

## بررسی اثرات تحریک گیرنده‌های بتا ۲- آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر رفتارهای شبه-اضطرابی به دنبال استرس شوک الکتریکی کف پا در موش صحرایی نر

غلام حسین مفتاحی<sup>۱</sup> (Ph.D)، ژیللا پیرزاد جهرمی<sup>۱</sup> (Ph.D)، نازیلا قلی پور<sup>۲</sup> (Ph.D)، زهرا بهاری<sup>۳\*</sup> (Ph.D)

۱- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۲- گروه شیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۳- گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۲

bahari\_441@yahoo.com

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۸۷۵۵۵۴۲۰

### چکیده

هدف: ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال ساختار بسیار مهم در انسجام اطلاعات اضطراب می‌باشد. پیشنهاد شده است که ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال، آوران‌های نورآدرنرژیک زیادی از هسته لوکوس سرلئوس دریافت می‌کند. علاوه بر این، استرس سبب افزایش ترشح نوراپی نفرین در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال می‌شود. بنابراین، در مطالعه حاضر، اثرات تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر رفتارهای اضطرابی به دنبال استرس شوک الکتریکی بررسی می‌شود. مواد و روش‌ها: استرس شوک الکتریکی (۱۰ هرتز، ولتاژ ۴۰ میلی‌ولت به مدت ۶۰ ثانیه) به کف پای حیوان به مدت ۴ روز پشت سر هم اعمال شد. سالبوتامول (آگونیست گیرنده بتا ۲-آدرنرژیک، ۴ μg/rat) به صورت دوطرفه در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال، ۵ دقیقه قبل از شروع استرس در هر روز (به مدت ۴ روز پشت سر هم) تزریق شد. رفتارهای اضطرابی، ۲۴ ساعت بعد از آخرین روز استرس با استفاده از تست‌های ماز مرتفع بعلاوه‌ای شکل و جعبه باز ارزیابی شد. یافته‌ها: استرس شوک الکتریکی سبب کاهش معنی‌دار زمان حضور و دفعات ورود به بازوی باز در تست ماز مرتفع شد. به طور مشابه، استرس سبب کاهش معنی‌دار دفعات ورود و زمان سپری شده در ناحیه مرکزی جعبه باز شد. همچنین، استرس سبب کاهش معنی‌دار تعداد grooming و rearing شد. تزریق سالبوتامول سبب افزایش معنی‌دار زمان حضور و نیز دفعات ورود به بازوی باز در مقایسه با گروه استرس شد. همچنین، سالبوتامول سبب افزایش زمان حضور در ناحیه مرکزی، دفعات ورود به ناحیه مرکزی، تعداد grooming و rearing، عبور از خطوط و مسافت کل طی شده شد. نتیجه‌گیری: گیرنده‌های بتا دو آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای جانبی آمیگدال احتمالاً واکنش‌های اضطرابی القا شده ناشی از استرس شوک الکتریکی را واسطه‌گری می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: آمیگدال، گیرنده‌های آدرنرژیک، استری، اضطراب، تست جعبه باز، تست بعلاوه‌ای مرتفع، موش بزرگ آزمایشگاهی

### مقدمه

می‌باشند [۳-۵]. استرس مزمن سبب دژنراسیون نورون‌ها و تغییرات عملکردی و ساختاری در مغز می‌شود و یکی از مهم‌ترین علل ایجاد اختلالات روانی هم‌چون اضطراب، فراموشی، افسردگی و اعتیاد می‌باشد [۶-۸]. مطالعات نشان داده‌اند که از بین این اختلالات روانی که به دنبال استرس ایجاد می‌شود، اضطراب شایع‌ترین اختلال روانی است که علائم آن شامل تحریک‌پذیری، کج خلقی، خستگی، بی‌قراری، مشکلات خواب، تنش عضلانی، فراموش‌کاری و گیجی و غیره می‌باشد [۹، ۱۰]. اما مکانیسم‌های دقیقی که استرس چگونه باعث این

استرس مجموعه واکنش‌هایی است که در پاسخ به هر عاملی که موجب به هم خوردن تعادل درونی (هومئوستاز) شود به وجود می‌آید [۱]. استرس را می‌توان به عنوان یک فاکتور مهم در بروز اختلالات اضطرابی در نظر گرفت [۲]. دو دسته مهم از هورمون‌های استرس شامل گلوکوکورتیکوئیدها (کورتیزول، به عنوان محور محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غده آدرنال) و نیز کاتکول آمین‌ها (آدرنالین و نورآدرنالین، به عنوان حاصل فعالیت سیستم اتونوم سمپاتییک)

و تولید استراتژی‌های درمانی برای جلوگیری و یا درمان اختلالات رفتاری که به دنبال استرس ایجاد می‌شود مفید باشد. لذا، با توجه به این‌که، اثرات فعالیت گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر رفتارهای شبه اضطرابی در پاسخ به استرس ناشناخته می‌باشد. هم‌چنین با توجه به این‌که عدم موفقیت در درمان اختلالات اضطرابی و شیوع بالای آن در جامعه و نیز ایجاد عوارض زیاد مصرف داروهای ضد اضطراب رایج در برخی از بیماران، نیاز به تحقیقات وسیع‌تری در یافتن روش‌های درمانی جدید احساس می‌شود. لذا، هدف از طراحی مطالعه حاضر، بررسی اثرات تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال با استفاده از تزریق سالیوتامول (آگونست گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک) بر رفتارهای شبه اضطرابی به دنبال استرس شوک الکتریکی به کف پا در موش بزرگ آزمایشگاهی نر می‌باشد.

