

## اثرات سیستم‌های گابائریک و مورفینرژیک بر هسته CA1 هیپوکامپ روی رفتارهای اضطراب و حافظه برانگیخته بر اساس الگوی تست-تست مجدد

طاهره سادات میراحمدی، فرهاد ولی زادگان و مریم رحیمی تسیه

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

مسئول مکاتبات: فرهاد ولی زادگان، f.valizadegan@umz.ac.ir

**چکیده.** هیپوکامپ، ساختاری کلیدی در پردازش اضطراب و ذخیره حافظه است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی برهمکنش میان سیستم‌های گابائریک ناحیه CA1 هیپوکامپ و سیستم مورفینرژیک در تعدیل این رفتارها است. در این مطالعه موش‌های نر نژاد ویستار با استفاده از جراحی استرئوتاکسیک در ناحیه CA1 کانول گذاری شدند. پس از طی دوره ریکاوری مورفین (آگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی مو) به صورت درون صفاقی، موسیمول و بیکوکولین (آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های GABA<sub>A</sub>) به درون CA1 تزریق گردید. پارامترهای مدت زمان حضور (%OAT) و تعداد ورود به بازوی باز (%OAE) در دستگاه EPM محاسبه شدند. آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تزریق درون صفاقی مورفین (%OAT) و (%OAE) را افزایش می‌دهد که حاکی از اثرات اضطراب زدای مورفین است. طبق نتایج آزمون t زوجی تشکیل حافظه بهبود یافت. تزریق پیش از آزمون دوزهای مختلف موسیمول و بیکوکولین به ترتیب رفتارهای شبه اضطراب زدا و اضطراب زایی را القا نمود در حالیکه اثرات آنها روی حافظه بهبودبخش بود. تزریق سیستمیک دوز موثر مورفین به همراه دوزهای سه گانه موسیمول اثرات هم افزایی را در تشکیل حافظه و کاهش اضطراب القا نمود. تزریق این دوز از مورفین به همراه دوزهای سه گانه بیکوکولین، سبب تغییر اثرات منفی بیکوکولین روی اضطراب گردید ضمن اینکه تشکیل حافظه در این گروه‌ها افزایش یافت. این یافته‌ها نشان می‌دهند که سیستم‌های گابائریک و اوپیوئیدیک تاثیرات مشابهی برحافظه و اضطراب در ناحیه CA1 دارند.

**واژه‌های کلیدی:** بیکوکولین، جراحی استرئوتاکسیک، سیستم اوپیوئیدیک، ماز صلیبی، موسیمول

## Effects of gabaergic and morphinergic systems in CA1 nucleus on anxiety and arousal memory based on test-retest paradigm

Tahereh-sadat Mirahmadi, Farhad Valizadegan & Maryam Rahimi Tesiye

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

Corresponding author: Farhad Valizadegan, f\_valizadegan@umz.ac.ir

**Abstract.** Hippocampus is a key structure in anxiety processing and memory storage. The purpose of this study was to investigate the interaction between GABAergic systems in CA1 area of hippocampus with morphinergic system in modulating of these behaviors. In this study, male wistar rats were cannulated with stereotaxic surgery in CA1 site. After a recovery period, morphine ( $\mu$  opioid receptor agonist) was injected intraperitoneal, muscimol and bicuculline (GABA<sub>A</sub> receptor agonist and antagonist) were injected into the CA1. Parameters such as percentage of Open arms time (%OAT) and entries (%OAE) were calculated by means of an EPM apparatus. One-way ANOVA analysis showed that intraperitoneal administration of morphine increased %OAT and %OAE, indicating the anxiolytic effect of morphine. Based on paired sample T-test, the rate of memory formation improved. Pre-test intra-CA1 infusion of muscimol and bicuculline induced anxiolytic-like and anxiogenic-like behaviors, respectively; meanwhile, both drugs improved memory. Systemic injections of an effective dose of morphine combined with triple doses of muscimol showed a synergistic effect on memory formation and anxiety reduction. Simultaneous injection of morphine and bicuculline altered the negative effects of the latter on anxiety and increased the memory formation. This finding showed that GABAergic and opioidergic systems have similar effects on memory and anxiety in CA1 area.

**Key words.** bicuculline, EPM, muscimol, opioidergic systems, stereotaxic surgery

## مقدمه

هیپوکامپ جز اصلی سیستم لیمبیک بوده و نقش بسیار مهمی را در نوروبیولوژی اضطراب ایفا می کند و با مراکز هیجانی زیادی در مغز در ارتباط است (Engin & Treit, 2007). در واقع هیپوکامپ بخشی از قشر پری فرونتال در مغز پستانداران است و در داخل دیواره میانی- تحتانی لوب گیجگاهی (پشت آمیگدال) قرار داشته و بطن جانبی را احاطه می کند (Squire & Knowlton, 2000). همچنین ساختار مغزی مربوط به حافظه و یادگیری فضایی است و شواهد نشان می دهد که برای کسب و بازیابی عملکرد فضایی و همچنین برای تثبیت و ذخیره سازی اطلاعات ساختاری ضروری است (Gholaminejad et al., 2008).

مطالعه روی موش آزمایشگاهی نشان داد که این ناحیه مغزی در پردازش انواع مختلف حافظه از قبیل یادگیری وابسته به پاداش و یادگیری مکانی نیز دخالت دارد (Chen & Justice, 2000). به عنوان مثال هیپوکامپ و آمیگدال با یکدیگر برای تشکیل خاطرات عاطفی در تعامل هستند و همچنین نشان داده شده است که اثر متقابل عملکردی بین هیپوکامپ و قشر جلویی مغز برای حمایت از حافظه کاری موش وجود دارد (Nestler et al., 2001). تشکیل حافظه در هیپوکامپ میتواند به شدت تحت تاثیر هورمونها، داروها و مواد مختلف و نحوه فعالیت گیرنده های سلولی و واسطه های مولکولی قرار گیرد. همچنین شرایط و خصوصیات محیطی که یک فرد در آن قرار می گیرد، میتواند در شکل گیری حافظه فضایی اثرگذار باشد (Zakharenko et al., 2003).

بر اساس یافته های پیشین هیپوکامپ به واسطه تعاملاتی که با آمیگدال و سپتوم دارد اثر ضد اضطرابی اعمال می نماید و تخریب الکتریکی و شیمیایی آن، سبب القای رفتارهای شبه اضطرابی در تست EPM می گردد. مطالعات نشان میدهند که ناحیه پشتی هیپوکامپ در بخش CA1، تحت تاثیر برخی داروهای موثر بر اضطراب مانند اتانول و بنزودیازپین ها قرار می گیرد. چنین رفتارهایی ممکن است با فعال کردن و یا تغییر پلاستیسیته مدارهای مهاری ایجاد شوند (Matsumoto, 1989).

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) از جمله نوروترانسمیترهایی است که در تمام نواحی مغز انسان از جمله هیپوکامپ یافت می شود (Bowery et al., 2002) و به طرق مختلفی می تواند حافظه، اضطراب و یادگیری را تحت تاثیر قرار دهد (Cheetham et al., 1988). عملکرد این نوروترانسمیتر توسط گیرنده های مختلفی تعدیل می شود که شامل گیرنده های یونوتروپیک:  $GABA_{A-C}$  و گیرنده های متابوتروپیک  $GABA_B$  است. عملکردهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی زیادی در مغز

به صورت وابسته به این نوروترانسمیتر تعدیل می گردند (Zarrindast et al., 2005).

