطراب است و ممکن است ماده خاکستری دورقنات سیلویوس (PAG) جایگاه اصلی ایجاد آن باشد.

آمیگدال یکی از مهم‌ترین ساختارهای مغز برای تثبیت و ذخیره حافظه عاطفی است و طی آزمایش‌های بسیار زیادی با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی تحت بررسی قرار گرفته است و قادر است ازطریق پاسخ‌های ترس شرطی‌شده اندازه‌گیری شود (Fanselow & Poulos, 2005). به‌علاوه آمیگدال وجوه برانگیختگی مرتبط با یادگیری را در دیگر نواحی مغزی نظیر کورتکس و هیپوکامپ تغییر می‌دهد (McGaugh, 2004). از بی‌مهرگان تا انسان (McGaugh, 2004)، حافظه بلندمدت برای یک واقعه می‌تواند دقایق یا ساعاتی پس‌از یادگیری افزایش یا کاهش یابد. این امر منجر به ارائه این پیشنهاد شد که اشکال حافظه در طی زمان به آرامی شکل می‌گیرند که پدیده تثبیت نامیده می‌شود. اولین نشانه بروز این پدیده زمانی کشف شد که Muller و Pilzecker در سال ۱۹۰۰ گزارش کردند که حافظه اطلاعات تازه آموخته شده ازطریق یادگیری دیگر پدیده ها، کمی پس‌از اولین یادگیری قطع می‌شود. پس‌از آن، تثبیت حافظه اطلاعاتی که اخیراً یاد گرفته شده است برای دستکاری پس‌از یادگیری نیز توسط شوک‌های الکتروکانوالس (Cahill, 2000)، مهارکنندگان سنتز پروتئین (McGaugh, 2004)، تزریقات دارویی (Duque *et al.*, 2000) و تحریک الکتریکی نواحی مختلف مغز (McGaugh, 1996) صورت می‌گیرد. اگرچه افزایش فعالیت آمیگدال بلافاصله پس‌از به‌خاطرآوری بلندمدت تغییرات یادگیری صورت می‌گیرد (Parent *et al.*, 1995)، آمیگدال جایگاه ذخیره این حافظه نیست. آمیگدال پردازش‌های مربوط به ذخیره حافظه را در نواحی مغزی به راه می‌اندازد. نواحی دیگر در حافظه با تداعی معانی دخالت دارند (Liang *et al.*, 1982). شواهد متعددی نشان می‌دهد که بسیاری از نوروموددولیتورها ازطریق میان‌کنش با سیستم نورآدرنرژیک بر ذخیره حافظه تأثیر می‌گذارند (Cahill *et al.*, 1996).

آنتاگونیست‌های β- آدرنرژیک تزریق‌شده به درون آمیگدال تأثیر تعدیلی هورمون‌های استرس محیطی نظیر اپی‌نفرین و گلوکوکورتیکوییدها بر حافظه را در یادگیری اجتناب مهاری بلوکه می‌کنند. تزریق آنتاگونیست‌های α- آدرنرژیک به‌درون آمیگدال تأثیر تعدیل‌کننده حافظه القاء شده با داروهای مؤثر بر سیستم‌های گابائرژیک و اپیوییدرژیک را بلوکه می‌کند (Quirarte *et al.*, 1997). نتایج حاضر نشان می‌دهد که تزریق درون‌بطنی آگونیست رسپتور μ - اپیوید نظیر مورفین، اجتناب از بازوهای باز را طی آزمون کاهش داد که پیشنهادکننده یک پاسخ شبه اضطراب‌زدا در آزمون EPM است. به‌علاوه تأثیر اضطراب‌زدایی مورفین در آزمون Retest ظهور می‌کند. تأثیر فوق پیشنهاد می‌کند که تثبیت حافظه ناخوشایند در این گروه‌ها بهبود می‌یابد. به‌نظر می‌رسد روش بکارگیری مورفین و دوزهای مورد استفاده آن، عوامل تأثیرگذار اثر مورفین بر یادگیری و حافظه است. بعلاوه تزریق درون‌آمیگدالی پس‌از آموزش نوراپی‌نفرین (NE) و آگونیست‌های آدرنرژیک حافظه، به‌خاطرآوری اجتناب مهاری و آموزش آزمون آبی فضایی (spatial water-maze training) را به ترتیب افزایش می‌دهند و بهبود می‌بخشند. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که آزادشدن نورآدرنالین به‌درون آمیگدال القاشده با آموزش و داروها در تأثیر نوروموددولیتوری ذخیره حافظه دخالت مستقیم دارد (Introini-Collison *et al.*, 1995)، آمیگدال قاعده‌ای-جانبی به دلیل نقش آن در حافظه و یادگیری برای مطالعه در این تحقیق انتخاب شده است. از آنجاکه هیچ مطالعه‌ای تعدیل آمیگدال قاعده‌ای-جانبی را با سیستم‌های نورآدرنرژیک و اپیوئیدرژیک بر اضطراب و حافظه بررسی نکرده‌است، هدف این مطالعه ابتدا بررسی تأثیر تزریقات آگونیست و آنتاگونیست α- رسپتورهای نورآدرنالین به‌درون آمیگدال قاعده‌ای-جانبی و بررسی نقش احتمالی آن‌ها در رفتار مرتبط با اضطراب و شکل‌گیری حافظه با استفاده از آزمون (EPM) و ثانیاً بررسی تأثیر مورفین در این جایگاه و در نهایت نقش‌های برهم‌کنشی این دو سیستم بر رفتارهای ذکر شده است.

