

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

فرهاد ولی‌زادگان<sup>۱\*</sup>، شهربانو عریان<sup>۲</sup>، محمدرضا زرین‌دست<sup>۳</sup>

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

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران، بابلسر

<sup>۲</sup> گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران

<sup>۳</sup> 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 نورآدرنژیک بر رفتارهای اضطرابی و حافظه بود. موش‌های نر به صورت گروه‌های شش‌تایی ابتدا بیهوش و در دستگاه استریوتاکسیک قرار داده شده و هسته قاعده-ای-جانبی آمیگدال به صورت 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. به کارگیری درون‌صفافی 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)، 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 در OAT% است. به کارگیری 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 اپیویدرژیک و نورآدرنژیک، هر دو سبب بروز تأثیر مشابه بر اضطراب و تثبیت حافظه شدند، اما این دو سیستم به صورت موازی عمل کردند و پیامدهای سینرژستیک دارند.

**واژه‌های کلیدی.** داروهای نورآدرنژیک، ناحیه آمیگدال، ماز صلیبی شکل بالاتر از زمینه، اپیویدرژیک، موش صحرائی

## Impact of the interaction between morphine and $\alpha$ -noradrenergic system of basolateral Amygdala on anxiety-related behavior and memory

Farhad Valizadegan<sup>1\*</sup>, Shahrbanoo Oryan<sup>2</sup> and Mohammad Reza Zarrindast<sup>3</sup>

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

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran

<sup>2</sup>Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

<sup>3</sup>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  $\alpha$ -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 yohimbin (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  $\alpha$ -noradrenergic system on anxiety.

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

## مقدمه

نشان می‌دهد که بسیاری از نورومودولیتورها از طریق میان کنش با سیستم نورآدرنژیک بر ذخیره حافظه تأثیر می‌گذارند (Cahill et al., 1996).

آنتاگونیست‌های  $\beta$ -آدرنژیک تزریق شده به درون آمیگدال تأثیر تعدیلی هورمون‌های استرس محیطی نظیر اپینفرین و گلوکوکورتیکوئیدها بر حافظه را در یادگیری اجتناب مهاری بلوکه می‌کنند. تزریق آنتاگونیست‌های  $\alpha$ -آدرنژیک به درون آمیگدال تأثیر تعدیل‌کننده حافظه القاء شده با داروهای مؤثر بر سیستم‌های گابائریک و اپیوئیدریک را بلوکه می‌کند (Quirarte et al., 1997). نتایج حاضر نشان می‌دهد که تزریق درون‌بطنی آگونیست رسپتور  $\mu$ -اپیوئید نظیر مورفین، اجتناب از بازوهای باز را طی آزمون کاهش داد که پیشنهادکننده یک پاسخ شبه اضطراب‌زدا در آزمون EPM است. به علاوه تأثیر اضطراب‌زدایی مورفین در آزمون Retest ظهور می‌کند. تأثیر فوق پیشنهاد می‌کند که تثبیت حافظه ناخوشایند در این گروه‌ها بهبود می‌یابد. به نظر می‌رسد روش بکارگیری مورفین و دوزهای مورد استفاده آن، عوامل تأثیرگذار اثر مورفین بر یادگیری و حافظه است. به علاوه تزریق درون‌آمیگدالی پس از آموزش نوراپی‌نفرین (NE) و آگونیست‌های آدرنژیک حافظه، به-خاطرآوری اجتناب مهاری و آموزش آزمون آبی فضایی (spatial water-maze training) را به ترتیب افزایش می‌دهند و بهبود می‌بخشند. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که آزاد شدن نورآدرنالین به درون آمیگدال القاشده با آموزش و داروها در تأثیر نورومودولیتوری 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 آنجا که هیچ مطالعه‌ای تعدیل آمیگدال قاعده‌ای-جانبی را با سیستم‌های نورآدرنژیک و اپیوئیدریک بر اضطراب و حافظه بررسی نکرده است، هدف این مطالعه ابتدا بررسی تأثیر تزریقات آگونیست و آنتاگونیست  $\alpha$ -رسپتورهای نورآدرنالین به درون آمیگدال قاعده‌ای-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 نقش‌های برهم‌کنشی این دو سیستم بر رفتارهای ذکر شده است.