موسیمول به عنوان آگونیست گیرنده  $GABA_A$  به جایگاهی در این گیرنده متصل می شود که داروهایی مانند باربیتورات ها و بنزودیازپین ها به آنجا متصل می گردند (Frolund et al., 2002). بیکوکولین به عنوان آنتاگونیست رقابتی گیرنده  $GABA_A$  است که اتصال گابا را به گیرنده هایش مهار می نماید. این گیرنده ها هدف عمده بنزودیازپین ها و داروهای ضد اضطراب مرتبط با آنها هستند (Johnston, 2013). بر اساس شواهد پیشین تزریق آگونیست های گابا به درون CA1 موجب آسیب رساندن به حافظه می شود، درحالیکه به کارگیری موضعی آنتاگونیست های گابا آنرا تقویت می کند (Matsumoto et al., 1994).

هیپوکامپ همچنین دارای گیرنده های اویپوئیدی زیادی است که در نواحی مختلف آن قرار دارند (Rezayof et al., 2007). بر اساس یافته های پیشین، فعال شدن گیرنده های اویپوئیدی ممکن است یک اثر مهاری روی فعالیت نورون های گابائریک در نواحی مختلف مغزی داشته باشد. شواهدی وجود دارد که نشان می دهد تزریق مورفین به عنوان آگونیست گیرنده های  $\mu$  - اویپوئیدی اثرات اضطراب زدایی را اعمال می کند (Zhang et al., 1996). درحالیکه آنتاگونیست های گیرنده اویپوئیدی، اضطراب را در انواع مختلف مدل های رفتاری نظیر EPM افزایش می دهند (Turgay, 2009). تجویز مورفین قبل از آموزش در بعضی از روش های بررسی یادگیری منجر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می شود که تنها در صورت تجویز همان دوز از مورفین قابل یادآوری است، این اثر مورفین وابسته به دوز و زمان است (Arias, 1998). نشان داده شده است که مواد اویپوئیدی، خروجی استیل کولین را از نواحی مغزی دخیل در یادگیری و حافظه کاهش می دهند و این احتمال وجود دارد که اویپوئیدها و از جمله اندومورفین ها از طریق کاهش آزادسازی استیل کولین در مغز (با واسطه گیرنده های  $\mu$  اویپوئیدی) حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار دهند (Qi et al., 2008).

در همین راستا، در این پژوهش اثر مورفین و آگونیست ها و آنتاگونیست های گیرنده  $GABA_A$  روی شاخص های رفتاری حافظه و اضطراب در موش ها مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش ها

## حیوانات

در این پژوهش از موش های نر نژاد ویستار (خریداری شده از کلینیک پاستور، مازندران، ایران) با وزن تقریبی ۲۰۰ الی ۲۴۰ گرم استفاده شد. حیوانات به صورت دو تایی در قفس های

جداگانه در اتاق حیوانات با چرخه نور-تاریکی ۱۲ ساعته و تنظیم دمای  $20 \pm 1$  نگهداری شدند. در تمام مدت آزمایش غذا و آب کافی در اختیار حیوانات قرار داده شد و همه حیوانات یک هفته قبل از شروع آزمایش وارد آزمایشگاه شدند و تا روز تست رفتاری هر روز به مدت ۵ دقیقه مورد تیمار قرار گرفتند. در مجموع از ۱۲۰ سر موش در این پژوهش استفاده شد. همچنین در تمام مراحل انجام آزمایش موازین آزمایشگاهی برای مراقبت و استفاده از حیوانات رعایت شد.

#### داروها

جهت بیهوش کردن موش‌ها کتامین هیدروکلراید ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم و زایلین ۵ میلی گرم/کیلوگرم (آلفاسان- هلند) به صورت درون صفاقی به آنها تزریق گردید. موسیمول (آگونست گیرنده‌های  $GABA_A$ ) و بیکوکولین (آنتاگونیست گیرنده‌های  $GABA_A$ ) (تاکریس- انگلستان) به ناحیه CA1 تزریق شدند. همچنین مورفین به عنوان آگونست رسپتورهای  $\mu$  اپیوئیدی (تیمد- تهران) به صورت درون صفاقی تزریق گردید.

#### جراحی استرئوتاکسیک

در این مطالعه مخلوط داروهای کتامین و زایلین به نسبت ۲ به ۱۰ برای بیهوشی حیوانات به وسیله سرنگ انسولین در مقادیر میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش و به صورت درون صفاقی به موش‌ها تزریق شد. پس از بیهوشی رت‌ها و کوتاه کردن موهای ناحیه سر در دستگاه استرئوتاکس ثابت شدند. بعد از شکافتن پوست سر و تعیین نقاط برگما و لامبدا، کانول راهنمای ۲۳ گیج در ناحیه CA1 به مختصات ۳،۳ میلی متر فاصله از برگما، ۲،۸ میلی متر از شیار میانی به طرف هیپوکمپ و ۲،۸ میلی متر از سطح جمجمه، قرار داده شد. برای ثابت ماندن کانول، از پیچ عینک ریز و سیمان دندانپزشکی (مونومر+آکریل صورتی) و برای جلوگیری از گزافگی آن از سیم ارتودنسی استفاده شد. موش‌ها به مدت یک هفته تحت ریکاوری و سپس تزریق و تست قرار گرفتند. به منظور تزریق مستقیم به درون ناحیه CA1 از سرنگ هاملتون که به واسطه لوله پلی اتیلنی متصل به کانول ۲۷ گیج که طول آن حدوداً یک میلی متر بلندتر از کانول راهنما بود استفاده شد. سرعت تزریق ۵ میکرولیتر بر دقیقه بوده و پس از تزریق کانول مورد نظر به مدت ۲ دقیقه در مکان تزریق باقی ماند.

#### تزریقات

مورفین (آگونست گیرنده‌های اپیوئیدی  $\mu$ ) برای تزریق درون بطنی (i.p) در محلول سالین حل شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. بیکوکولین (آنتاگونیست گیرنده‌های  $GABA_A$ ) برای تزریق درون CA1 و موسیمول نیز (آگونست

گیرنده‌های  $GABA_A$ ) به صورت درون CA1 تزریق شدند. بیکوکولین و موسیمول در سالین استریل ۹٪ حل شدند و سپس در مقادیر مورد نظر به وسیله سرنگ هاملتون و با استفاده از لوله نازک پلی اتیلنی که به سرنگ متصل می‌شد، در حجم ۱ میکرولیتر و طی ۱ دقیقه به آرامی در کانول تعبیه شده در مغز رت تزریق شدند. لازم به ذکر است که همه تزریقات و مراحل آزمون در یک ساعت مشخص انجام شد و آزمایش مجدد (ری تست) که برای سنجش حافظه اضطرابی بود، دقیقاً ۲۴ ساعت بعد از آزمون، بدون هیچ تغییری در وضعیت جراحی و یا اعمال دارویی صورت گرفت.

#### تست رفتاری

برای سنجش میزان اضطراب و حافظه، دستگاه تست ماز صلیبی بالاتر از زمینه (EPM) مورد استفاده قرار گرفت که یک مدل انتخابی برای تعیین اثرات اضطراب زا و اضطراب زدا در جوندگان است. این ابزار یک ماز چوبی به شکل بعلاوه است که بر چهار پایه استوار است. دو تا از بازوها فاقد دیواره جانبی و انتهایی هستند. (بازوهای باز:  $50 \times 10 \times 50$  سانتی متر) دو بازوی دیگر، دارای دو دیواره جانبی و یک دیواره انتهایی هستند ولی سقف آن باز است. (بازوهای بسته:  $40 \times 50 \times 50$  سانتی متر). در محل برخورد این چهار بازو، یک صفحه مربع شکل به ابعاد  $10 \times 10$  سانتی متر قرار دارد. ارتفاع ماز از زمین، ۵۰ سانتی متر است. پیش از ورود به داخل ماز، حیوان به مدت ۵ دقیقه در یک جعبه چوبی به ابعاد  $50 \times 50 \times 35$  سانتی متر قرار داده می‌شود. هر حیوان به تنهایی در مرکز EPM به صورتی گذاشته می‌شود که صورت حیوان به سمت بازوی باز باشد و ۵ دقیقه در ماز به صورت آزاد حرکت کند.