مواد و روش‌ها

موش‌های نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور تهران) به وزن ۲۰۰ ± ۲۰ گرم در هنگام جراحی مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات به‌صورت چهارتایی در قفس‌های استاندارد قرار داشتند و در اتاق حیوانات با چرخه نور-تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت و در دمای ۲۲ ± ۱ 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 قبل‌از جراحی سازگار شوند. حیوانات، هر روز پنج‌دقیقه قبل‌از جراحی مورد تیمار قرار می‌گرفتند. شش حیوان در هر گروه آزمایشی به‌کار 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

کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد به‌علاوه زایلزین ۲ درصد (Alpason, Woerdem, Holand) به‌صورت درون‌بطنی به موش‌ها تزریق شد و سپس آنها در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند. اهرم قدامی بالایی بر ۳/۳ میلی‌متر قرار گرفت و جمجمه به‌صورت افقی بین نقاط لامبدا و برگما مستقر شد. دوکانول راهنما به‌صورت دوطرفه (به منظور تزریقات از طریق کانول که ۵ تا ۷ روز بعد انجام می‌شد) در مغز موش‌ها قرار گرفت. تعیین یک نقطه به‌عنوان نقطه مرجع و براساس اطلس پاکسینوس و واتسون انجام شد. مختصات دقیق محل تزریق براساس اطلس به‌صورت AP = 2.8 mm، ML = ± 5 mm، DV = - 6.5 mm بود. کانول‌ها در جمجمه به‌وسیله رزین آکریلیک محکم شدند. یک سیم نازک درون هر کانول راهنما، به منظور جلوگیری از بسته‌شدن آنها قرار گرفت. بعد از جراحی، موش‌ها دوباره به قفس‌های خود برگردانده شدند و در گروه‌های چهارتایی قرار داده شدند که شبیه پیش‌از جراحی بود. ۵ تا ۷ روز بعد موش‌ها یک تزریق درون (BLA) دوطرفه دریافت کردند که به‌وسیله سوزن‌های دندان‌پزشکی (gauge – ۲۷) انجام شد که به‌درون کانول‌های راهنما فرستاده شده بود. انتهای سوزن‌های مذکور، ۱ میلی‌متر بالای انتهای کانول‌های راهنما قرار گرفتند. FL ۱ از محلول‌های تزریقی در هر طرف، طی ۶۰ ثانیه به درون (BLA) فرستاده شد که این کار با استفاده از سرنگ همیلتون FL ۲/۵ انجام شد. یک کاتتر پلی‌اتیلن به انتهای سوزن دندان‌پزشکی متصل شد و برای تزریق به‌کار رفت. یک حباب هوا درون لوله پلی‌اتیلن به‌عنوان یک نشانگر برای مشاهده تزریق دقیق دارو ایجاد شد. سوزن‌ها پس از تکمیل تزریق طی ۶۰ ثانیه برداشته شدند.

دستگاه آزمایش ماز صلیبی‌شکل بالاتر از زمینه (EPM)

ماز صلیبی‌شکل بالاتر از زمینه (EPM)، یک وسیله چوبی به‌علاوه‌ای‌شکل است که از چهار بازو به شکل به‌علاوه ساخته شده است. دو بازو هیچ دیواره‌ای ندارند (بازوی باز ۱۰ cm ×۵۰). دو بازوی دیگر دارای دیواره بوده اما بالای آنها باز است (بازوی بسته؛ ۴۰ cm× ۱۰× ۵۰). جایی که بازوها به هم می‌رسند یک سکوی میدانی‌شکل دارد با ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی‌متر. ماز، ۵۰ سانتی‌متر بالای سطح زمین قرار دارد. حیوان در این میدان میانی قرار می‌گیرد. موش‌ها به‌صورت تکی در مرکز باز قرار می‌گیرند و صورت آنها رو به بازوی باز است و سپس به‌مدت ۵ دقیقه به‌صورت 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 گذرانده‌شده 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 قبلاً ذکر شد، ما از EPM برای سنجش میزان حافظه و رفتارهای شبه‌اضطرابی استفاده کردیم که بر اساس یک الگوی test-retest انجام شد. موش‌ها، یک ساعت قبل‌از آزمون به اتاق آزمایش آورده می‌شدند تا با محیط آزمایش سازگار شوند. آنها سپس به‌صورت جداگانه در قسمت ابتدایی بازوی باز و در مرکز بازو قرار می‌گرفتند و به مدت پنج‌دقیقه به رفتار جستجوگرانه می‌پرداختند. آزمایش‌ها در نور حاصل از یک لامپ ۶۰ واتی که به ماز می‌تابید انجام شد. مشاهده‌گر که حداقل یک متر دورتر از دستگاه ایستاده بود با استفاده از کرنومتر پارامترهای سنجشی را که قبلاً ذکر شد را اندازه‌گیری