به نظر 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. درحالی که ترس مقاوم‌تر از اضطراب است و ممکن است ماده خاکستری دورقنات سیلیویوس (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 از طریق پاسخ‌های ترس شرطی شده اندازه‌گیری شود (Fanselow & Poulos, 2005). به علاوه 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 پس از 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 Pilzecker و Muller در سال ۱۹۰۰ گزارش کردند که حافظه اطلاعات تازه آموخته شده از طریق یادگیری دیگر پدیده‌ها، کمی پس از اولین یادگیری قطع می‌شود. پس از آن، تثبیت حافظه اطلاعاتی که اخیراً یاد گرفته شده است برای دستکاری پس از 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 پس از به-خاطرآوری 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

**مواد و روش‌ها**

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 دندان پزشکی 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 صلیبی شکل بالاتر از زمینه (EPM)**

ماز صلیبی شکل بالاتر از زمینه (EPM)، یک وسیله چوبی به-علاوه‌ای شکل 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 × ۱۰ × ۵۰). جایی که بازوها به هم می-رسند 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 به‌صورت تکی در مرکز باز قرار می‌گیرند و صورت آنها رو به بازوی باز است و سپس به-مدت 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 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 قبل از 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 پنج دقیقه به رفتار جستجوگرانه می‌پرداختند. آزمایش‌ها در نور حاصل از یک لامپ ۶۰ وات که به ماز می‌تابید انجام شد. مشاهده گر که حداقل یک متر دورتر از دستگاه ایستاده بود با استفاده از کرنومتر پارامترهای سنجشی را که قبلاً ذکر شد را اندازه‌گیری

موش‌های نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور تهران) به وزن  $200 \pm$  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  $22 \pm 1$  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**

کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد به‌علاوه زایلین ۲ درصد (Alpason, Woerdem, Holand) به‌صورت درون‌بطنی به موش‌ها تزریق شد و سپس آنها در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند. اهرم قدمی بالایی بر ۳/۳ میلی‌متر قرار گرفت و مجموعه 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  $AP = 2.8 \text{ mm}$ ،  $ML = \pm 5 \text{ mm}$ ،  $6.5 \text{ mm} = -DV$  بود. کانول‌ها در مجموعه به‌وسیله رزین آکرلیک محکم شدند. یک سیم نازک درون هر کانول راهنما، 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 شبیه پیش از جراحی بود. ۵ تا ۷ روز بعد موش‌ها یک تزریق درون (BLA) دوطرفه دریافت کردند که به‌وسیله سوزن‌های دندان پزشکی (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

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

### نتایج

#### تأثیر مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و شکل‌گیری حافظه

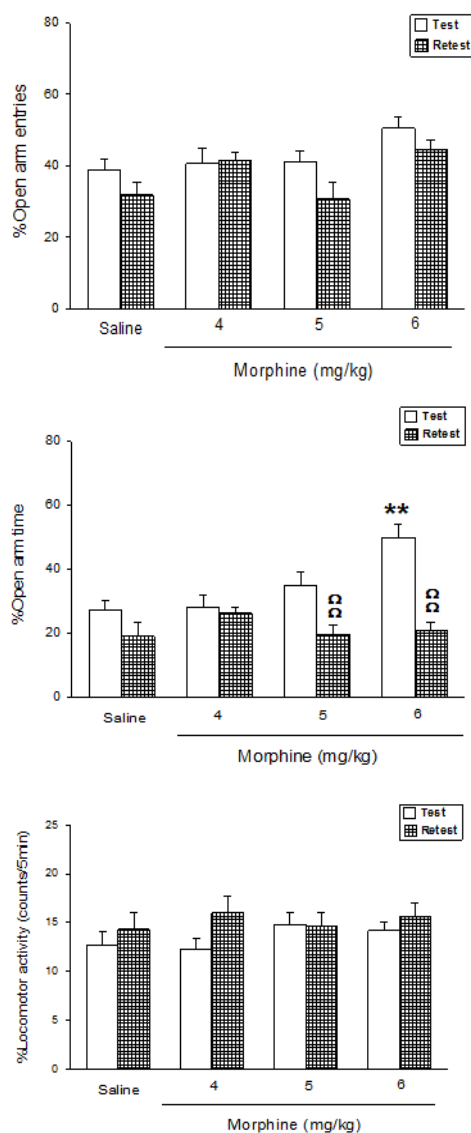
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در تزریق درون‌صفاقی دوزهای مختلف، مورفین، حداکثر تأثیر را در دوز (۶ mg/kg) در کاهش اضطراب در مرحله  $\text{test}$  (بر زمان حضور در بازوی باز) ایجاد کرد، اما تأثیر معناداری، بر تعداد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان نداشت.