در این مدت تمام حرکات حیوان در دستگاه تست ثبت می‌شود و تعداد دفعات داخل شدن حیوان به بازوهای باز، بازوهای بسته و مجموع زمان‌های صرف شده در بازوها محاسبه می‌شود. عبور چهار دست و پای حیوان از خط ورودی بازوها، ورود محسوب می‌گردد. درصد تعداد دفعات ورود به بازوی باز (%OAE) و درصد زمان حضور در بازوهای باز (%OAT) که ملاک اضطراب است، پارامترهای مورد سنجش ما هستند. افزایش معنی دار در این دو پارامتر نشان دهنده کاهش اضطراب در این تست است. سنجش اضطراب بر اساس درصد ترجیح حضور در بازوی باز است. باتوجه به اینکه حیوانات به صورت فعال از بازوهای باز اجتناب می‌کنند درصد پایین ترجیح برای حضور در بازوی باز، افزایش اضطراب را ثابت می‌کند (Carobrez & Bertoglio, 2005).

این دستگاه مدل بسیار مناسبی برای مطالعه داروهای اضطراب

زا و اضطراب زدا است. زمانیکه جانور برای تست اول در دستگاه قرار می گیرد طی ۵ دقیقه مورد آزمایش، محیط دستگاه را به لحاظ اضطراب زا یا اضطراب زدا یی یاد می گیرد. به عبارتی نوعی حافظه فضایی شکل می گیرد. در تست دوم که ۲۴ ساعت بعد انجام می شود، میزان حافظه شکل گرفته در تست اول سنجیده می شود. با آنالیز داده های حاصل از دو تست و مقایسه آماری آنها میتوان میزان تثبیت حافظه را از این طریق سنجید. لازم به توضیح است که چون شکل گیری حافظه مربوط به اضطراب و نه تثبیت و یادآوری آن مورد سنجش قرار می گیرد لذا هیچ تزریقی پیش از تست دوم انجام نمی شود.

#### آزمایش اول: تاثیر تزریق درون مغزی دوزهای مختلف موسیمول و بیکوکولین بر رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه

جهت بررسی اثرات داروهای فوق روی رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه، همه تزریقات به صورت درون مغزی در CA1 و پیش از آزمون انجام شد. در این مرحله هشت گروه شش تایی از حیوانات وجود داشتند. دو گروه به عنوان گروه های کنترل سالین (۰/۶ میکرولیتر/رت) را به صورت درون مغزی و سپس همین حجم را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. به سه گروه دوزهای مختلف موسیمول (۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم/رت) و به سه گروه باقیمانده دوزهای مختلف بیکوکولین (۰/۴، ۰/۲، ۰/۱ میکروگرم/رت) به صورت درون مغزی و سپس پنج دقیقه بعد سالین به صورت درون صفاقی تزریق گردید. پس از این مرحله حیوانات به صورت انفرادی وارد دستگاه EPM شدند و پارامترهای فوق الذکر جهت سنجش رفتارهای شبه اضطرابی محاسبه شدند. جهت بررسی حافظه، ۲۴ ساعت بعد مجدداً آزمودنی ها بدون دریافت مجدد دارو در دستگاه تحت تست مجدد قرار گرفتند.

#### آزمایش دوم: تاثیر تزریق درون صفاقی مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه

در این بخش از آزمایش نیز چهار گروه شش تایی از حیوانات موجود بودند. حیوانات گروه اول به عنوان گروه کنترل سالین (۰/۶ میکرولیتر/رت) را به صورت درون مغزی و سپس همین حجم را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. به گروه های بعدی دوزهای مختلف مورفین (۴، ۵، ۶ میلی گرم/رت) به صورت درون صفاقی تزریق گردید. آزمون روز اول تحت عنوان تست، جهت بررسی رفتارهای شبه اضطرابی و آزمون دوم ۲۴ ساعت بعد به عنوان ری تست، جهت بررسی حافظه در حیوانات انجام شد.

#### آزمایش سوم: تاثیر تزریق درون صفاقی مورفین به همراه دوزهای مختلف موسیمول و یا بیکوکولین درون BLA بر رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه

در این مرحله هشت گروه از حیوانات وجود داشتند. دو گروه

به عنوان گروه های کنترل سالین (۰/۶ میکرولیتر/رت) را به صورت درون مغزی و پنج دقیقه بعد مورفین (۶ میلی گرم/کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. به سه گروه از حیوانات در ابتدا دوزهای مختلف موسیمول به صورت درون مغزی و سپس دوز مورد نظر مورفین به صورت درون صفاقی تزریق شد. سه گروه باقیمانده نیز دوزهای مختلف بیکوکولین را به صورت درون مغزی و سپس مورفین را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. آزمون تست مجدد ۲۴ ساعت بعد جهت سنجش حافظه حیوانات، بدون تزریق دارو انجام شد.

#### تحلیل آماری

با به دست آوردن نرمالیت توزیع و همگنی واریانس، نتایج به صورت آماری به وسیله تحلیل واریانس یک طرفه بررسی شدند. Mean±SEM برای مقایسه میان گروه های آزمایشی با گروه کنترل مورد استفاده قرار گرفت. زمانیکه F-value معنی دار بود، تحلیل post-hoc (tukey-test) انجام شد. همچنین جهت سنجش تثبیت حافظه در میان گروه های آزمایشی بین دو روز متوالی تست و تست مجدد از آزمون t زوجی وابسته استفاده گردید. تفاوت با (P≤۰/۰۵) میان گروه ها، به لحاظ آماری معنی دار تلقی شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار سیگما پلات ویرایش ۱۲/۵ انجام شد.

#### نتایج

##### برش مغزی و بررسی صحت محل کانول گذاری

به منظور تعیین درستی محل تزریق دارو بعد از انجام تست رفتاری به همان روش، آبی متیلن، درون آمیگدال تزریق شد و سپس با کشتن حیوان، مغز آن بیرون آورده شد و به مدت ۳-۴ روز در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از برش مغز و مطابقت دادن آن با اطلس Paxinos و Watson داده های صحیح جهت بررسی های آماری مورد استفاده قرار گرفتند (Paxinos & Watson, 2006).

##### تاثیر تزریق دوزهای مختلف مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف مورفین، حداکثر تاثیر را در دوز ۶ میلی گرم/کیلوگرم در کاهش اضطراب در مرحله تست ایجاد کرد. براساس نتایج این آزمون مورفین به صورت وابسته به دوز [F(3,20)=47.366, P≤0/001] و OAT% و [F(3,20)=3.404, P≤0/05] را افزایش داد که نشان دهنده یک پاسخ اضطراب زدا است (شکل ۱). برای بررسی تغییرات مرتبط با تشکیل یا عدم تشکیل حافظه برانگیخته، نتایج حاصل از گروه های آزمایشی طی دو روز با آزمون t زوجی وابسته مورد سنجش قرار گرفت.

جدول ۱- نتایج حاصل از آزمون t زوجی وابسته، جهت مقایسه گروه‌ها طی دو روز متوالی تست و تست مجدد.