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

می‌کرد. ماز پس از هر آزمون توسط آب مقطر و الکل شسته و تمیز می‌شد. داده‌های خام ثبت‌شده برای محاسبه (OAT%) (درصد زمان گذرانده‌شده در بازوی باز) به‌کار می‌رفت. کل زمان گذرانده‌شده 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 حرکتی درنظر گرفته شد. یافته‌ها طی سنجش رفتاری (EPM) نیز با برانگیختگی مرتبط است. روش test-retest، روشی مناسب برای آزمایش وجوه مرتبط با اضطراب و حافظه است. درمجموع، حیوانات اطلاعاتی با توجه به محیط‌های امن و بی‌خطر در ماز طی آزمون بدست آوردند. تکرار آزمون از (EPM) (۲۴ ساعت پس‌از آزمون) تغییرات رفتاری وابسته به تجربه را القا کرده و نشانگر شاخصی از کسب، تثبیت و به‌خاطرآوری است. هنگامی‌که 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 کتامین و زایلزین به نسبت ۵ به ۱ برای بیهوشی حیوانات به‌وسیله سرنگ انسولین در مقادیر میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم وزن بدن موش و به‌صورت درون‌صفاقی به موش‌ها تزریق شد. مورفین سولفات (به‌منزله یک آگونیست رسپتور اپیوییدی mu)، برای تزریق درون‌بطنی (i.p)، (Temad, Iran) در محلول سالین حل شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. کلونیدین (به‌منزله آگونیست α- آدرنورسپتور) (Irandarou)، برای تزریق درون BLA و یوهیمبین (بعنوان آنتاگونیست α - آدرنورسپتور) (Irandarou Iran) به‌صورت درون BLA تزریق شدند. کلونیدین و یوهیمبین در سالین استریل ۰/۹ درصد حل شدند. سپس در مقادیر پیش‌گفته به‌وسیله سرنگ همیلتون و با استفاده از لوله نازک پلی‌اتیلنی که به سرنگ متصل می‌شد، در حجم ۰/۲ میلی‌لیتر در هر کانول و در طی ۴۵ ثانیه به‌آرامی 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 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 به‌دست‌آوردن نرمالیته توزیع و همگنی واریانس، نتایج به‌صورت آماری به‌وسیله تحلیل واریانس one- way ANOVA بررسی شدند. Mean ± SEM برای مقایسه خروجی‌های میان گروه‌های آزمایشی با کنترل آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت. زمانی‌که F-value، معنی‌دار بود، تحلیل post-hoc (tukey test) انجام شد. تفاوت با $p<0.05$ میان گروه‌ها، به‌لحاظ آماری معنی‌دار تلقی شد. همچنین از آزمون T و repeated measures نیز برای تعیین معناداری بین دو شکل متناظر استفاده شد.

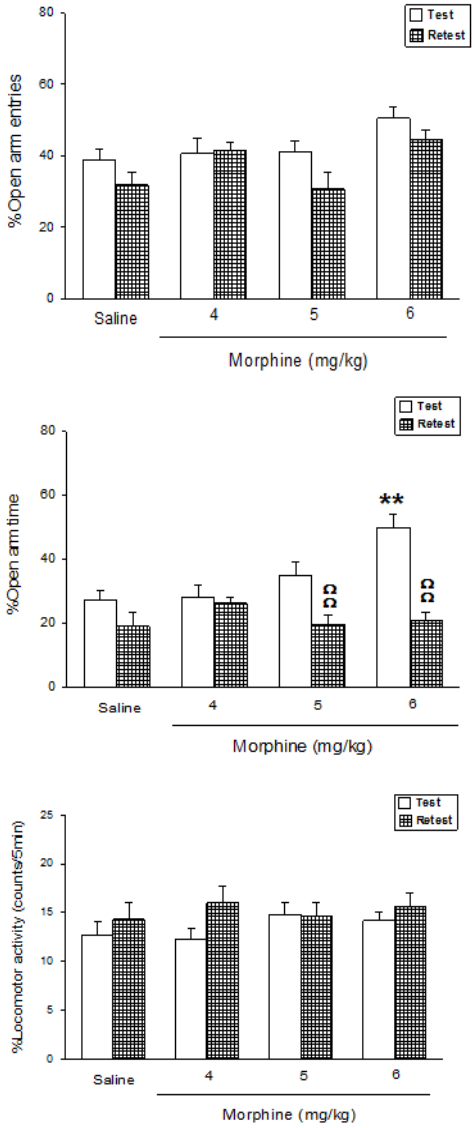
نتایج

تأثیر مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و شکل‌گیری حافظه

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در تزریق درون‌صفاقی دوزهای مختلف، مورفین، حداکثر تأثیر را در دوز (۶ mg/kg) درکاهش اضطراب در مرحله test (بر زمان حضور در بازوی باز) ایجادکرد، 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 به‌صورت وابسته به دوز، [$F(3, 20) = 17.564$; $p<0.001$; OAT%] را افزایش داد که نشان‌دهنده یک پاسخ اضطراب‌زدا بود و حافظه به‌وسیله مورفین بهبود پیدا کرده است. هیچ تغییر معنی‌داری در [$F(3,20) = 2.2990$; $p<0.001$ OAE%] مشاهده نشد و فعالیت حرکتی [$F(3.20) = 1.017$; $p<0.001$] تغییر معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۱).

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]



شکل ۱- تأثیر مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و شکل‌گیری حافظه.

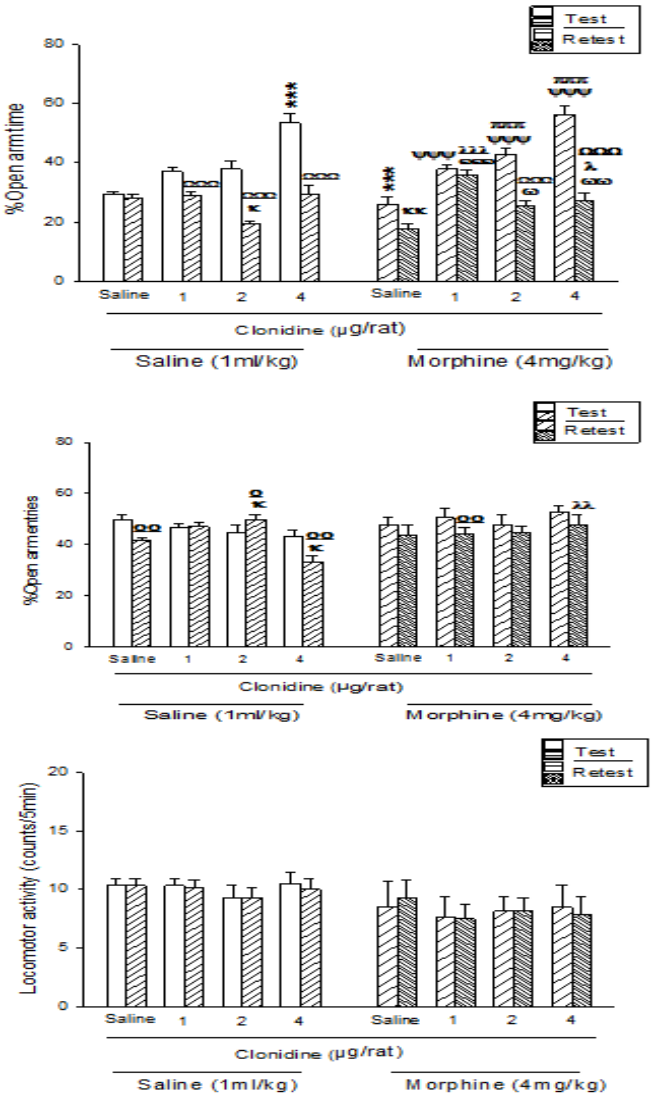
Fig. 1. Effects of morphine injection on anxiety and memor.