آزمون Retest ۲۴ ساعت بعد انجام شد. آزمون one-way ANOVA نشان داد که مورفین به صورت وابسته به دوز،  $[F(3, 20) = 17.564; p < 0.001; \text{OAT}\%]$  را افزایش داد که نشان‌دهنده یک پاسخ اضطراب‌زدا بود و حافظه به وسیله مورفین بهبود پیدا کرده است. هیچ تغییر معنی‌داری در  $[F(3, 20) = 2.2990; p < 0.001 \text{ OAE}\%]$  مشاهده نشد و فعالیت حرکتی  $[F(3, 20) = 1.017; p < 0.001]$  تغییر معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۱).

می‌کرد. ماز پس از هر آزمون توسط آب مقطر و الکل شسته و تمیز می‌شد. داده‌های خام ثبت‌شده برای محاسبه ( $\text{OAT}\%$ ) (درصد زمان گذرانده‌شده در بازوی باز) به کار می‌رفت. کل زمان گذرانده‌شده در بازوی بسته ( $\text{OAE}\%$ ) 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 در نظر گرفته شد. یافته‌ها طی سنجش رفتاری (EPM) نیز با برانگیختگی مرتبط است. روش  $\text{test-retest}$ ، روشی مناسب برای آزمایش وجوه مرتبط با اضطراب و حافظه است. در مجموع، حیوانات اطلاعاتی با توجه به محیط‌های امن و بی-خطر در ماز طی آزمون بدست آوردند. تکرار آزمون از (EPM) (۲۴ ساعت پس از آزمون) تغییرات رفتاری وابسته به تجربه را القا کرده و نشانگر شاخصی از کسب، تثبیت و به-خاطر آوری 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 کتامین و زایلین به نسبت ۵ به ۱ برای بیهوشی حیوانات به وسیله سرنگ انسولین در مقادیر میلی-گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش و به صورت درون-صفاقی به موش‌ها تزریق شد. مورفین سولفات (به‌منزله یک آگونیست رسپتور اپیویدی  $\mu$ )، برای تزریق درون‌بطنی (i.p)، (Temad, Iran) در محلول سالین حل شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. کلونیدین (به‌منزله آگونیست  $\alpha$ -آدرنورسپتور) (Iranदारou)، برای تزریق درون BLA و یوهیمین (بعنوان آنتاگونیست  $\alpha$ -آدرنورسپتور) (Iranदारou) به صورت درون BLA تزریق شدند. کلونیدین و یوهیمین در سالین استریل ۰/۹ درصد حل شدند. سپس در مقادیر 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



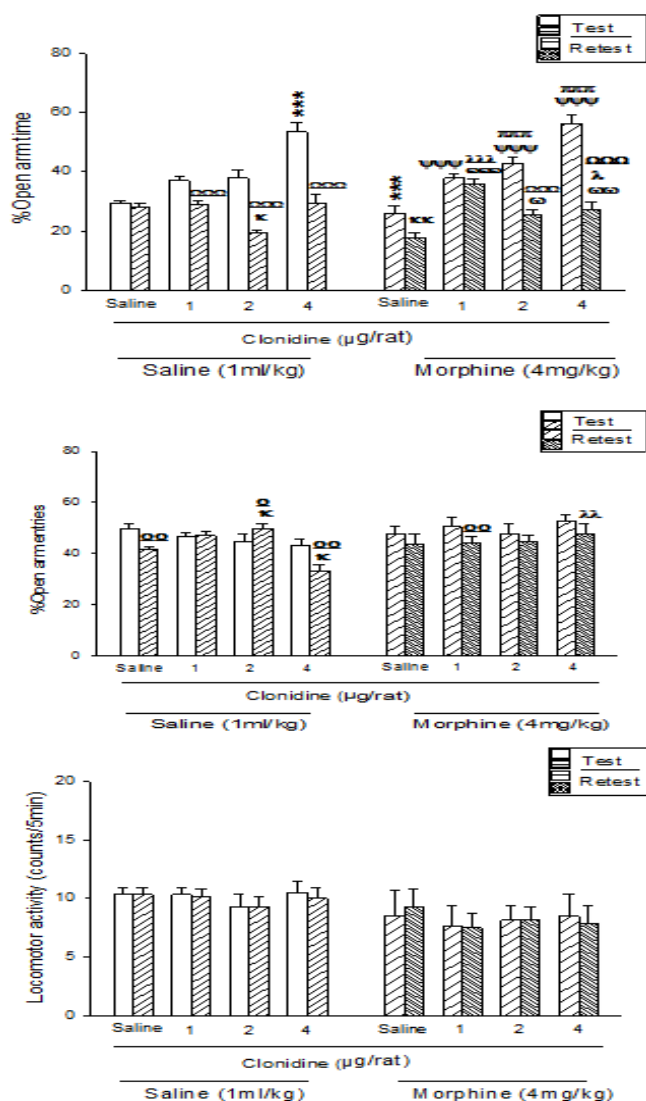
شکل ۱- تأثیر مورفین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و شکل‌گیری حافظه.