**Table 1.** Results of paired-samples t-test, in order to compare groups during two consecutive days of test and re-test.

| متغیر                     | روز      | میانگین | انحراف معیار | T      | P-value |
|---------------------------|----------|---------|--------------|--------|---------|
| مورفین - OAT%             | تست      | ۳۴,۷۹۱۷ | ۸,۳۷۶۸       | ۷,۵۹۳  | ۰,۰۰۰   |
|                           | تست مجدد | ۱۹,۵۰۰۰ | ۳,۴۳۸۹       |        |         |
| مورفین - OAE%             | تست      | ۴۲,۹۸۳۳ | ۶,۰۰۶۶       | ۵,۷۲۸۶ | ۰,۰۱۲   |
|                           | تست مجدد | ۳۸,۸۳۳۳ | ۴,۴۱۰۱       |        |         |
| موسیمول - OAT%            | تست      | ۲۴,۰۰۰۰ | ۳,۴۱۳۵       | ۶,۱۱۰  | ۰,۰۰۰   |
|                           | تست مجدد | ۲۰,۴۱۶۷ | ۴,۱۵۸۹       |        |         |
| موسیمول - OAE%            | تست      | ۴۲,۳۳۳۳ | ۳,۶۴۳۵       | ۰,۷۹۶  | ۰,۴۳۴   |
|                           | تست مجدد | ۴۱,۵۴۱۷ | ۴,۲۵۲۶       |        |         |
| موسیمول و مورفین - OAT%   | تست      | ۳۳,۲۰۸۳ | ۱۵,۳۹۰۵      | ۳,۶۱۳  | ۰,۰۰۱   |
|                           | تست مجدد | ۳۱,۳۳۳۳ | ۱۴,۹۸۰۱      |        |         |
| موسیمول و مورفین - OAE%   | تست      | ۴۳,۱۲۵۰ | ۳,۶۰۳۲       | ۳,۹۷۷  | ۰,۰۰۱   |
|                           | تست مجدد | ۳۹,۷۵۰۰ | ۴,۱۵۲۰       |        |         |
| بیکوکولین - OAT%          | تست      | ۳۲,۵۰۰۰ | ۵,۸۳۰۹       | ۶,۳۶۷  | ۰,۰۰۰   |
|                           | تست مجدد | ۲۱,۴۷۶۷ | ۷,۳۲۴۲       |        |         |
| بیکوکولین - OAE%          | تست      | ۴۷,۷۰۸۳ | ۳,۱۸۲۵       | ۴,۲۹۱  | ۰,۰۰۰   |
|                           | تست مجدد | ۴۳,۱۲۵۰ | ۵,۵۳۴۹       |        |         |
| بیکوکولین و مورفین - OAT% | تست      | ۴۵,۹۱۶۷ | ۶,۲۸۲۶       | ۱۱,۰۵۰ | ۰,۰۰۰   |
|                           | تست مجدد | ۳۲,۱۲۵۰ | ۴,۴۱۶۵       |        |         |
| بیکوکولین و مورفین - OAE% | تست      | ۴۵,۵۴۱۷ | ۹,۱۴۱۳       | ۳,۷۸۴  | ۰,۰۰۰   |
|                           | تست مجدد | ۳۸,۸۳۳۳ | ۷,۲۸۱۱       |        |         |

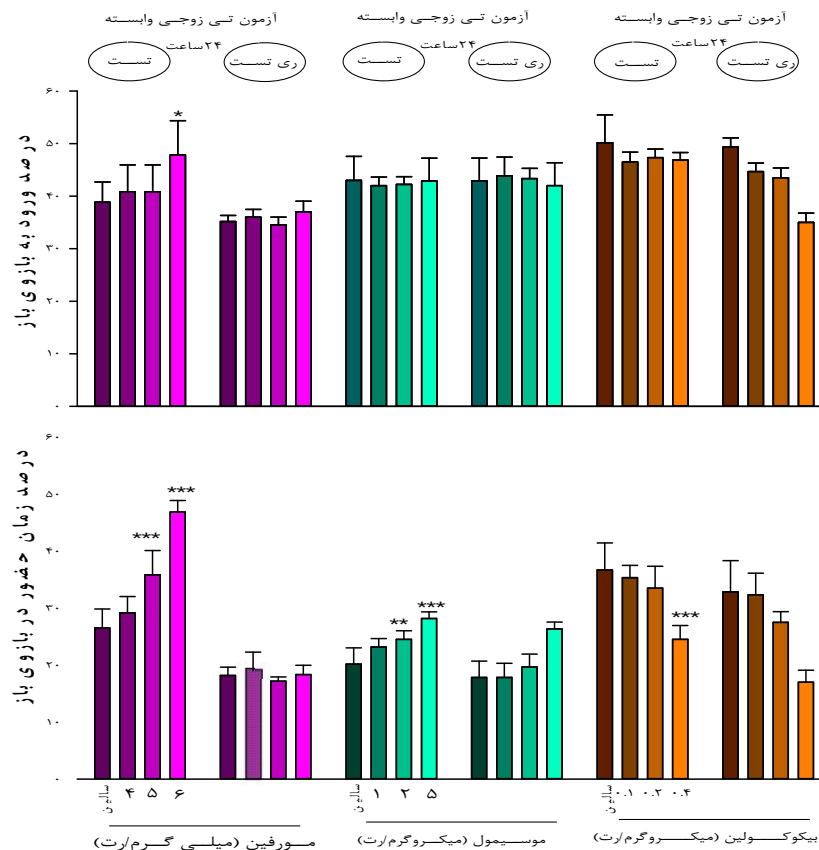
اثرات بکارگیری موسیمول درون CA1 سبب کاهش معناداری در میانگین OAT% و نه OAE% می‌شود ازینرو بنظر می‌رسد اثرات حافظه ای آن تعدیلی است (جدول ۱). پس از تزریق درون صفاقی دوز مؤثر مورفین (۶ میلی گرم/کیلوگرم) به همراه دوزهای سه گانه موسیمول OAT% همچنان افزایش معناداری را نشان داد. ازینرو می‌توان اینگونه استنباط کرد که بکاری همزمان موسیمول و مورفین سبب یک اثر هم افزا روی کاهش اضطراب می‌گردند [F(3,20)= 18.754, P≤0/001, %OAT]. لازم به ذکر است که در مقادیر OAE% در روز تست بین گروه‌های آزمایشی تفاوتی وجود نداشت [F (3,20)= 2.169, P>0.05] (شکل ۲).

در ارتباط با تغییرات حافظه ای ایجاد شده، نتایج آزمون t زوجی وابسته نشان داد که میانگین بین دو گروه کاهش معناداری را هم در OAT% و هم OAE% نشان می‌دهد که به نظر می‌رسد در روز دوم بین گروه‌های آزمایشی حافظه وجود داشت (جدول ۱).

این نتایج نشان می‌دهند که پارامترهای مرتبط با سنجش تثبیت حافظه کاهش معناداری را نشان می‌دهد. که نشان دهنده بهبود حافظه در گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف مورفین است. (شکل ۱). نتایج حاصل از این آزمون در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

#### تأثیر تزریق دوزهای مختلف موسیمول به تنهایی یا همراه با مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه

تأثیر تزریق دوزهای مختلف موسیمول روی اضطراب در شکل ۱ نشان داده شده است. تحلیل واریانس یک طرفه حاکی از اثرات اضطراب زدایی قابل توجه در گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۲ و ۵ میکروگرم/رت موسیمول است بدین معنا که افزایش معنا داری در مقادیر OAT% ایجاد کرد که خود بیانگر اثرات کاهنده موسیمول روی اضطراب است [F (3,20)= 18.857, P≤0/001]. اما در مقادیر OAE% بین گروه‌های آزمایشی تفاوتی دیده نشد [F (3,20)= 2.461, P>0.05] (شکل ۱). علاوه براین مقادیر آماری حاصل از آزمون t زوجی وابسته نشان می‌دهند که