تأثیر کلونیدین به تنهایی یا همراه با مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و تشکیل حافظه

تأثیر کلونیدین به تنهایی یا با مورفین بر حافظه و اضطراب در شکل ۲ نشان داده شده است. تحلیل one-way ANOVA نشان می‌دهد که کلونیدین (۴ µg/rat درون آمیگدال قاعده‌ای-جانبی) تأثیر اضطراب‌زدایی درخور توجهی را نشان میدهد [$F_{(3,20)} = 19.800$; $p<0.001$]. تزریقات کلونیدین در تمام دوزها به همراه مورفین تفاوت معناداری را در مقادیر OAT% با استفاده از تحلیل two-way ANOVA نشان می-دهد [$F_{treatment}$ (3,40) = 130.422; $p<0.001$]، $F_{session}$ (1,40) = 283.291; $p<0.001$] , [$F_{treatment \times session}$ (3,40) = 3.192; $p<0.05$]. می‌توان چنین نتیجه گرفت که کلونیدین و مورفین، دارای اثر سینرژیستیک یا هم‌افزا در کاهش میزان اضطراب در آزمون (EPM) هستند. تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که میزان فعالیت حرکتی درپی تزریق کلونیدین (۴ µg/rat) [$F_{(3,20)} = 4.00$; $p<0.05$] تغییری نکرد. تزریق کلونیدین به همراه مورفین نیز با توجه به تحلیل two-way ANOVA تغییری نکرده است [$F_{treatment}$ (3,40) = 0.129, $p<0.05$], [$F_{session}$ (1,40) = 3.779, $p<0.05$], [$F_{treatment \times session}$ (3,40) = 0.098, $p<0.05$].

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]



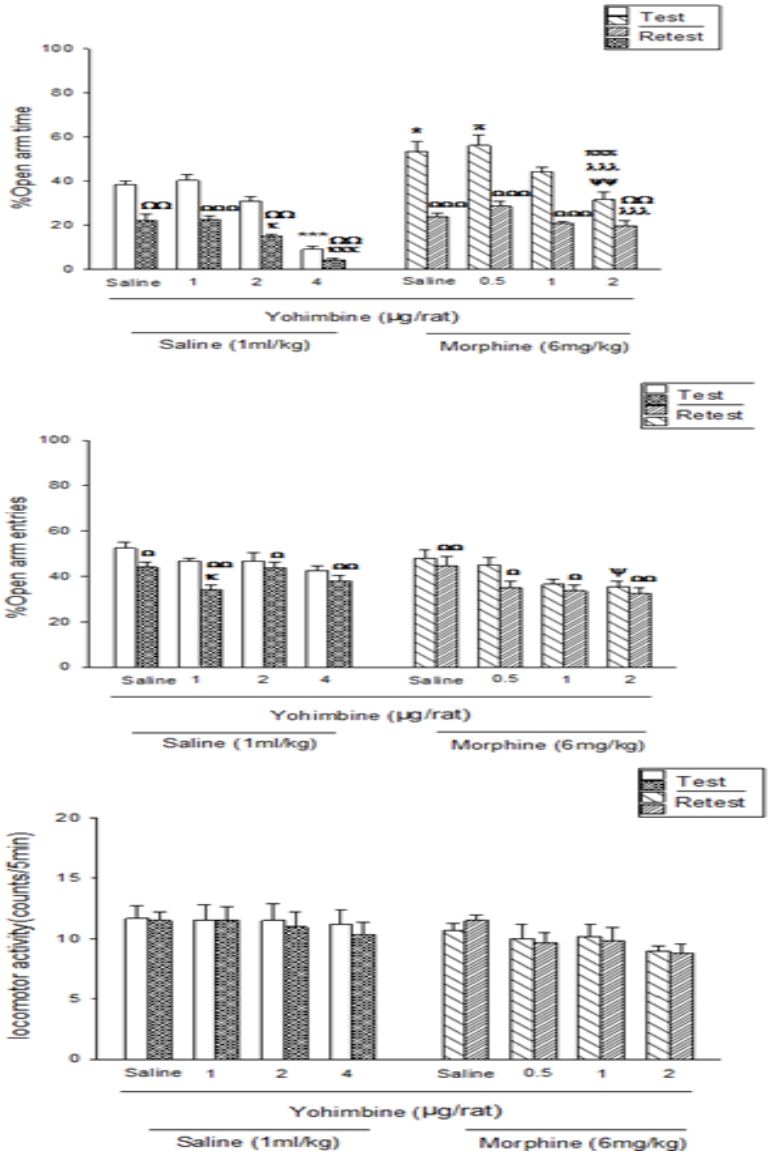
شکل ۲- تأثیر تزریق کلونیدین درون BLA، به تنهایی یا به همراه با مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و به‌خاطرآوری حافظه.