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

$F_{\text{treatment} \times \text{session}} (3,40) = 283.291; p < 0.001$  ]،  $F (1,40) = 3.192; p < 0.05$ ]. می‌توان چنین نتیجه گرفت که کلونیدین و مورفین، دارای اثر سینرژیک یا هم‌افزا در کاهش میزان اضطراب در آزمون (EPM) هستند. تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که میزان فعالیت حرکتی در پی تزریق کلونیدین ( $4 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) [  $F (3,20) = 4.00; p < 0.05$  ] تغییری نکرد. تزریق کلونیدین به همراه مورفین نیز با توجه به تحلیل two-way ANOVA تغییری نکرده است [  $F_{\text{treatment}} (3,40) = 0.129, p < 0.05$  ]، [  $F_{\text{session}} (1,40) = 3.779, p < 0.05$  ]، [  $F_{\text{treatment} \times \text{session}} (3,40) = 0.098, p < 0.05$  ]].

### تأثیر کلونیدین به 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 ( $4 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) 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 می‌دهد [  $F_{\text{treatment}} (3,40) = 130.422; p < 0.001$  ]، [  $F_{\text{session}}$



شکل ۲- تأثیر تزریق کلونیدین درون BLA، به تنهایی یا به همراه با مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی و به خاطر آوری حافظه.  
 Fig. 2. Effects of clonidine injection intra-BLA, only or with morphine on anxiety and memory retrieval.