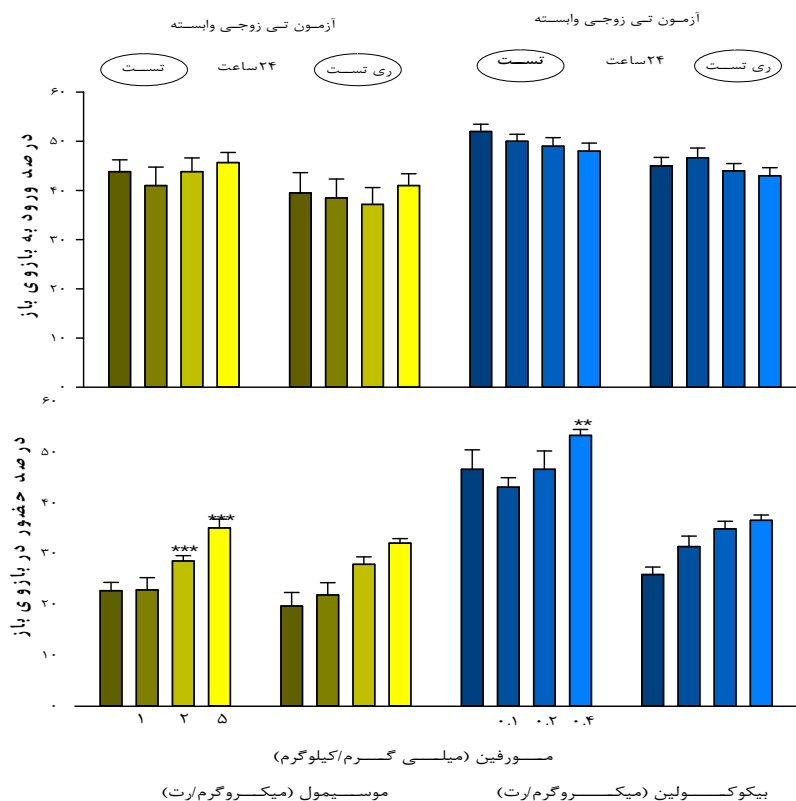
شکل ۱- تاثیر دوزهای مختلف مورفین، موسیمول و بیکوکولین روی مقادیر درصد OAT و درصد OAE. علامت \* نشان دهنده مقایسه گروه های تیمار شده با گروه کنترل سالین  $P \leq 0.05$ . علامت \*\* نشان دهنده مقایسه گروه های تیمار شده با گروه کنترل سالین  $P \leq 0.01$ . علامت \*\*\* نشان دهنده مقایسه گروه های تیمار شده با گروه کنترل سالین  $P \leq 0.001$ .

**Figure 1.** The effect of different doses of morphine, muscimol and bicuculline on %OAT and %OAE. Asterisk (\*) as compared with the control group  $P \leq 0.05$ . Asterisk (\*\*) as compared with the control group  $P \leq 0.01$ . Asterisk (\*\*\*) as compared with the control group  $P \leq 0.001$ .

مورفین و بیکوکولین است.  $F(3,20) = 24.769, P \leq 0.01$ . {OAT,  $F(3,20) = 34.042, P > 0.05$ , %OAE} (شکل ۲). همچنین نتایج آنالیز t زوجی وابسته نشان دهنده اثرات بهبود بخش بیکوکولین و یا بیکوکولین به همراه مورفین روی تثبیت حافظه است (جدول ۱).  
تاثیر تزریق دوزهای مختلف بیکوکولین به تنهایی یا همراه با مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه  
تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق درون CA1 بیکوکولین (۰/۴ میکروگرم/رت)، با کاهش در %OAT موجب افزایش اضطراب شد که در شکل ۱ نشان داده شده است.  $F(3,20) = 15.086, P \leq 0.001$ , %OAT اما در مقادیر %OAE تغییر به خصوصی دیده نشد.  $F(3,20) = 2.461, P > 0.05$ , %OAT (شکل ۱).

تاثیر تزریق دوزهای مختلف بیکوکولین به تنهایی یا همراه با مورفین بر رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه  
تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق درون CA1 بیکوکولین (۰/۴ میکروگرم/رت)، با کاهش در %OAT موجب افزایش اضطراب شد که در شکل ۱ نشان داده شده است.  $F(3,20) = 15.086, P \leq 0.001$ , %OAT اما در مقادیر %OAE تغییر به خصوصی دیده نشد.  $F(3,20) = 2.461, P > 0.05$ , %OAT (شکل ۱).

تزریق توامان دوزهای سه گانه بیکوکولین و دوز مؤثر مورفین باعث افزایش مدت زمان حضور حیوان در بازوی باز (%OAT) شد اما در %OAE تغییری ایجاد نکرد. در مجموع این یافته ها نشان دهنده اثرات اضطراب زدایی ناشی از تزریق هم زمان



شکل ۲- تاثیر دوزهای سه گانه موسیمول و بیکوکولین همراه با دوز مؤثر مورفین روی مقادیر درصد OAT و درصد OAE. علامت \* نشان دهنده مقایسه گروه‌های تیمار شده با گروه کنترل سالین  $P \leq 0.01$ . علامت \*\*\* نشان دهنده مقایسه گروه‌های تیمار شده با گروه کنترل سالین  $P \leq 0.001$ .

**Figure 2.** The effect of different doses of muscimol and bicuculline with effective dose of Morphine on % OAT and %OAE. Asterisk (\*\*) as compared with the control group  $P \leq 0.01$ . Asterisk (\*\*\*) as compared with the control group  $P \leq 0.001$ .

تزیق توامان دوزهای سه گانه بیکوکولین و دوز مؤثر مورفین باعث افزایش مدت زمان حضور حیوان در بازوی باز (%OAT) شد اما در %OAE تغییری ایجاد نکرد. در مجموع این یافته‌ها نشان دهنده اثرات اضطراب زدایی ناشی از تزریق هم زمان مورفین و بیکوکولین است.  $\{F(3,20) = 24.769, P \leq 0.01\}$ ،  $\{F(3,20) = 34.042, P > 0.05, \%OAE\}$  (شکل ۲). همچنین نتایج آنالیز t زوجی وابسته نشان دهنده اثرات بهبود بخش بیکوکولین و یا بیکوکولین به همراه مورفین روی تثبیت حافظه است (جدول ۱).

تزیق توامان دوزهای سه گانه بیکوکولین و دوز مؤثر مورفین باعث افزایش مدت زمان حضور حیوان در بازوی باز (%OAT) شد اما در %OAE تغییری ایجاد نکرد. در مجموع این یافته‌ها نشان دهنده اثرات اضطراب زدایی ناشی از تزریق هم زمان مورفین و بیکوکولین است.  $\{F(3,20) = 24.769, P \leq 0.01\}$ ،  $\{F(3,20) = 34.042, P > 0.05, \%OAE\}$  (شکل ۲). همچنین نتایج آنالیز t زوجی وابسته نشان دهنده اثرات بهبود بخش بیکوکولین و یا بیکوکولین به همراه مورفین روی تثبیت حافظه است (جدول ۱).

تزیق توامان دوزهای سه گانه بیکوکولین و دوز مؤثر مورفین باعث افزایش مدت زمان حضور حیوان در بازوی باز (%OAT) شد اما در %OAE تغییری ایجاد نکرد. در مجموع این یافته‌ها نشان دهنده اثرات اضطراب زدایی ناشی از تزریق هم زمان مورفین و بیکوکولین است.  $\{F(3,20) = 24.769, P \leq 0.01\}$ ،  $\{F(3,20) = 34.042, P > 0.05, \%OAE\}$  (شکل ۲). همچنین نتایج آنالیز t زوجی وابسته نشان دهنده اثرات بهبود بخش بیکوکولین و یا بیکوکولین به همراه مورفین روی تثبیت حافظه است (جدول ۱).