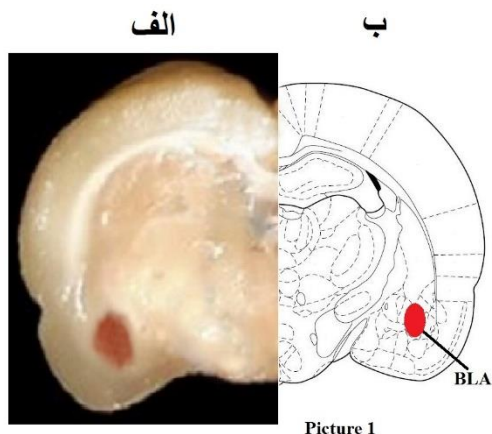
### مواد و روش‌ها

حیوانات. موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ، نژاد ویستار (دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله) با وزن تقریبی  $20 \pm 220$  گرم در هنگام جراحی استفاده گردید. حیوانات در گروه‌های ۲ تا ۴ تایی در قفس‌های پلاستیکی شفاف مخصوص به ابعاد  $(15 \times 30 \times 45)$  قرار داشتند و در اتاق حیوانات با چرخه نور-تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت و در دمای  $22-24^\circ\text{C}$  نگهداری می‌شدند. غذای مخصوص جوندگان و آب کافی در اختیار آن‌ها بود. حیوانات برای سازش با محیط جدید آزمایشگاه یک هفته قبل از شروع آزمایش به محیط آزمایش منتقل شدند. رت‌ها جهت تخصیص به گروه‌های مختلف به طور کاملاً تصادفی انتخاب شدند. تعداد هشت حیوان در هر گروه ( $n=8$ ) آزمایشی مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه پروتکل‌های مربوط به مطالعات بر روی حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق (IR.BMSU.REC.1398.216) تدوین شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله در این مطالعه مورد توجه قرار گرفته و رعایت شدند.

گروه‌های مورد مطالعه. در این تحقیق، حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه، تعداد ۸ حیوان در هر گروه، تقسیم شدند. گروه کنترل سالم، به گروهی اطلاق می‌شود که نه دارو و نه استرس دریافت می‌کردند. گروه شم (حامل)، شامل حیواناتی بودند که جراحی می‌شدند و نرمال سالیین (حلال سالیوتامول) به صورت دو طرفه در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال تزریق می‌گردید ولی استرس دریافت نمی‌کردند. گروه استرس، در این گروه حیوانات دارو و یا سالیین دریافت نمی‌کردند، ولی ۴ روز

اختلالات رفتاری می‌شود هنوز به درستی مشخص نشده است. کمپلکس آمیگدال نقش کلیدی و مهمی در یک‌پارچگی و هماهنگ کردن رفتارهای اضطرابی دارد [۱۱]. به عنوان مثال، فعالیت آمیگدال در بیماری‌هایی که از اختلالات عاطفی و اضطرابی رنج می‌برند افزایش می‌یابد [۱۲، ۱۳]. مطالعات نشان داده‌اند که در بین هسته‌های مختلف کمپلکس آمیگدال، ناحیه قاعده‌ای-جانبی به طور مستقیم در رفتارهای اضطرابی نقش دارد [۱۲]. ناحیه قاعده‌ای-جانبی در آمیگدال از طریق مسیرهای وایران به هیپوتالاموس می‌تواند آبخارهای نورواندوکراینی را که در پاسخ به استرس ایجاد می‌شوند تنظیم کند [۲]. هم‌چنین، این هسته از طریق ارتباطات متقابلی که با هیپوکمپ و قشر مغز دارد می‌تواند پاسخ‌های رفتاری را تعدیل و سازمان‌دهی کند [۱۴]. ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال غنی از گیرنده‌های آدرنرژیک می‌باشد [۱۵]. مطالعات پیشین نشان داده است که هسته آدرنرژیک لوکوس سرلئوس وایران‌های زیادی به ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال دارد. استرس حاد سبب افزایش فعالیت گیرنده‌های آدرنرژیک و نیز افزایش ترشح نوراپی‌نفرین در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال شده و متعاقب آن سبب بروز اضطراب و سایر رفتارهای مرتبط با استرس شده است [۱۶، ۱۷]. به طور مشابه، استرس سبب فعال شدن انتخابی نورون‌های آدرنرژیک هسته لوکوس سرلئوس شده است [۱۸]. تزریق نوراپی‌نفرین با تکنیک iontophoresis سبب مهار فعالیت الکتریکی خودبه‌خودی نورون‌های ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال در پاسخ به تحریک الکتریکی کورتکس انتورینال و کورتکس حسی شد. مطالعات هم‌چنین نشان داده است که نورون‌های وایران ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال به نوراپی‌نفرین پاسخ‌مندی می‌دهند [۱۹]. هم‌چنین، تزریق سیستمیک پروپرانولول (آنتاگونیست گیرنده‌های آدرنرژیک بتا) سبب مهار فعالیت الکتریکی خودبه‌خودی نورون‌های ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال و نیز سبب افزایش پاسخ‌مندی نورون‌های این ناحیه به نوراپی‌نفرین شد [۱۹]. در میان انواع مختلف آدرنورسپتورها به ویژه گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در سیستم عصب مرکزی نقش مهمی در اثرات رفتارهای شبه-اضطرابی دارند [۲۰]. افزایش بیان گیرنده‌های بتا ۱ و ۲-آدرنرژیک در آمیگدال، هیپوکمپ و سایر بخش‌های سیستم لیمبیک در اختلالات اضطرابی مشاهده شده است [۲۱]. بنابراین، به نظر می‌رسد که فعالیت نورون‌ها در ناحیه قاعده‌ای-جانبی یک نقش هماهنگ و یک‌پارچه‌کننده در تنظیم رفتارهای شبه اضطرابی ایفا می‌کنند [۲۲]. از این‌رو، دانستن تغییرات فیزیولوژیک و عملکردی در آمیگدال می‌تواند نقش مهمی در درک پاتوفیزیولوژی استرس داشته باشد و ممکن است در ایجاد

دقیقه پس از تزریق سالیین و یا سالبوتامول به ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال حیوانات جهت القاء استرس به دستگاه Communication Box انتقال داده شدند. عکس مقطع بافتی مربوط به کانول‌گذاری در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال و نیز شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس در شکل ۱ نشان داده شده است.