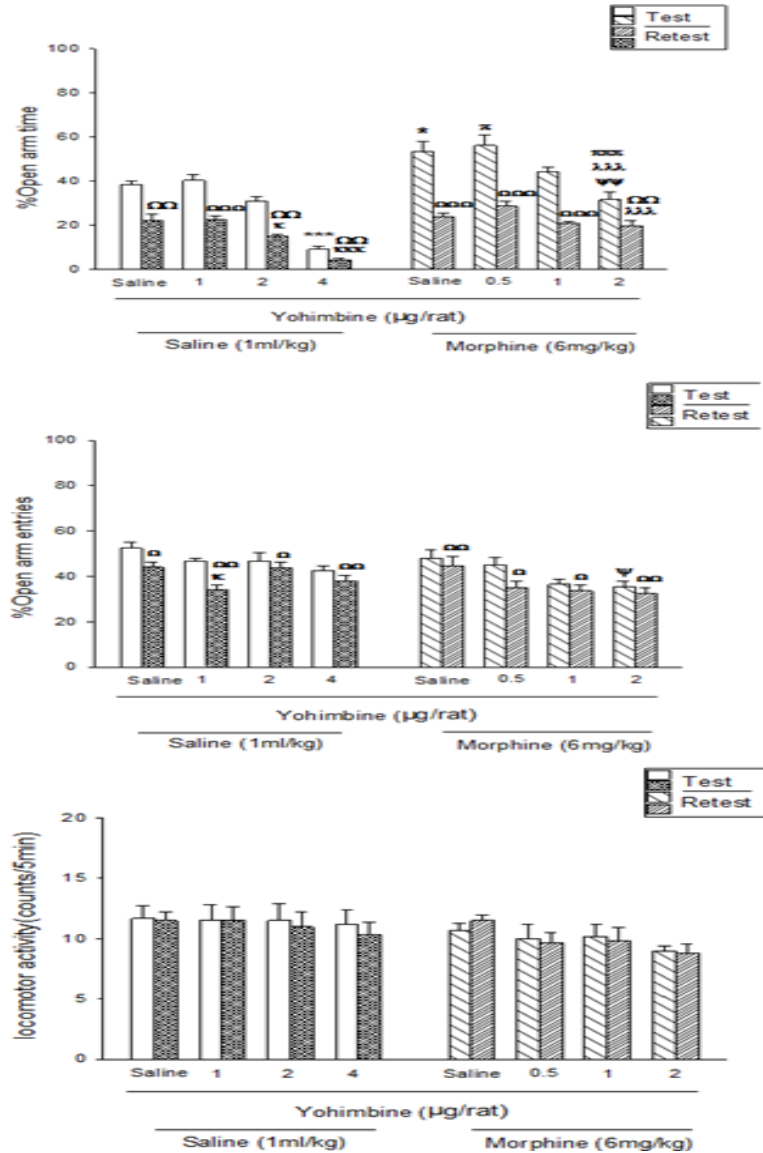
OAT% و OAE% به دست آمده از آزمون روز اول (test) در مقایسه با روز دوم (retest) حکایت دارد که نشان دهنده وجود حافظه در روز دوم در مقایسه با روز اول است. مقادیر آماری مربوط به آزمون‌های T و Repeated measures نیز این یافته-ها را تأیید کردند.  $F_1(1,20) = 220.611, p < 0.001$ ،  $F_{1 \times \text{group}}(3,20) = [F_{\text{group}}(1,20) = 20.506, p < 0.001]$ ،  $[37.751, p < 0.001]$

**تأثیر تزریق یوهیمین درون BLA، به تنهایی یا همراه با مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی و به خاطر آوری حافظه**

تحلیل واریانس یک طرفه در بال اثر کلونیدین بر حافظه تفاوت معناداری را در مقدار [OAT%]  $F(3,20) = 7.454; p < 0.001$  و [OAE%]  $F(3,20) = 17.958; p < 0.001$  در مرحله retest در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. اما پارامترهای مذکور در پی تزریق کلونیدین و مورفین به صورت توأمان، افزایش معنی داری را در مقادیر OAT% براساس تحلیل واریانس دوطرفه [  $F_{\text{treatment}}(3,40) = 14.266, p < 0.001$  ]  $F_{\text{session}}(1,40) = 0.010, p < 0.001$  ]  $F_{\text{treatment} \times \text{session}}(3,40) = 9.966, p < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. آزمون‌های T انجام شده نیز از تفاوت معناداری در مقادیر

کاهش یافت. [F<sub>treatment</sub> (3,40) = 32.954, p<0.001] و [F<sub>session</sub> (1,40) = 57.774, p<0.001] 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)، در پی تزریق دوز مؤثر یوهیمین (۲ μg/rat)



شکل ۳- تأثیر تزریق یوهیمین درون BLA، به تنهایی یا همراه با مورفین بر رفتارهای شبه‌اضرابی و به‌خاطرآوری 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 تزریق‌شده در BLA در افزایش حافظه، در پی به-کارگیری دوز مؤثر مورفین از بین می‌رود. این نتیجه را می‌توان در ارتباط با پارامتر OAT % کسب کرد [F<sub>treatment</sub> (3,40) = 20.739, p<0.001, [F<sub>session</sub> (1,40) = 31.117, p<0.001, [F<sub>treatment × session</sub> (3,40) = 4.992, p<0.01, p<0.001 repeated مقادیر آماری مربوط به آزمون T و آزمون

تحلیل [F<sub>treatment × session</sub> (3,40) = 0.798, p<0.05] واریانس یک‌طرفه، 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.