## بحث

از دیدگاه فیزیولوژیک، اضطراب واسترس واکنش‌های پیچیده ای در ارگانیسم بوده که به دنبال آشنایی از پیامدهای بیوشیمیایی و اندوکرینی و توسط استرسورها در نتیجه رفتارهای کوتاه مدت و بلند مدت ایجاد می‌شوند (Beirami et al., 2012).

سیستم ها، با اثر روی هسته های مختلف مغزی، اثرات متفاوتی را بر اضطراب و حافظه ناشی از آن اعمال می کنند.

درسالهای اخیر همچنین نقش سیستم اویپوئیدی در حافظه و یادگیری مورد توجه قرار گرفته است. بیشتر مطالعات نشان می دهند که آگونیست های این سیستم باعث مهار و آنتاگونیست های آن باعث تسهیل حافظه در آزمون های مختلف حافظه و یادگیری می شوند و در القا این اثرات با سایر نوروترانسمیترها تداخل دارند (Izquierdo & Dias, 1983). مطالعات زیادی نشان می دهند که مورفین در مغز، نقش مهمی را در یادگیری و حافظه اعمال می کند. حضور مورفین در مسیر مزولیمبیک و تداخل اثر آن با سیستم دوپامینی و استتاله های که نورون های اویپوئیدی به هیپوکامپ می فرستند نیز، نقش مهمی در اعمال شناختی دارد (Davis, 2001). همچنین نشان داده شده است که گیرنده های اویپوئیدی در مسیرهای دوپامینریک در استریاتوم و هسته آکومبنس با تراکم بالایی یافت می شوند و در این نواحی ارتباط متقابل بین سیستم اویپوئیدی و دوپامینی وجود دارد. برای مثال تزریق درون بطنی آگونیست های گیرنده  $\mu$  اویپوئیدی، آزادسازی دوپامین را در مغز تسهیل می نمایند. بنابراین احتمال دارد که بخشی از اثرات مورفین بر پاسخ های هیجانی با واسطه این نوروترانسمیتر میانجی گری شود (Kabuto et al., 1995).

داروهای اعتیاد آوری مانند مورفین و کانابینوئیدها اگر تنها در روز آموزش یا روز آزمون بکار روند باعث تخریب حافظه می گردند، اما اگرهم در روز آموزش و هم در روز آزمون حضور داشته باشند با ایجاد شرایط یکسان باعث به یادآوری اطلاعات کد شده در حضوردارو می گردند (Shulz et al., 2000). برخی محققین در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که تزریق سیستمیک مورفین به عنوان آگونیست گیرنده های  $\mu$ - اویپوئیدی اثرات اضطراب زدایی را در آزمون های رفتاری مختلف مثل تست EPM اعمال می کند (Zarrindast et al., 2005). در مقابل تزریق سیستمیک آنتاگونیست های آن اضطراب را در مدل های رفتاری کاهش می دهد (Tsuda et al., 1996). تزریق مورفین به درون بطن های مغزی، تاثیرات اضطراب زدایی قابل توجهی دارد، که احتمالاً از طریق سیستم وازوپرسینریک و مسیرهای نیتریک اکساید، میانجی گری می شود. همچنین، تزریق مورفین، درون هیپوکامپ شکمی یا هسته آکومبنس، و نه هسته مرکزی آمیگدال، تعداد ورود به بازوی باز و زمان حضور در آن را در آزمون EPM افزایش می دهد که نشان دهنده اثر شبه اضطراب زدایی آن است (Zarrindast et al., 2005).

مطالعات نشان دادند که تزریق آنتاگونیست رسپتورهای  $\mu$ -

اویپوئیدی، مثل نالوکسان، درون هیپوکامپ شکمی یا هسته آکومبنس، پاسخ شبه اضطراب زدایی ناشی از مورفین را مهار می کند. محققان چنین اثر اضطراب زدایی ناشی از نالوکسان را به تداخل میان سیستم های اویپوئیدی و گابائریک نسبت می دهند (Sasaki et al., 2002). نتایج آزمایش های مختلف فارماکولوژیکی شامل به کارگیری آگونیست ها و آنتاگونیست های مختلف گیرنده های گابائریک در مدل های حیوانی اضطراب متناقض است که ممکن است به دلیل میانکنش با سایر گیرنده های مونوآمینی باشد (McCabe et al., 2001).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف مورفین، حداکثر تأثیر را در دوز ۶ میلی گرم برکیلوگرم در کاهش اضطراب در مرحله تست ایجاد کرد اما تأثیر معنا داری بر تعداد دفعات ورود به بازوی باز نداشت. در این گروه رت هایی که دوزهای بالای مورفین را دریافت کردند، کاهش قابل ملاحظه ای را در میزان درصد OAT، در مرحله ری تست نسبت به مرحله تست نشان دادند. آنالیز ANOVA یکطرفه، نشان می دهد که رت ها در دوزهای فوق الذکر، تغییر معناداری را در مقایسه با گروه کنترل نشان نمی دهند که حاکی از حفظ سطوح اکتساب حافظه، علیرغم تغییرات اضطرابی ایجاد شده است. در مجموع، میتوان نتیجه گرفت که اعمال سیستمیک مورفین موجب افزایش یا کاهش معناداری در اکتساب حافظه نشده است. یافته فوق به وضوح حاکی از اثر اضطراب زدایی مورفین تزریق شده در CA1 در دوز اشاره شده است که با مطالعات پیش گفته همخوان است. تحقیقات نشان دادند که مواد اویپوئیدی، خروجی استیل کولین از نواحی مغزی دخیل در یادگیری و حافظه را کاهش می دهند. این احتمال وجود دارد که اویپوئیدها از طریق کاهش آزاد سازی استیل کولین در مغز (با واسطه گیرنده های  $\mu$  اویپوئیدی) حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار می دهند (Davis, 2000).

مورفین از طریق رسپتورهای  $\mu$  اویپوئیدی، تاثیرات اضطراب زدایی خود را احتمالاً از طریق میانکنش با سیستم گابا، انجام می دهد. به طوری که مورفین، با سرکوب ورودی های مهاری گابا، روی نورون های دوپامینریک مزولیمبیک که از هسته VTA می آیند، این تأثیر را اعمال می کند (Johnston, 2013). نوروترانسمیتر گابا، شلیک سلول های مغز و در نتیجه پیغام های وابسته به اضطراب را کاهش می دهد. اگرچه قرارگیری در معرض اضطراب طولانی مدت سبب می شود که مغز ذخیره گابای موجود را مصرف کند در نتیجه باعث ایجاد اضطراب در فرد می شود (Camps et al., 1990).

از آنجائی که پاسخ های مهاری سریع در CNS توسط

رسپتورهای گابا تعدیل می‌شود، این رسپتورها روی بسیاری از نورون‌ها بیان می‌شوند (Lydiard, 2003) و همچنین درجه بالایی از تفاوت و تخصصی شدن در سلول‌های آزاد کننده گابا که فعالیت شبکه‌های محیطی را کنترل می‌کنند، دیده می‌شود که در نهایت تشکیل خروجی‌هایی به نواحی مغزی و هسته‌های مختلف می‌دهند (Zarrabian et al., 2016). یک مطالعه میکرودیالیز داخل مغزی نشان داد که تزریق بیکوکولین (آنتاگونیست گیرنده گابا A)، یک افزایش معنی دار و وابسته به مقدار را در دوپامین خارج سلولی هسته آکومبسن ایجاد می‌کند (Yan, 1999). گزارش‌ها حاکی از آن است که تزریق داخل صفاقی بیکوکولین، نگهداری حافظه را افزایش می‌دهد (Luft et al., 2004).