Picture 1

شکل ۱. عکس مقطع بافتی مربوط به کانول‌گذاری در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال (الف) و شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس که محل ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال در آن مشخص شده است (ب).

روش القاء استرس. در این تحقیق از استرس شوک الکتریکی کف پا توسط دستگاه Communication Box استفاده گردید. این دستگاه از جنس پلکسی گلاس بوده که کاملاً شفاف است و دارای ۹ قسمت مجزا برای ۹ موش آزمایشگاهی می‌باشد. هر یک از قسمت‌ها، دارای ابعادی در حدود ۵۰×۱۶×۱۶ سانتی‌متر (طول×عرض×ارتفاع) هستند، به طوری که حیوان قادر به خروج از آن نمی‌باشد. کف دستگاه حاوی سیم‌های استیل ضد زنگ به قطر ۴ میلی‌متر می‌باشد، که به فاصله ۱/۳ میلی‌متر از هم قرار گرفته و به دستگاه الکتروشوکی که توسط رایانه کنترل می‌شود، ارتباط می‌یابد. در تحقیق حاضر، شوک الکتریکی با فرکانس ۱۰ هرتز، ولتاژ ۴۰ میلی‌ولت به مدت ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. به این ترتیب حیواناتی که در این قسمت‌ها قرار می‌گرفتند، هر روز به طور تصادفی شوک الکتریکی تنظیم شده‌ای را (که نوعی استرس فیزیکی محسوب می‌شود) دریافت می‌کردند. از طرفی غیر قابل‌گریز بودن محفظه دستگاه را به عنوان جزء روانی استرس می‌بایست در نظر گرفت. آن دسته از موش‌هایی که تحت استرس قرار می‌گرفتند، ۵ دقیقه قبل از آن، سالیین یا دارو (سالبوتامول) دریافت می‌کردند. پس از آن‌که ۱ دقیقه استرس را پشت سر می‌گذراندند. پس از پایان یافتن استرس، یک ساعت فرصت داده می‌شد تا موش‌ها آرام شده و از شوک ناشی از استرس خارج شوند. این روش القاء

متوالی استرس شوک الکتریکی کف پا اعمال می‌شد. گروه کنترل + سالبوتامول، که سالبوتامول (۴ μg/rat) به صورت دو طرفه در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال حیوان تزریق می‌گردید، ولی حیوانات استرسی دریافت نمی‌کردند. گروه استرس + سالبوتامول، که سالبوتامول به صورت دو طرفه ۵ دقیقه قبل از استرس شوک الکتریکی کف پا در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال حیوان تزریق می‌گردید.

جراحی استریوتاکسیک و تزریق دارو. جهت بی‌هوشی حیوانات، کلرال هیدرات (mg/kg; Sigma-Aldrich, USA) (۳۵۰) به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق گردید و سپس حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند. سپس جمجمه حیوان را با کمک میله‌های گوشه‌ای و پوزه‌ای، درون دستگاه فیکس شده و جمجمه به صورت افقی بین نقاط لامبدا و برگما مستقر شد. دو کانول راهنما به صورت دو طرفه (به منظور تزریقات از طریق کانول که ۷ روز پس از جراحی انجام شد) در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال موش‌ها قرار داده شد. جهت محاسبه مختصات برای هر حیوان ابتدا فاصله بین نقاط برگما و لامبدا محاسبه شد. مختصات استریوتاکسی ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال با توجه به اطلس پاکسینوس و واتسون [۲۳] به صورت  $AP = -2/8 \text{ mm}$ ,  $DV = 7/5 \text{ mm}$  و  $ML = \pm 4/8 \text{ mm}$  محاسبه شد. سپس به وسیله مته دندان‌پزشکی سوراخی در محل علامت‌گذاری شده بر روی جمجمه ایجاد شد. بعد از سوراخ کردن جمجمه کانول راهنما به کمک دستگاه استریوتاکس به آرامی وارد مغز شد. سپس به سرعت اطراف کانول با اکریل دندان‌پزشکی مخلوط شده با منومر پوشیده و بعد از سفت شدن سیمان دندان‌پزشکی به آرامی سوزن دستگاه استریوتاکس را از درون کانول خارج کرده و سیمی نازک درون هر کانول راهنما، به منظور جلوگیری از بسته شدن آن قرار داده شد. بعد از پایان جراحی حیوان در قفس انفرادی قرار داده شد و برای سپری شدن دوره بهبودی ۷ روز به حیوان استراحت داده و بعد از این دوره آزمایشات بر روی آن‌ها انجام شد. تزریق سالیین یا سالبوتامول (شرکت دارویی تولید دارو، تهران، ایران) به داخل ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال از طریق کانول تزریق Gage ۳۰ که توسط یک رابط پلی‌اتیلنی به سرنگ هاملتون وصل شده بود، صورت گرفت. طول کانول تزریق یک میلی‌متر بلندتر از کانول راهنما انتخاب شد. در ابتدا لوله پلی‌اتیلنی و کانول تزریق با سالیین و یا سالبوتامول پر شد. سپس کانول تزریق در کانول راهنما تعبیه شده قرار داده و دارو به آهستگی و به مدت دو دقیقه به داخل ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال تزریق شد. سپس، سوزن تزریق به آرامی از داخل کانول راهنما خارج و در سمت مقابل نیز به همین شیوه تزریق انجام شد. ۵

لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز جعبه باز قرار داشت، سبب روشن بودن جعبه باز می‌شد. در ابتدا هر حیوان در مرکز جعبه قرار داده می‌شد و سپس رفتار حیوان توسط دوربین به مدت ۵ دقیقه ثبت و مورد بررسی قرار می‌گرفت. کل مسافتی که حیوان در جعبه باز طی می‌کند و زمانی که در مرکز طی می‌کند ثبت گردید. جهت بررسی رفتارهای شبه اضطرابی پارامترهای زیر مورد بررسی قرار گرفت: تعداد ورود به مرکز، زمان حضور در مرکز، تعداد Grooming (تمیزکردن بدن، صورت و پاها)، تعداد Rearing (ایستادن روی دو پای عقبی)، مسافت کل طی شده در ۵ دقیقه و تعداد عبور از خطوط در مدت زمان ۵ دقیقه. پس از هر تست کل سطح ماز به وسیله الکل ۷۰ درصد تمیز می‌گردید تا نشانه‌های بویایی به جا مانده از حیوان قبل از بین برود.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها. داده‌ها با استفاده از دو نرم‌افزار Pad Graph Prism و SPSS آنالیز گردید. اطلاعات به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد بیان شد. بعد از اطمینان از نرمال بودن توزیع متغیرهای کمی با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و تست متعاقب توکی استفاده شد. همچنین، از آزمون هم‌بستگی و رگرسیون پیرسون جهت بررسی هم‌بستگی بین پارامترهای رفتاری انجام شد.  $P < 0.05$  به عنوان مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

### نتایج

اثرات تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر روی رفتار شبه-اضطرابی به دنبال استرس شوک الکتریکی با استفاده از تست ماز مرتفع بعلاوه‌ای شکل. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه در مطالعه حاضر نشان داد که القای استرس ناشی از شوک الکتریکی سبب افزایش معنی‌دار زمان حضور حیوان در بازوی بسته ( $16/32 \pm 229/23$ ) شد. مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر ( $20/32 \pm 229/23$ ) و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی در آنالیز پارامتر زمان حضور حیوان در بازوی بسته ( $F=55/98$ ) می‌باشد. همچنین، استرس سبب کاهش معنی‌دار زمان حضور حیوان در بازوی باز ( $15/2 \pm 83/07$ )، نسبت به گروه کنترل سالم ( $26/6 \pm 33/02$ ) شد. مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی در آنالیز پارامتر زمان حضور در بازوی باز ( $F=21/17$ ) می‌باشد. علاوه بر این، استرس شوک الکتریکی به کف پای حیوان، سبب

استرس در ۴ روز متوالی انجام شد. اما در هر روز زمان القاء استرس تغییر کرده و به صورت تصادفی در ساعات مختلف اجرا گردید. این کار برای جلوگیری از شرطی شدن حیوانات نسبت به زمان القاء استرس بود [۲۴].

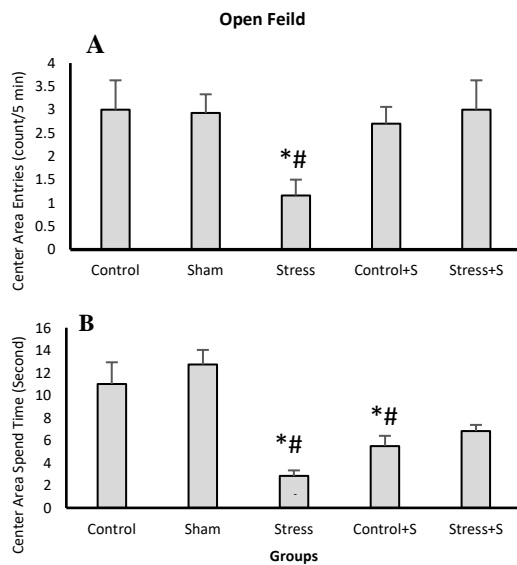
تست ماز بعلاوه مرتفع. حیوانات ۲۴ ساعت پس از دریافت ۴ روز متوالی شوک الکتریکی کف پا، تحت بررسی ماز بعلاوه مرتفع قرار گرفتند. ماز بعلاوه مرتفع به عنوان تست ارزیابی رفتارهای اضطرابی در حیوانات آزمایشگاهی شناخته می‌شود [۲۵]. این ابزار از جنس پلکسی‌گلاس و از دو بازوی باز ( $30 \times 5$  سانتی‌متری) و دو بازوی بسته ( $30 \times 5$  سانتی‌متری) تشکیل شده است که بازوهای شبیه به هم دو به دو روبروی یک‌دیگر قرار گرفته‌اند و کل ماز در ارتفاع ۷۵ سانتی‌متری از کف زمین قرار می‌گیرد. برای جلوگیری از سقوط حیوانات در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه‌هایی به اندازه یک سانتی‌متر تعبیه شده است. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز ماز قرار دارد، تامین می‌شود. چهار بازو به یک محدوده مرکزی به ابعاد  $10 \times 10$  سانتی‌متر منتهی می‌شوند. موش‌ها درون محدوده مرکزی و رو به یک بازوی باز قرار می‌گرفتند. در زمان فاز روشنایی سیکل تاریک/روشن، این تست انجام می‌گرفت، به طوری که حیوان در مرکز ماز قرار داده شده و به مدت ۵ دقیقه رفتارهای آن توسط دوربین قرار گرفته در بالای ماز ثبت می‌گردید، که به ما امکان بررسی دقیق‌تر تمام جنبه‌های رفتاری حیوان را می‌داد. پس از هر تست کل سطح ماز به وسیله الکل ۷۰ درصد تمیز می‌گردید تا نشانه‌های بویایی به جا مانده از حیوان قبل از بین برود. به منظور ارزیابی عملکرد رفتارهای شبه-اضطرابی حیوان در تست ماز مرتفع بعلاوه‌ای شکل، پارامترهای مورد ارزیابی شامل: زمان سپری شده در بازوی باز، زمان سپری شده در بازوی بسته، و تعداد دفعات ورود به بازوی باز در ۵ دقیقه بود. منظور از ورود به بازوی باز یا بسته قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر است.