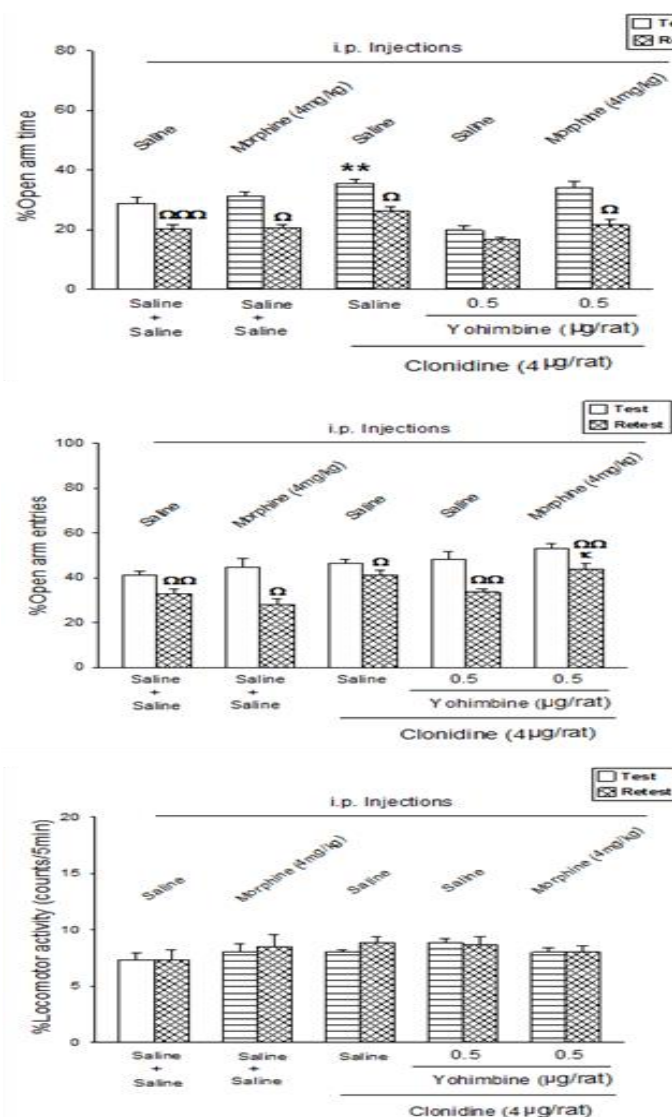
[F (3,20) = 4.97, p<0.05]

یا دوز زیر آستانه‌ای یوهیمین تیمار شده بودند در حضور فقدان دوز زیر آستانه‌ای 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% ] و درصد تعداد ورود به بازوی باز [  $F(4,25) = 2.230$  ] القاشده به وسیله کلونیدین در مرحله test را کاهش داد. این کاهش کمتر از میزان کاهش در حضور مورفین بود. این نتایج در مرحله retest برای OAT% [  $F(4,25) = 4.132$ ,  $p < 0.001$  ] و OAE% [  $F(4,25) = 8.501$ ,  $p < 0.001$  ] مشابه نتایج فوق بود.

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

#### تأثیر کلونیدین و یوهیمین یا کلونیدین و یوهیمین همراه با مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی و تشکیل حافظه

شکل ۴، تأثیر تزریق درون BLA یوهیمین را بر رفتار جست‌و جوگرانه القاشده به وسیله کلونیدین و کلونیدین به همراه مورفین نشان می‌دهد. موش‌ها، ۵ دقیقه پس از تزریق سالیین (۱ ml/rat) یا کلونیدین (۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) در آنهایی که توسط سالیین (۱ ml/rat)



شکل ۴- تأثیر کلونیدین و یوهیمین یا کلونیدین و یوهیمین همراه با مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی 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

اضطراب، پاسخ سازگارکننده‌ای است که فرد را برای رویارویی با خطرهای واقعی یا بالقوه، آماده می‌کند. مشخص شده است که به کارگیری سیستمیک مورفین، تأثیر شبه‌اضطراب‌زدایی را القا می‌کند (Zarrindast et al., 2005). در مقابل، آنتاگونیست‌های رسپتور اوپیویدی، 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-cerebroventricular injection)، تأثیر درخور توجهی دارد، که احتمالاً از طریق 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 آنتاگونیست‌های رسپتور "کاپا" (Kappa)، به صورت سیستمیک، موجب کاهش اضطراب در موش‌ها می‌شوند (Sasaki et al., 2002). مطالعات دیگر نشان دادند که تزریق آنتاگونیست رسپتورهای  $\mu$ - اوپیویدی، 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 اوپیویدرژیک و گاباژرژیک نسبت می‌دهند.