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

تحلیل واریانس یک‌طرفه در بال اثر کلونیدین بر حافظه تفاوت معناداری را در مقدار [$F_{(3,20)} = 7.454$; $p<0.001$; OAT%] و [$F_{(3.20)} = 17.958$; $p<0.001$ OAE%] در مرحله retest در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. اما پارامترهای مذکور درپی تزریق کلونیدین و مورفین به‌صورت توأمان، افزایش معنی‌داری را در مقادیر OAT% براساس تحلیل واریانس دوطرفه [$F_{treatment}$ (3,40) = 14.266, $p<0.001$, $F_{session}$ (1,40) = 0.010, $p<0.001$] $F_{treatment \times session}$ (3,40) = 9.966, $p<0.001$)] در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. آزمون‌های T انجام‌شده نیز از تفاوت معناداری در مقادیر OAT% و OAE% به‌دست 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, $p<0.001$, $F_{1 \times group}$ (3,20) =] ,[F_{group} (1,20) = 20.506, $p<0.001$] .[37.751, $p<0.001$

تأثیر تزریق یوهیمبین درون BLA، به تنهایی یا همراه با مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و به‌خاطرآوری حافظه

تحلیل one-way ANOVA نشان می‌دهد که یوهیمبین با دوز (۲ µg/rat) درون BLA درصد حضور در بازوی باز را کاهش داده و موجب افزایش میزان اضطراب شده است (شکل ۳). کاهش یافت. [$F_{treatment}$ (3,40) = 32.954, p<0.001] و تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که اثر اضطراب‌زدای مورفین [$F_{session}$ (1,40) = 57.774, p<0.001] و فرمول دیگر به شکل (۶ mg/kg)، درپی تزریق دوز مؤثر یوهیمبین (۲ µg/rat)



شکل ۳- تأثیر تزریق یوهیمبین درون BLA، به تنهایی یا همراه با مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و به‌خاطرآوری حافظه.

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

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

[F (3,20) = 4.97 ،p<0.05].

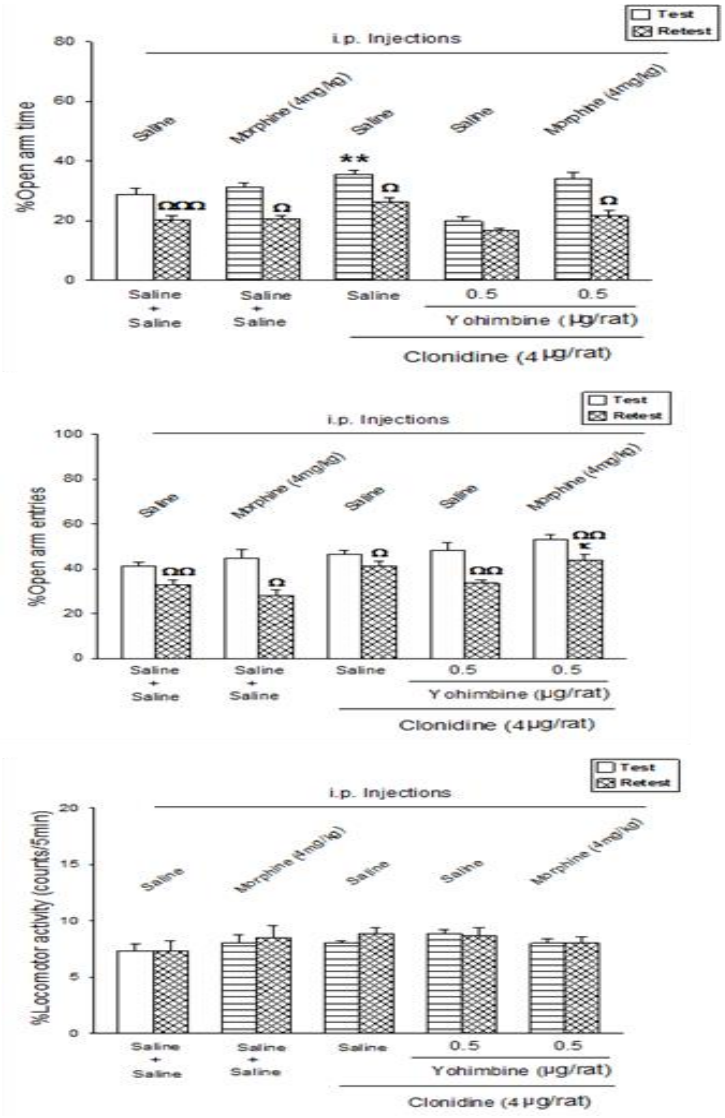
با استفاده از تحلیل واریانس دوطرفه می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر یوهیمبین تزریق‌شده در BLA در افزایش حافظه، درپی به‌کارگیری دوز مؤثر مورفین از بین می‌رود. این نتیجه را می‌توان در ارتباط با پارامتر OAT% کسب کرد [= $F_{treatment}$ (3,40) [20.739, p<0.001 , , [$F_{session}$ (1,40) = 31.117, [$F_{treatment \times session}$ (3,40) = 4.992, p<0.01, [p<0.001]. مقادیر آماری مربوط به آزمون T و آزمون repeated

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

measures نیز یافته‌های مزبور را تأیید می‌کنند [F_1 (1, 20) = 291.856, p<0.001] , [F_{group} (1,20) = 6.742, p<0.01]. [$F_{1 \times group}$ (3, 20) = 8.714, p<0.01].