آزمون جعبه باز. هم‌چون مرحله قبل موش‌ها ۲۴ ساعت پس از دریافت ۴ روز متوالی شوک الکتریکی کف پا تحت بررسی آزمون جعبه باز قرار گرفتند. این آزمون برای بررسی رفتارهای اضطرابی، اکتشافی و جستجوگری مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۶]. حیوان در یک جعبه از جنس پلاکسی‌گلس در ابعاد  $40 \times 60 \times 60$  سانتی‌متر (طول  $\times$  عرض  $\times$  ارتفاع) با کف و دیواره‌های سیاه رنگ قرار گرفت که کف آن با خطوطی به ۲۵ مربع تقسیم شده است. پهنه این فیلد به دو ناحیه محیط و مرکز تقسیم می‌شود. ۹ مربع وسط به عنوان ناحیه مرکزی و مربعات باقی مانده به عنوان نواحی محیطی در نظر گرفته می‌شوند. یک

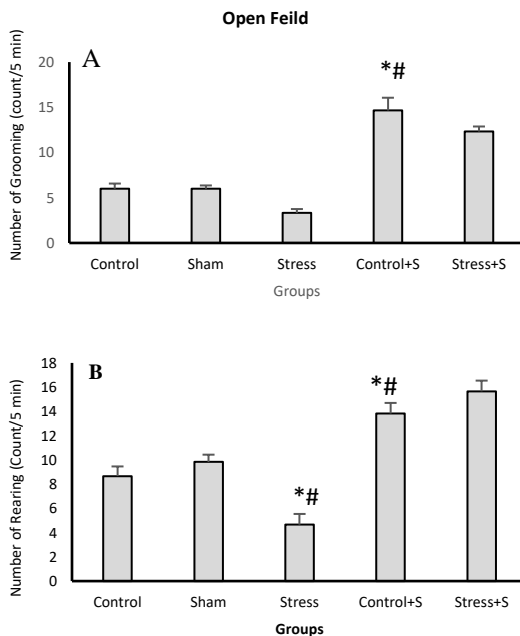
Rearing (استادن حیوان بر دو پای عقبی)  $(4/66 \pm 0/88)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه کنترل سالم  $(8/66 \pm 0/80)$  شد (شکل ۴). مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی برای رفتار Grooming  $F = 23/63 (635)$  و نیز برای رفتار Rearing  $F = 13/30 (635)$  می‌باشد. این موضوع نشان می‌دهد که استرس شوک الکتریکی در مطالعه حاضر، توانسته است سبب ایجاد رفتارهای شبه-اضطرابی در حیوانات گروه استرس نسبت به گروه کنترل سالم و شم شود. علاوه بر این، نتایج حاضر نشان داد که تزریق مرکزی سالیوتامول در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال سبب افزایش معنی‌دار تعداد دفعات ورود به ناحیه مرکزی جعبه باز  $(3/00 \pm 0/63)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه استرس  $(1/16 \pm 0/34)$  و نیز افزایش زمان حضور حیوان در این ناحیه  $(6/83 \pm 0/54)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه استرس  $(2/0 \pm 83/50)$  شد (نمودار ۲). علاوه بر این، تحلیل آماری نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که تزریق سالیوتامول در حیوانات تحت استرس سبب افزایش معنی‌دار پارامترهای مربوط به رفتارهای شبه-اضطرابی (رفتارهای Grooming  $12/33 \pm 0/55$ )،  $P < 0/05$  نسبت به گروه استرس  $(3/0 \pm 33/42)$  Rearing،  $(4/66 \pm 0/88)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه استرس  $(36/33 \pm 4/27)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه استرس  $(21/33 \pm 7/33)$  و مسافت کل طی شده در جعبه باز در زمان ۵ دقیقه  $(1209/66 \pm 142/33)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه استرس  $(899/00 \pm 190/64)$  شد (شکل ۴). مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی برای پارامتر Line Crossing  $F = 4/56 (635)$  و نیز برای پارامتر مسافت کل طی شده در جعبه باز در زمان ۵ دقیقه  $F = 4/31 (635)$  می‌باشد. این موضوع نشان‌دهنده اثرات ضد اضطرابی تزریق سالیوتامول در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال می‌باشد. علاوه بر این، برخلاف نتایج حاصل از تست ماز مرتفع بعلاوه‌ای شکل، تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی در آمیگدال در حیوانات گروه کنترل (توسط تزریق مرکزی سالیوتامول) در تست جعبه باز منجر به افزایش معنی‌دار تعداد Grooming  $(14/66 \pm 1/40)$ ،  $P < 0/05$ ، تعداد Rearing  $(13/83 \pm 0/87)$ ،  $P < 0/05$ ، Line Crossing  $(38/66 \pm 2/85)$ ،  $P < 0/05$  و مسافت کل طی شده در جعبه باز  $(1254/97 \pm 33/93)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه کنترل سالم شد (نمودارهای ۲ و ۳). مقایسه آماری نتایج حاصل از گروه‌های کنترل و شم، هیچ تفاوت معنی‌داری را بین این دو گروه نشان نداد. همچنین نتایج حاصل از آزمون آماری رگرسیون خطی و