مورفین از طریق رسپتورهای  $\mu$ - اوپیویدی، 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 مزولیمبیک که از هسته "VTA" (ventral tegmentum area) می‌آیند این تأثیر را اعمال می‌کند (Davis, 2000).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در تزریق درون‌صفافی دوزهای مختلف، مورفین، حداکثر 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 (شکل ۱). یافته فوق به وضوح، 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.

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 هیپوتالاموس، آمیگدال و لوکوس سرولیوس می‌شود. "یوهیمبین" (Yohimbine)، آنتاگونیست گیرنده  $\alpha_2$ - آدرنرژیک، که آزادسازی نورآدرنالین را در مغز، افزایش می‌دهد، تأثیر اضطراب‌زایی در موش‌ها دارد (Tanakata et al., 2000). نتایج آزمایش‌های فارماکولوژیکی، از جمله به کارگیری آنتاگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های مختلف گیرنده  $\alpha_2$ - آدرنرژیک در مدل‌های حیوانی اضطراب، متناقض است که شاید به دلیل میان‌کنش‌های متعدد این گیرنده‌ها با دیگر گیرنده‌های مونوآمینی در مغز باشد

که آمیگدال اثر تسهیل‌کنندگی 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 تعدیل‌کنندگی بر حافظه که از طریق آدرنالکتومی ایجاد می‌شود، را بلوکه می‌کند، همان‌گونه که در پی اعمال یا تزریق گلوکوکورتیکوئیدهای محیطی (Rooszendaal *et al.*, 1996) یا مصرف دیازپام (Tomaz *et al.*, 1992) ایجاد می‌شود. به علاوه، نتایج مشابهی در پی تخریب ساختار استریاتریمینالیس (Stria terminalis)، که یکی از مسیرهای اصلی خروجی آمیگدال است، حاصل شده است. تغییر فعالیت آمیگدال بلافاصله بعد از یادگیری، بر به-یادآوری 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). به علاوه، تیمارهای اعمال‌شده 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 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  $\beta$ -آدرنژیک (Rooszendaal *et al.*, 1995) نیز صادق است. درعوض، به‌خاطرآوری، در پی تزریقات درون آمیگدالی بیکوکولین (Dickinson *et al.*, 1993)، آگونیست‌های رسپتورهای  $\beta$ -آدرنژیک (Ferry *et al.*, 1993) و موسکارینی (Salinas *et al.*, 1993) افزایش می‌یابد. مطالعات پاکارد و همکاران (۱۹۹۴)، نشان می‌دهد که تزریق آفتامین‌ها پس از یادگیری، درون BLA، ذخیره هیپوکامپی اطلاعات فضایی را در آزمون "hidden platform water maze" افزایش می‌دهد و اطلاعات پاسخ در آزمون "visible platform maze" را زیاد می‌کند. درحالی‌که، تزریق درون آمیگدالی لیدوکائین، بلافاصله قبل آزمون به-

(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، عمدتاً ناشی از ورودی‌های نورآدرنژیک به BLA است که خود از لوکوس سرولیوس منشأ می‌گیرند (Fallon *et al.*, 1978).

تأثیر نورآدرنالین در آمیگدال قاعده‌ای-جانبی، عمدتاً ناشی از ورودی‌های نورآدرنژیک 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 افزایش‌یافته نورآدرنالین در پی استرس در آمیگدال مشاهده شده است.

فعال‌شدن  $\alpha$ -آدرنورسپتورها، ترانسمیشن گلوتاماترژیک را کاهش می‌دهد (Ferry *et al.*, 1997). مطالعات نشان داده است که زیر نوع  $\alpha_1$ -آدرنورسپتور، به‌صورت پس‌سیناپسی قرار دارد (Hardmann *et al.*, 1996). مشخص شده است که در BLA،  $\alpha_1$ -آدرنورسپتورها، تأثیرات خود بر ذخیره‌سازی حافظه را تنها در صورت فعال‌بودن  $\beta$ -آدرنورسپتورها انجام می‌دهند (Starke, 2001).  $\alpha_2$ -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