در این مطالعه، تزریق درون هیپوکامپی بیکوکولین باعث افزایش اضطراب در تست EPM گردید. تزریق دوز مؤثر مورفین ۶ میلی گرم بر کیلوگرم اثر اضطراب زایی القا شده بوسیله بیکوکولین را از بین برد. پاسخ اضطراب زدایی دوز مؤثر مورفین تا اندازه‌ای قوی است که مانع از بروز رفتار اضطراب زایی بیکوکولین می‌شود و باعث افزایش میزان درصد OAT گردید. آنالیزهای انجام شده، حاکی از تفاوت‌های معناداری در مقادیر درصد OAT و OAE به دست آمده در آزمون روز اول (تست) و در مقایسه با روز دوم (تست مجدد) است که نشان دهنده وجود حافظه در روز دوم در مقایسه با روز اول است. نتایج حاصل از آنالیزها نشان می‌دهند، تزریق دوز مؤثر مورفین، در پی تزریق دوزهای مختلف بیکوکولین، تفاوت معناداری را در مقایسه با گروه مورفین از خود نشان دادند. همچنین در این گروه، یک افزایش بارز در میزان OAT مربوط به مرحله تست مجدد، در مقایسه با گروه کنترل مورفین در روز تست مجدد وجود داشت. تحقیقات نشان می‌دهند که تزریق پیش از آزمون موسیمول، به داخل هیپوکامپ پستی در مدل Step-down که یک مدل پذیرفته شده برای بررسی حافظه دراز مدت در جوندگان است، باعث تخریب حافظه در مدل‌های مختلف از جمله حافظه فضایی و حافظه اجتنابی مهاری می‌شود (Jafari-Sabet, 2011). در مطالعات انجام شده، تزریق پیش از آزمون دوزهای موسیمول به حیواناتی که در روز آموزش نیز، تحت تاثیر دوز مؤثر موسیمول قرار داشتند، باعث بهبود حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده با موسیمول روز آموزش شد. این پدیده، یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول نامیده می‌شود که گیرنده‌های آلفا-۲ - آدرنژیک هیپوکامپ پستی می‌تواند فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القا شده با موسیمول را تحت تاثیر خود قرار دهد که بخشی از این اثرات موسیمول بر روی حافظه، از طریق

گیرنده‌های گابا - A میانجی گری می‌شود (Piri et al., 2014). در یادگیری وابسته به وضعیت، برای به خاطر آوردن اطلاعات باید شرایط یکسانی در روز آموزش و آزمون فراهم باشد که در مطالعات انجام شده با تزریق داروی یکسان در روز آموزش و روز آزمون، این شرایط یکسان ایجاد می‌شود (Scheiderer et al., 2004). یافته‌ها نشان می‌دهند که چندین سیستم نوروترانس متری از جمله دوپامین، استیل کولین، نورآدرنالین و گابا در یادگیری وابسته به وضعیت تا حدودی دخیل هستند (Shulz et al., 2000).

در مطالعه حاضر، تزریق دوزهای مختلف موسیمول، موجب افزایش درصد ورود به بازوی باز شد. که آنالیزها نشان می‌دهند، موسیمول سبب ایجاد پاسخ‌های اضطراب زدا می‌شود. جهت بررسی میانکشی بین سیستم گابائژیک و اوپیوئیدرژیک در تعدیل اضطراب و حافظه، دوزهای مختلف موسیمول به همراه دوز مؤثر مورفین، تزریق شد که نتیجه آن افزایش قابل توجهی در درصد OAT بود. همچنین در این گروه، افزایش کمی در میزان درصد OAT مربوط به مرحله تست مجدد، در مقایسه با گروه تست وجود داشت. در مجموع نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهند که تزریق توامان موسیمول و مورفین، سبب افزایش درصد OAT می‌شوند همچنین هیچ تغییر معناداری در پارامترهای اشاره شده در فوق، در مرحله تست مجدد دیده نشد.

### نتیجه گیری

از یافته‌های فوق چنین بر می‌آید که سیستم گابائژیک دستگاه لیمبیک در ناحیه CA1 هیپوکامپ با سیستم اوپیوئیدرژیک جهت تعدیل رفتارهای شبه اضطرابی برهمکنش دارند. تزریق مورفین به صورت سیستمیک احتمالاً با تعدیل در عملکردهای نورون‌های گابائژیک هیپوکامپ پستی، سبب تغییر در اثرات سیستم گابائژیک بر روی اضطراب و حافظه می‌گردند. 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 گابائژیک، تأثیر در خور توجهی بر تثبیت حافظه ندارند. اما اعمال آنتاگونیست‌های گابائژیک در هسته CA1 سبب افزایش تثبیت حافظه شدند. بکارگیری مورفین، تأثیری بر تثبیت حافظه نداشت و به طور کل میتوان نتیجه گرفت که اعمال سیستمیک مورفین، موجب افزایش یا کاهش معناداری در اکتساب حافظه نشده است. به نظر میرسد سیستم‌های اوپیوئیدرژیک و گابائژیک، هر دو سبب

## REFERENCES

- Arias, H.R.** 1998. Binding sites for exogenous and endogenous non-competitive inhibitors of the nicotinic acetylcholine receptor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* 1376: 173-220.
- Beirami, E., Oryan, S., Valizadegan, F. & Zarrindast, M.** 2012. Performance evaluation of interference morphine and  $\beta$ -Adrenergic system of dorsolateral hippocampus on anxiety-related behaviour in male wistar rat. *Journal of Mazandaran University of Medical Science* 22: 50-59.
- Bergles, D.E., Doze, V.A., Madison, D.V. & Smith, S.J.** 1996. Excitatory actions of norepinephrine on multiple classes of hippocampal CA1 interneurons. *Journal of Neuroscience* 16: 572-585.
- Bowery, N.G., Bettler, B., Froestl, W., Gallagher, J.P., Marshall, F., Raiteri, M. & Enna, S.J.** 2002. International union of pharmacology. XXXIII. Mammalian  $\gamma$ -aminobutyric acid B receptors: structure and function. *Pharmacological Reviews* 54: 247-264.
- Camps, M., Kelly, P.H. & Palacios, J.M.** 1990. Autoradiographic localization of dopamine D1 and D2 receptors in the brain of several mammalian species. *Journal of Neural Transmission/General Section JNT* 80: 105-127.
- Carobrez, A.P. & Bertoglio, L.J.** 2005. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 1: 1193-1205.
- Cheetham, S.C., Crompton, M.R., & Katona, C.L.** 1988. Brain GABA<sub>A</sub>/ benzodiazepine binding sites and glutamic acid decarboxylase activity in depressed suicide victims. *Brain Research* 460: 114-123.
- Chen, N. & Justice, J.B.** 2000. Differential effect of structural modification of human dopamine transporter on the inward and outward transport of dopamine. *Molecular Brain Research* 75: 208-215.
- Davis, M. & Whalen, P.J.** 2001. The amygdala: vigilance and emotion. *Molecular Psychiatry* 6: 13-34.
- Engin, E. & Treit, D.** 2007. The role of hippocampus in anxiety: intracerebral infusion studies. *Behavioral Pharmacology* 18: 365-374.
- Frolund, B., Ebert, B., Kristiansen, U., Liljefors, T. & Krogsgaard-Larsen, P.** 2002. GABA-A receptor ligands and their therapeutic potentials. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2: 817-832.
- Gholaminejad, A., Naghdi, N. & Soleimannejad, E.** 2008. Interaction between testosterone and bicuculline GABA<sub>A</sub> antagonist in the CA1 region of hippocampus in spatial learning in adult male rats. *International Journal of Endocrinology & Metabolism* 4: 215-225.
- Izquierdo, I. & Dias, R.D.** 1983. Effect of ACTH, epinephrine,  $\beta$ -endorphin, naloxone, and of the combination of naloxone or  $\beta$ -endorphin with ACTH or epinephrine on memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology* 8: 81-87.
- Jafari-Sabet, M.** 2011. Involvement of dorsal hippocampal muscarinic cholinergic receptors on muscimol state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Life Sciences* 88: 1136-1141.