تأثیر کلونیدین و یوهیمبین یا کلونیدین و یوهیمبین همراه با مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و تشکیل حافظه

شکل ۴، تأثیر تزریق درون BLA یوهیمبین را بر رفتار جست‌و جوگرانه القاشده به‌وسیله کلونیدین و کلونیدین به همراه مورفین نشان می‌دهد. موش‌ها، ۵ دقیقه پس‌از تزریق سالین (ml/rat ۱) یا کلونیدین (µg/rat ۴) در آنهایی‌که توسط سالین (ml/rat ۱) یا دوز زیرآستانه‌ای یوهیمبین 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 غیرمؤثر یوهیمبین، درصد حضور در بازوی باز [OAT% ; p<0.001 =16.941 F (4,25)] و درصد تعداد ورود به بازوی باز [2.230 = F (4,25)] القاشده به‌وسیله کلوییدین در مرحله test را کاهش داد. این کاهش کمتر از میزان کاهش در حضور مورفین بود. این نتایج در مرحله retest برای OAT% [p<0.001 ,4.132= F (4,25)] و OAE% [p < 0.001 ,8.501= F (4,25)] مشابه نتایج فوق بود.



شکل ۴- تأثیر کلونیدین و یوهیمبین یا کلونیدین و یوهیمبین همراه با مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و تشکیل حافظه.

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

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

بحث

اضطراب، پاسخ سازگارکننده‌ای است که فرد را برای رویارویی با خطرهای واقعی یا بالقوه، آماده می‌کند. مشخص شده است که به‌کارگیری سیستمیک مورفین، تأثیر شبه‌اضطراب‌زدایی را القا می‌کند (Zarrindast *et al.*, 2005). درمقابل، آنتاگونیست‌های رسپتور اوپیوییدی، اضطراب در انواع مختلف مدل‌های رفتاری، نظیر "EPM"، را افزایش می‌دهند (Tsuda *et al.*, 1996). کاوکی و همکاران (۲۰۰۶)، گزارش دادند که در مورد اضطراب تزریق دارویی مورفین به درون بطن‌های مغزی "i.c.v" یا (intra-cereberoventricular injection)، تأثیر درخور توجهی دارد، که احتمالاً ازطریق سیستم "وازوپرسینرژیک" و مسیرهای "نیتریک اکساید" (NO)، میانجی‌گری 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 می‌دهد، که نشان‌دهنده اثر شبه‌اضطراب‌زدایی آن است (Filliol *et al.*, 2000). تزریق آنتاگونیست رسپتور "دلتا" (Delta)، نظیر نالتریندول (Naltrindole)، به صورت"i.c.v"، اضطراب را در آزمون تاریک–روشن(light-dark test)، افزایش می‌دهند. (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–اوپیوییدی، مثل نالوکسان، درون هیپوکامپ شکمی یا هسته اکومبنس، پاسخ شبه‌اضطراب‌زدایی ناشی از مورفین را بلوکه می‌کند. محققان چنین اثر اضطراب-زدایی ناشی از نالوکسان را به تداخل میان سیستم‌های اوپیوییدرژیک و گابائرژیک نسبت می‌دهند.

مورفین ازطریق رسپتورهای μ– اوپیوییدی، اثر اضطراب‌زدایی خود را احتمالاً ازطریق میان‌کنش با سیستم گابا به انجام می-رساند (Kabuto *et al.*, 1995). به‌طوری‌که مورفین، با سرکوب ورودی‌های مهاری گابا، بر نورون‌های دوپامینرژیک مزولیمبیک که از هسته"VTA"(ventral tegmentum area) می‌آیند این تأثیر را اعمال می‌کند (Davis, 2000).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در تزریق درون‌صفاقی دوزهای مختلف، مورفین، حداکثر تأثیر را در دوز mg/kg ۶ درکاهش اضطراب در مرحله test (بر زمان حضور در بازوی باز) ایجادکرد، اما تأثیر معناداری، بر تعداد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان نداشت (شکل ۱). یافته فوق به‌وضوح، حاکی از اثر اضطراب‌زدایی مورفین تزریق‌شده در BLA، در دوز اشاره‌شده است، که با مطالعات پیش‌گفته هم‌خوان 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 پیش‌گفته، تغییر معناداری در مقایسه با گروه کنترل نشان نمی‌دهند، که حاکی از حفظ سطوح اکتساب حافظه علی‌رغم تغییرات اضطرابی ایجادشده 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.

درمجموع، 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، ازجمله هیپوتالاموس، آمیگدال و لوکوس سرولیوس می‌شود. "یوهیمبین" (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، ازجمله به‌کارگیری آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های مختلف گیرنده α_2- آدرنرژیک در مدل‌های حیوانی اضطراب، متناقض است که شاید به دلیل میان‌کنش‌های متعدد این گیرنده‌ها با دیگرگیرنده‌های مونوآمینی در مغز باشد

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

(Schramm *et al.*, 2001). آزادشدن نورآدرنالین در اثر تحریک آمیگدال از هسته لوکوس سرولیوس، بر نورون‌های حرکتی یا از طریق پروجکشن به نورون‌های "رافه" واجد سروتونین می‌تواند منجر به افزایش فعالیت حرکتی طی ترس و اضطراب شود. زیرا هم نورآدرنالین و هم ۵-هیدروکسی تریپتامین یا 5-HT، تحریک نورون‌های حرکتی را تسهیل می‌کنند (Keay & Bandler, 2001). تأثیر نورآدرنالین در بخش آمیگدال قسمت قاعده‌ای-جانبی، عمدتا ناشی از ورودی‌های نورآدرنرژیک به BLA است که خود از لوکوس سرولیوس منشأ می‌گیرند (Fallon *et al.*, 1978).