کاهش معنی‌دار دفعات ورود حیوان به بازوی باز  $(4/1 \pm 70/32)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه کنترل سالم  $(13/1 \pm 23/56)$  شد (شکل ۲). مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی در آنالیز پارامتر دفعات ورود حیوان به بازوی باز  $F = 9/79 (420)$  می‌باشد. بنابراین، نتایج حاضر نشان می‌دهند که استرس شوک الکتریکی به کف پای حیوان، توانسته است سبب ایجاد رفتارهای اضطرابی در حیوانات گروه استرس نسبت به گروه‌های کنترل سالم و شم شود. علاوه بر این، نتایج حاضر نشان داد که تزریق مرکزی سالیوتامول در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال در حیوانات استرسی، سبب کاهش معنی‌دار زمان حضور حیوان در بازوی بسته  $(28/83 \pm 17/34)$ ،  $P < 0/05$  و نیز افزایش معنی‌دار زمان حضور در بازوی باز  $(54/7 \pm 83/47)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه استرس شد (نمودار ۱). همچنین، تزریق سالیوتامول در حیوانات استرسی، سبب افزایش معنی‌دار دفعات ورود به بازوی باز  $(7/66 \pm 0/88)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه استرس شد (نمودار ۱). علاوه بر این، تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال (توسط تزریق مرکزی سالیوتامول) در گروه کنترل نتوانست سبب تغییر معنی‌داری در هیچ یک از رفتارهای اضطرابی نسبت به گروه‌های کنترل سالم یا شم شود. همچنین، مقایسه آماری نتایج حاصل از گروه‌های کنترل سالم و شم، هیچ تفاوت معنی‌داری را بین این دو گروه نشان نداد (شکل ۳). اثرات تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر روی رفتار شبه-اضطرابی به‌دنبال استرس شوک الکتریکی با استفاده از آزمون جعبه باز. نتایج حاصل از مطالعه حاضر در تست جعبه باز نشان داد که القای استرس ناشی از شوک الکتریکی سبب کاهش معنی‌دار دفعات ورود در ناحیه مرکزی  $(1/16 \pm 0/34)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه کنترل سالم  $(3/00 \pm 0/63)$  شد. مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی برای دفعات ورود در ناحیه مرکزی  $F = 1/86 (635)$  می‌باشد. همچنین، استرس شوک الکتریکی سبب کاهش معنی‌دار زمان حضور حیوان در ناحیه مرکزی  $(2/83 \pm 0/50)$ ،  $P < 0/05$  در جعبه باز نسبت به گروه کنترل سالم  $(11/00 \pm 1/93)$  شد (نمودار ۲). مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی برای زمان حضور حیوان در ناحیه مرکزی  $F = 21/60 (635)$  می‌باشد. همچنین، استرس شوک الکتریکی سبب کاهش معنی‌دار رفتارهای Grooming (تمیز کردن پاها و صورت و بدن)  $(3/0 \pm 33/42)$ ،  $P < 0/05$  نسبت به گروه کنترل سالم  $(6/00 \pm 0/57)$  و کاهش معنی‌دار

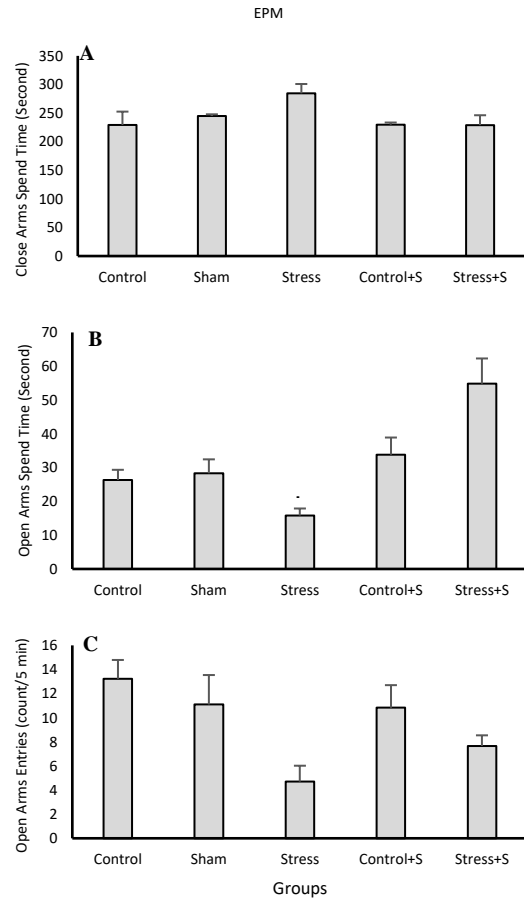




شکل ۳. بررسی اثر تزریق سابوتامول در ناحیه قاعده ای-جانبی آمیگدال در گروه‌های استرس و نرمال بر تعداد ورود به ناحیه مرکزی (A) و زمان سپری شده در ناحیه مرکزی (B) در تست جعبه باز. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی برای نمودار A:  $F=1/86(6 \text{ و } 35)$  و برای نمودار B:  $F=21/60(6 \text{ و } 35)$  می‌باشد.  $(P<0.05)$ \* تفاوت معنی دار با گروه کنترل،  $\#(P<0.05)$  تفاوت معنی دار با گروه شام و  $^{\wedge}(P<0.05)$  تفاوت معنی دار با گروه استرس نشان می‌دهد.