سوی دیگر، تحلیل واریانس دوطرفه 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 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% به دست 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 تثبیت حافظه در آزمون EPM ایجاد نکرد. اما اعمال دوز کلونیدین، به همراه دوز بی‌اثر مورفین به صورت درون‌صفافی، سبب کاهش در روند اکتساب و/یا تثبیت حافظه شد. در نهایت می‌توان گفت که کلونیدین و مورفین در روند کاهش اضطراب و کاهش حافظه مرتبط با آن، در آزمون EPM، به صورت 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 یوهیمین به درون BLA، در دوز ۲ میکروگرم، موجب افزایش اضطراب شد. تحلیل post hoc نشان می‌دهد که اثر اضطراب‌زدایی ناشی از تزریق درون-صفافی دوز مؤثر مورفین (۶ mg/kg)، در پی تزریق دوز مؤثر

یادآوری، تأثیری بر دو نوع آزمون ذکرشده نخواهد گذاشت (Packard et al., 1994). از سوی دیگر، تزریق لیدوکائین پیش از یادآوری درون هیپوکامپ یا هسته دمدار، تنها می‌تواند تأثیر ظرفیت‌یابی حافظه ناشی از تزریق درون آمیگدالی آفتمین 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 تثبیت حافظه بلندمدت را در دیگر ساختارهای مغزی که حافظه در آنها ذخیره می‌شود تسهیل می‌کند. مشخص شده است که تعدیل حافظه به وسیله BLA در انسان نیز صادق است؛ برای مثال، داستان‌های برانگیزاننده عواطف بهتر از داستان‌های معمولی به خاطر آورده 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 از طریق رسپتورهای  $\alpha_2$ ، میانجی‌گری می‌شوند. براساس نظر فری و همکارانش (۱۹۹۷)، اثر فعال‌شدن آدرنورسپتورهای  $\beta$  در BLA به مراتب از اهمیت کمتری برخوردار است. نشان داده شده است که در جریان این فعال‌شدن: ۱- کاهش در فرکانس اسپایک، از طریق 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  $\mu\text{g}/\text{rat}$  کلونیدین، به منزله آگونیست رسپتورهای  $\alpha_2$  آدرنورژیک، 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 درخور توجهی را نشان می‌دهد. تحلیل واریانس یک‌طرفه، نشان می‌دهد که تزریق فوق در تمام دوزهای کلونیدین به همراه مورفین، تفاوت‌های معناداری در مقادیر OAT ایجاد کرد. از

اعمال درون صفاقی 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 در پی آزمایش‌ها، دیده نشد (شکل ۴).

با توجه به آزمایش‌های انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که فعال شدن سیستم نورآدرنژیک آلفا و بتا، چنان‌که در بخش نتایج دیده می‌شود، موجب کاهش اضطراب شده و بلوکه شدن رسپتورهای آن توسط آنتاگونیست‌های نورآدرنژیک، موجب معکوس شدن اثر اضطراب‌زدایی 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 نورآدرنژیک، تأثیر درخور توجهی بر تثبیت حافظه ندارند. اما اعمال آنتاگونیست‌های نورآدرنژیک در هسته BLA سبب افزایش تثبیت حافظه شدند. به کارگیری مورفین، تأثیری بر تثبیت حافظه نداشت.

به نظر می‌رسد سیستم‌های اپیویدرژیک و نورآدرنژیک، هر دو سبب بروز تأثیر مشابه بر اضطراب و تثبیت 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 سینرژستیک 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.

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، نشان‌دهنده یک کاهش معنادار در مقدار OAT%، در مرحله retest مربوط به موش‌هایی که دوز ۲ میکروگرم یوهیمین را دریافت کردند، در مقایسه با گروه کنترل است. این امر نشان‌دهنده 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 ( $6 \text{mg}/\text{kg}$ )، در پی تزریق دوز مؤثر یوهیمین ( $2 \mu\text{g}/\text{rat}$ )، تفاوت معناداری را در مقایسه با گروه کنترل خود نشان نمی‌دهد. علاوه بر این، تحلیل واریانس دو طرفه نیز، نشان‌دهنده 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 نشان‌دهنده 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 میان کنش 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 amygdala. – *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.

**Filioli, 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.L., Jensen, R.A., Vasquez, B.J. and Messing, R.B.** 1982. Post training amygdala lesions impair retention of an inhibitory avoidance response. – *Behav. 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  $\alpha$ 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 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 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  $\alpha$ -noradrenergic system of basolateral Amygdala on anxiety-related behavior and memory. – *Nova Biol. Rep.* 3(1): 69-79.

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