تأثیر نورآدرنالین در آمیگدال قاعده‌ای-جانبی، عمدتا 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. به‌علاوه، همبستگی زیادی میان سرعت فایرینگ لوکوس سرولیوس و غلظت نورآدرنالین در جایگاه‌های پروجکشن آنها وجود دارد (Berridge & Abercrombie, 1999)؛ بنابراین، غلظت افزایش‌یافته نورآدرنالین درپی استرس در آمیگدال مشاهده شده است.

فعال‌شدن α-آدرنورسپتورها، ترانسمیشن گلوتاماترژیک را کاهش می‌دهد (Ferry *et al.*, 1997). مطالعات نشان داده است که زیر نوع α_1- آدرنورسپتور، به‌صورت 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 فعال‌بودن β-آدرنورسپتورها انجام می‌دهند (Starke, 2001). α_2-آدرنورسپتورها، که به‌صورت پیش-سیناپسی قرار دارند، آزادسازی نوروترانسمیتر را در آمیگدال مهار می‌کنند (Ferry, 1997).

مطالعات اخیر که براساس تحریک الکتریکی ساختارهای مغزی جداشده، انجام گرفته است، حاکی از نقش آمیگدال در تعدیل تثبیت حافظه است (Gold & McGaugh, 1975). مطالعاتی که براساس تخریب یا ایجاد ضایعه انجام شده است نشان می‌دهد که آمیگدال اثر تسهیل‌کنندگی هورمون‌های استرس بر حافظه را میانجی‌گری می‌کند. به‌علاوه، مشخص شده است که تخریب یا غیرفعال‌کردن کمپلکس قاعده‌ای-جانبی آمیگدال (BLA) و نه هسته مرکزی آمیگدال (CeA)، تأثیر تعدیل‌کنندگی بر حافظه که از طریق آدرنالکتومی ایجاد می‌شود، را بلوکه می‌کند، همان‌گونه که درپی اعمال یا تزریق گلوکوکورتیکوییدهای محیطی (Roozendaal *et al.*, 1996) یا مصرف دیازپام (Tomaz *et al.*, 1992) ایجاد می‌شود. به‌علاوه، نتایج مشابهی درپی تخریب ساختار استریاترمینالیس (Stria terminalis)، که یکی از مسیرهای اصلی خروجی آمیگدال است، حاصل شده است. تغییر فعالیت آمیگدال بلافاصله بعد از یادگیری، بر به‌یادآوری بلندمدت، اثر می‌گذارد، اما تخریب‌های اعمال‌شده بر BLA هیچ تأثیری بر این روند ندارد (Parent *et al.*, 1995). این موضوع نشان می‌دهد که تأثیر تنظیم‌کنندگی 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 اعمال‌شده پس‌از یادگیری، که احتمالاً تحریک‌پذیری BLA و نه CeA را کاهش یا افزایش می‌دهد، به‌خاطرآوری را به ترتیب کم و زیاد می‌کند؛ برای مثال تزریق لیدوکایین به‌درون BLA، به‌صورت موضعی، به‌خاطرآوری را کاهش می‌دهد (Parent & McGaugh, 1994). این یافته در مورد تزریق آگونیست‌های $GABA_a$ و $GABA_b$ (Castellano *et al.*, 1995)، و آنتاگونیست‌های رسپتور β-آدرنرژیک (Roozendaal *et al.*, 1995) نیز صادق است. درعوض، به‌خاطرآوری، درپی تزریقات درون آمیگدالی بیکوکولین (Dickinson *et al.*, 1993)، آگونیست‌های رسپتورهای β-آدرنرژیک (Ferry *et al.*, 1993) و موسکارینی (Salinas *et al.*, 1993) افزایش می‌یابد. مطالعات پاکارد و همکاران (۱۹۹۴)، نشان می‌دهد که تزریق آمفتامین‌ها پس‌از یادگیری، درون BLA، ذخیره هیپوکامپی اطلاعات فضایی را در آزمون "hidden platform water maze" افزایش می‌دهد و اطلاعات پاسخ در آزمون "visible platform water maze" را زیاد می‌کند. درحالی‌که، تزریق درون آمیگدالی لیدوکایین، بلافاصله قبل آزمون به-

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

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

تأثیر نورآدرنالین، که عمدتاً ناشی از مهار پیش‌سیناپسی است، از آزادسازی گلوتامات در BLA حاصل می‌شود، که خود ازطریق رسپتورهای α_2، میانجی‌گری می‌شوند. براساس نظر فری و همکارانش (۱۹۹۷)، اثر فعال‌شدن 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، ازطریق مهار برخی زیرنوع‌های جریان‌های پتاسیم وابسته به کلسیم و ۲-تسهیل‌شدگی 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، به‌منزله آگونیست رسپتورهای α_2 آدرنرژیک، موجب افزایش درصد ورود به بازوهای باز (%OAT) شد (شکل ۲). تحلیل post hoc نشان می‌دهد که کلونیدین در دوز اشاره‌شده سبب بروز پاسخ‌های اضطراب‌زدا شد تزریق دوزهای مختلف کلونیدین به همراه دوز بی‌اثر مورفین (۴ mg/kg) تأثیر اضطراب‌زدایی درخورتوجهی 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 سوی دیگر، تحلیل واریانس دوطرفه نیز تفاوت‌های معناداری در مقادیر %OAT، در دوزهای ۲ و۴ میکروگرم کلونیدین (به همراه مورفین)، در مقایسه با گروه‌های متناظر خود (گروه‌هایی که دوزهای ۲ و۴ 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 سینرژیستیک یا هم‌افزا 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 مزبور، در پی تزریق کلونیدین به همراه مورفین افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل خود نشان دادند. آزمون‌های "T" انجام‌شده نیز از تفاوت معناداری در مقادیر %OAT و %OAE به‌دست 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.