همبستگی نشان داد که فقط بین زمان حضور در ناحیه مرکزی و تعداد ورود به ناحیه مرکزی در گروه استرس همبستگی (P Value=0.014, R=0.901, R Square 0.812) وجود دارد (شکل ۵). هیچ همبستگی در گروه شام مشاهده نشد. بین سایر پارامترها هم آزمون همبستگی انجام شد و در هیچ مورد همبستگی دیده نشد (نتایج نشان داده نشده است).

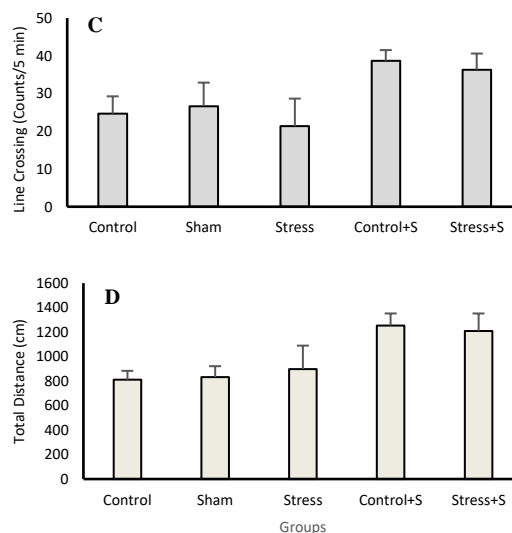


شکل ۲. بررسی اثر تزریق سابوتامول در ناحیه قاعده ای-جانبی آمیگدال در گروه‌های استرس و نرمال بر زمان سپری شده در بازوی بسته (A)، زمان سپری شده در بازوی باز (B) و تعداد ورود به بازوی باز (C) در تست ماز مرتفع بعلاوه ای شکل. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی برای نمودار A:  $F=55/98(4 \text{ و } 20)$  و برای نمودار B:  $F=21/17(4 \text{ و } 20)$  و نیز برای نمودار C:  $F=9/79(4 \text{ و } 20)$  می‌باشد.  $(P<0.05)$ \* تفاوت معنی دار با گروه کنترل،  $\#(P<0.05)$  تفاوت معنی دار با گروه شام و  $^{\wedge}(P<0.05)$  تفاوت معنی دار با گروه استرس نشان می‌دهد.

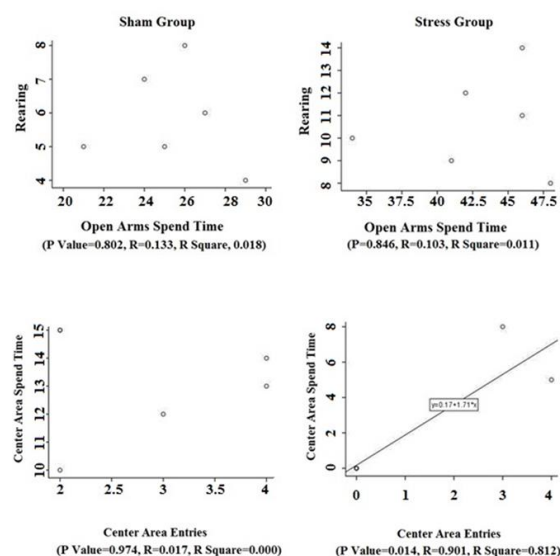
### بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که استرس شوک الکتریکی به کف پای حیوان به مدت ۴ روز پشت سر، هم سبب افزایش زمان حضور حیوان در بازوی بسته و نیز کاهش زمان حضور در بازوی باز ماز مرتفع شد. علاوه بر این، استرس شوک الکتریکی به کف پای حیوان، سبب کاهش معنی دار دفعات ورود حیوان به بازوی باز ماز مرتفع شد. بنابراین، نتایج حاصل از تست ماز مرتفع بعلاوه‌ای شکل نشان داد که استرس شوک الکتریکی به کف پای حیوان، توانسته است سبب ایجاد اضطراب در حیوانات شود. نتایج حاصل از مطالعه حاضر در تست جعبه باز نیز در راستای تست ماز مرتفع بود و نشان داد که استرس ناشی از شوک الکتریکی سبب کاهش معنی دار دفعات ورود در ناحیه مرکزی و نیز کاهش زمان حضور حیوان در ناحیه مرکزی در جعبه باز شد. هم‌چنین، استرس شوک الکتریکی سبب کاهش معنی دار رفتارهای Grooming و Rearing شد. این موضوع نیز تاکید می‌کند که در مطالعه حاضر، استرس شوک الکتریکی توانسته است سبب ایجاد رفتارهای شبه‌اضطرابی در حیوانات گروه استرس نسبت به گروه کنترل سالم شود. هدف اصلی در مطالعه حاضر، بررسی اثر تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر اضطراب می‌باشد. تحلیل آماری نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که تزریق سالیوتامول (آگونیست گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک) به ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال سبب ایجاد رفتارهای ضداضطرابی (افزایش زمان حضور در بازوی باز، افزایش دفعات ورود به بازوی باز و کاهش زمان حضور در بازوی بسته) در حیوانات تحت استرس در تست ماز مرتفع بعلاوه‌ای شکل نسبت به گروه کنترل سالم شد. هم‌چنین، نتایج حاصل از تست جعبه باز کاملاً در راستای نتایج حاصل از تست ماز مرتفع بعلاوه‌ای شکل بود. بدین معنی که تزریق سالیوتامول سبب ایجاد رفتارهای ضداضطرابی (افزایش زمان حضور در ناحیه مرکزی، افزایش دفعات ورود به ناحیه مرکزی و افزایش رفتارهای Grooming و Rearing در حیوانات تحت استرس نسبت به گروه کنترل سالم شد. در هماهنگی با مطالعه حاضر، تحقیقات تجربی زیادی نیز گزارش کرده‌اند که انواع مختلفی از مدل‌های استرس از قبیل شوک الکتریکی، استرس بی‌حرکتی و یا استرس‌های اجتماعی سبب بروز رفتارهای شبه‌اضطرابی در حیوانات می‌شود [۲۹-۲۷]. به عنوان مثال: Yamaguchi و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که استرس ناشی از شوک الکتریکی به کف پای حیوان سبب بروز رفتارهای اضطرابی می‌شود [۳۰]. به طور مشابهی، Guedri و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که استرس مزمن بی‌حرکتی به مدت ۳ ساعت در روز و برای ۱۴