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.

اما احتمالاً این اثر تنها به صورت سینرژیک بوده و اثر این دو سیستم مادیولیتوری بر اضطراب و تثبیت حافظه ناشی از آن در هسته CA1 مستقل از هم است. ازسوی 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. یک احتمال دیگر میتواند این باشد که مکانیسم‌های گابائریک در هیپوکامپ پشتی ممکن است در میانجیگری اثرات اضطراب‌زدایی ناشی از مورفین دخیل باشند. دراین مطالعه که به بررسی میانکنش مورفین با سیستم گابائریک پرداخته شد نتایج حاصل بیان نمودند که سیستم اویپوئیدریک با سیستم گابائریک ناحیه CA1 هیپوکامپ برهمکنش داشته و سبب کاهش رفتار اضطرابی میگردد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، تحریک گیرنده اویپوئیدی توسط مورفین به نظر میرسد با تحت تأثیر قرار دادن فعالیت گیرنده‌های گابائریک سبب مهار اضطراب می‌گردد.

## سپاسگزاری

از اعضای بخش فیزیولوژی جانوری دانشگاه مازندران که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند سپاسگزاری می‌گردد.

- Johnston, G.A.** 2013. Advantages of an antagonist: bicuculline and other GABA antagonists. *British Journal of Pharmacology* 169: 328-336.
- Kabuto, H., Yokoi, I., Iwaya, K. & Mori, A.** 1995. Monoamine release in the rat striatum is induced by 8-guanidinovaleric acid and inhibited by GABA agonists. *Life Sciences* 56: 1741-1748.
- Luft, T., Pereira, G. S., Cammarota, M. & Izquierdo, I.** 2004. Different time course for the memory facilitating effect of bicuculline in hippocampus, entorhinal cortex, and posterior parietal cortex of rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 82: 52-56.
- Lydiard, R.B.** 2003. The role of GABA in anxiety disorders. *Journal of Clin Psychiatry* 64: 21-27.
- Matsumoto, M., Yoshioka, M., Togashi, H., Hirokami, M., Tochihara, M., Ikeda, T. & Saito, H.** 1994. Mu-opioid receptors modulate noradrenaline release from the rat hippocampus as measured by brain microdialysis. *Brain Research* 636: 1-8.
- Matsumoto, R.R.** 1989. GABA receptors: Are cellular differences reflected in function? *Brain Research Review* 14: 203-225.
- Mccabe, B.J., Horn, G. & Kendrick, K.M.** 2001. GABA, taurine and learning: Release of amino acids from slices of chick brain following filial imprinting. *Neuroscience* 105: 317- 324.
- Mereu, G., Yoon, K.W.P., Boi, V., Gessa, G.L., Naes, L. & Westfall, T.C.** 1987. Preferential stimulation of ventral tegmental area dopaminergic neurons by nicotine. *European Journal of Pharmacology* 141: 395-399.
- Nestler, E.J., Hyman, S.E. & Malenka, R.C.** 2001. *Molecular neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience*. McGraw-Hill Medical 4: 779-780.
- Paxinos, G., & Watson, C.** 2006. *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition*. Elsevier, p: 17.
- Piri, M., Navaeian, M. & Pakpour, B.** 2014. Assessment of effects of  $\alpha 2$ -Adrenoceptor agonists and antagonists in dorsal hippocampus on Muscimol State-dependent memory. *Qom University of Medical Science Journal* 1: 16-26.
- Qi, X.L., Zhu, B., Zhang, X.H. & Li, B.M.** 2008. Are  $\beta$ -adrenergic receptors in the hippocampal CA1 region required for retrieval of contextual fear memory? *Biochemical and Biophysical Research Communications* 368: 186-191.
- Rezayof, A., Razavi, S., Haeri-Rohani, A., Rassouli, Y. & Zarrindast, M.R.** 2007. GABA A receptors of hippocampal CA1 regions are involved in the acquisition and expression of morphine-induced place preference. *European Neuropsychopharmacology* 17: 24-31.
- Sasaki, K., Fan, L.W., Tien, L.T., Ma, T., Loh, H.H. & Ho, K.** 2002. The interaction of morphine and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) ergic systems in anxiolytic behavior: using  $\mu$ -opioid receptor knockout mice. *Brain Research Bulletin* 57: 689-694.
- Scheiderer, C.L., Dobrunz, L.E. & McMahon, L.L.** 2004. Novel form of long-term synaptic depression in rat hippocampus induced by activation of  $\alpha 1$  adrenergic receptors. *Journal of Neurophysiology* 91: 1071-1077.
- Shulz, D.E., Sosnik, R., Ego, V., Haidarliu, S. & Ahissar, E.** 2000. A neuronal analogue of state-dependent learning. *Nature* 403: 549-553.
- Squire, L.R., & Knowlton, B.J.** 2000. The medial temporal lobe, the hippocampus, and the memory systems of the brain. *The New Cognitive Neurosciences* 2: 756-776.
- Tayebi Meybodi, K., Vakili Zarch, A., Zarrindast, M.R. & Djahanguiri, B.** 2005. Effects of ultra-low doses of morphine, naloxone and ethanol on morphine state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Behavioral Pharmacology* 16: 139-145.
- Tsuda, M., Suzuki, T., Misawa, M. & Nagase, H.** 1996. Involvement of the opioid system in the anxiolytic effect of diazepam in mice. *European Journal of Pharmacology* 307: 7-14.
- Turgay, A.** 2009. Psychopharmacological treatment of oppositional defiant disorder. *CNS Drugs* 23: 1-17.
- Yan, Q.S.** 1999. Focal bicuculline increases extracellular dopamine concentration in the nucleus accumbens of freely moving rats as measured by in vivo microdialysis. *European Journal of Pharmacology* 385: 7-13.
- Zakharenko, S.S., Patterson, S.L., Dragatsis, I., Zeitlin, S.O., Siegelbaum, S.A., Kandel, E.R. & Morozov, A.** 2003. Presynaptic BDNF required for a presynaptic but not postsynaptic component of LTP at hippocampal CA1-CA3 synapses. *Neuron* 39: 975-990.
- Zarrabian, S., Farahizadeh, M., Nasehi, M. & Zarrindast, M.R.** 2016. The role of CA3 GABAA receptors on anxiolytic-like behaviors and avoidance memory deficit induced by NMDA receptor antagonists. *Journal of Psychopharmacology* 30: 215-223.
- Zarrindast, M.R., Rostami, P., Zarei, M. & Roohbakhsh, A.** 2005. Intracerebroventricular effects of histaminergic agents on morphine-induced anxiolysis in the elevated Plus-maze in rats. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* 97: 276-281.

\*\*\*\*\*

**How to cite this article:**

**Mirahmadi, T., Valizadegan, F. & Rahimi Tesiye, M.** 2022. Effects of gabaergic and morphinergic systems in CA1 nucleus on anxiety and arousal memory based on test-retest paradigm. *Nova Biologica Reperta* 9: 70-80. (In Persian).

میراحمدی، ط. ولی‌زادگان، ف. رحیمی تسویه، م. ۱۴۰۱. اثرات سیستم‌های گابائریک و مورفینریک بر هسته CA1 هیپوکامپ روی رفتارهای اضطراب و حافظه برانگیخته بر اساس الگوی Test-Retest. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۹: ۸۰-۷۰.