درمجموع، می‌توان نتیجه گرفت که تزریق کلونیدین درون BLA، در دوزهای به‌کاررفته، تغییری در میزان اکتساب و/ یا تثبیت حافظه در آزمون EPM ایجاد نکرد. اما اعمال دوز کلونیدین، به همراه دوز بی‌اثر مورفین به‌صورت درون‌صفاقی، سبب کاهش در روند اکتساب و/ یا تثبیت حافظه شد. درنهایت می‌توان گفت که کلونیدین و مورفین در روند کاهش اضطراب و کاهش حافظه مرتبط با آن، در آزمونEPM ، به‌صورت هم-افزا عمل می‌کنند. گفتنی است که در کلیه آزمایش‌های فوق، تمام تحلیل‌های آماری انجام‌شده حاکی از عدم تغییر معنادار در میزان فعالیت حرکتی حیوان هستند. نتایج آزمون آماری repeated measures نیز نشان‌دهنده ارتباط معنادار بین روند تغییرات در اضطراب و حافظه است.

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

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

یوهیمبین (µg/rat ۲)، کاهش یافت (شکل ۳). در باب اثر داروهای مزبور بر حافظه، آزمون‌های T انجام‌شده نشان می‌دهند که تمامی گروه‌های آزمایشی در روز دوم (مرحله retest)، نسبت به روز اول حافظه داشتند. تحلیل واریانس یک‌طرفه، نشان‌دهنده یک کاهش معنادار در مقدار %OAT، در مرحله retest، مربوط به موش‌هایی که دوز ۲ میکروگرم یوهیمبین را دریافت کردند، در مقایسه با گروه کنترل است. این امر نشان-دهنده افزایش در میزان اکتساب حافظه، درپی دریافت این دوز از یوهیمبین در این موش‌هاست. ازسوی دیگر، براساس نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه، تزریق دوز مؤثر مورفین (mg/kg ۶)، درپی تزریق دوز مؤثر یوهیمبین (µg/rat ۲)، تفاوت معناداری را در مقایسه با گروه کنترل خود نشان نمی‌دهد. علاوه‌براین، تحلیل واریانس دوطرفه نیز، نشان‌دهنده یک افزایش بارز در میزان %OAT مربوط به مرحله retest در گروه مذکور در مقایسه با گروهی است که دوز مؤثر یوهیمبین را دریافت کرده بودند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که تأثیرات یوهیمبین تزریق‌شده در BLA در افزایش حافظه، درپی به‌کارگیری دوز مؤثر مورفین از بین می‌رود. گفتنی است که آزمون‌های آماری repeated measures نیز نشان‌دهنده ارتباط معناداری میان روند تغییرات در میزان اضطراب و حافظه هستند. این امر نشان می‌دهد که تغییر در میزان اضطراب درپی 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 یوهیمبین همراه با مورفین تحلیل واریانس یک‌طرفه، نشان می‌دهد که دوز بی‌اثر یوهیمبین توانست تأثیر اضطراب‌زدایی کلونیدین را برگرداند. اعمال درون‌صفاقی مورفین به همراه داروهای فوق نیز تا حدودی اثر اضطراب‌زدایی 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 درپی آزمایش‌ها، دیده نشد (شکل ۴).

با توجه به آزمایش‌های انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که فعال‌شدن سیستم نورآدرنرژیک آلفا و بتا، چنان‌که در بخش نتایج دیده می‌شود، موجب کاهش اضطراب شده و بلوکه‌شدن رسپتورهای آن توسط آنتاگونیست‌های نورآدرنرژیک، موجب معکوس‌شدن اثر اضطراب‌زدایی اشاره‌شده می‌شود.

در آزمایش‌های مربوط به ثبت حافظه، با توجه به نتایج تحلیل-های مختلف آماری، دست‌کم در دوزهایی که در این آزمایش به‌کار رفته است، آگونیست‌های نورآدرنرژیک، تأثیر درخور توجهی بر تثبیت حافظه ندارند. اما اعمال آنتاگونیست‌های نورآدرنرژیک در هسته BLA سبب افزایش تثبیت حافظه شدند. به‌کارگیری مورفین، تأثیری بر تثبیت حافظه نداشت.

به نظر می‌رسد سیستم‌های اپیوییدرژیک و نورآدرنرژیک، هردو سبب بروز تأثیر مشابه بر اضطراب و تثبیت حافظه شدند، اما با توجه به یافته‌ها، این دو سیستم به‌صورت موازی عمل می‌کند و اثر مشابهی دارند. ولی احتمالاً این اثر، تنها به‌صورت سینرژیستیک بوده و اثر این دو سیستم مودولیتوری، بر اضطراب و تثبیت 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.

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 amygdale 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 humansby emotional arousal: adrenergic

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

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. Neurosc. 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. Biohav. 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\J.L. 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 amygdale lesions. – Behav. Neurosci. 109: 803-807.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]

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 aprotective 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 α2-adrenoceptors. – J. Neurochem. 78: 685-693.

Tanakata, M., Yoshida, M., Emoto, H. and Ishii, H. 2000. Noradrenaline systems inthe hypothalamus, amygdale 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' onmorphine-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 socialinteraction 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 nucleusaccumbens 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.، عریان، ش. و زرین‌دست، م.ر. ۱۳۹۵. بررسی میان‌کنش بین مورفین و سیستم آلفا- نورآدرنرژیک در هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر اضطراب و حافظه. – یافته های نوین در علوم زیستی ۳: ۱۴-۱.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.1.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.1]