Open Field



شکل ۴. بررسی اثر تزریق سالیوتامول در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال در گروه‌های استرس و نرمال بر تعداد رفتارهای Grooming (A)، Rearing (B) و Line Crossing (C) و مسافت کل طی شده (D) در جعبه باز در زمان ۵ دقیقه. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. مقدار عددی آماره F در آزمون فیشر و نیز درجه آزادی بین گروهی و درون گروهی برای نمودار A:  $F=23/63$  (۶ و ۳۵) و برای نمودار B:  $F=13/30$  (۶ و ۳۵)، برای نمودار C:  $F=4/56$  (۶ و ۳۵)، و نیز برای نمودار D:  $F=4/31$  (۶ و ۳۵) می‌باشد. \* ( $P<0.05$ ) تفاوت معنی دار با گروه کنترل، # ( $P<0.05$ ) تفاوت معنی دار با گروه شم و ^ ( $P<0.05$ ) تفاوت معنی دار با گروه استرس نشان می‌دهد.



شکل ۵. همبستگی بین پارامترهای زمان حضور در بازوی باز در ماز مرتفع و تعداد Rearing در تست جعبه باز و پارامترهای زمان حضور در ناحیه مرکزی جعبه باز و تعداد ورود به ناحیه مرکزی در تست جعبه باز در گروه‌های استرس و شم. آنالیز همبستگی و رگرسیون پیرسون نشان داد که فقط در گروه استرس بین پارامترهای زمان حضور در ناحیه مرکزی جعبه باز و تعداد ورود به ناحیه مرکزی در تست جعبه باز همبستگی مثبت وجود دارد. ضریب همبستگی پیرسون (R) و ضریب تعیین (RSquare) و نیز عدد P-Value برای هر گروه در نمودار نشان داده شده است.

آمیگدال در حیوانات به دنبال اضطراب افزایش یافت [۳۳]. همچنین، مطالعات کلینیکی با استفاده از تکنیک‌های تصویربرداری مغز نشان داده است که مهار گیرنده‌های نورآدرنرژیک ناحیه قاعده‌ای-جانبی در انسان توسط پروپرانولول سبب مهار مدارهای نورونی اضطرابی می‌شود [۳۸]. مطالعه حاضر، اولین مطالعه‌ای است که به بررسی اثرات تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر اضطراب ناشی از استرس شوک الکتریکی می‌پردازد. در مطالعه حاضر علاوه بر نتایج به دست آمده که در فوق به آن اشاره شد، تزریق سالیوتامول در حیوانات سالم (بدون استرس) در تست جعبه باز (و نه تست ماز مرتفع) منجر به افزایش معنی‌دار رفتارهای کنجکاوانه و لوکوموتور (افزایش فعالیت ضد اضطرابی) نسبت به گروه کنترل سالم شد. بنابراین، به نظر می‌رسد که احتمالاً گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال به صورت تونیک هم در کنترل رفتارهای اضطرابی نقش دارند. هرچند که در مطالعه حاضر بر خلاف نتایج حاصل از تست جعبه باز، نتایج حاصل از تست ماز مرتفع این کنترل تونیک را نشان نداد. بدین معنی که تزریق سالیوتامول در حیوانات سالم سبب تغییر معنی‌داری در رفتارهای شبه‌اضرابی نسبت به گروه کنترل سالم نشد. همچنین، در مطالعه حاضر، نتایج حاصل از آزمون آماری هم‌بستگی و رگرسیون خطی پی‌رسون نشان داد که فقط بین زمان حضور در ناحیه مرکزی و تعداد ورود به ناحیه مرکزی در تست جعبه باز در گروه استرس هم‌بستگی مثبت وجود دارد. این بدین معنی است که هر چه تعداد ورود به ناحیه مرکزی در تست جعبه باز بیشتر باشد، زمان حضور حیوان نیز در ناحیه مرکزی بیشتر خواهد بود.

از نظر کاربردی، با توجه به این‌که درمان‌های رایج در درمان اضطراب به دلیل شناخته نشدن مکانیسم‌های درگیر در اضطراب، نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌تواند برای بسیاری از پژوهشگران حوزه داروسازی و علوم اعصاب در شناخت بیشتر مسیرهای اضطرابی کمک‌کننده باشد. این مطالعه با بررسی اثرات تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال و ارتباط آن با اضطراب می‌تواند در مسیر آینده پژوهشگران این حوزه کمک کند. یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر تزریق فقط یک دوز از سالیوتامول در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بود. همچنین، یکی دیگر از محدودیت‌های مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضد اضطرابی سالیوتامول در مدت زمان استرس ۴ روزه (زمان حاد) و نه استرس مزمن بود. از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی

روز، سبب بروز اضطراب در تست ماز مرتفع بعلاوه‌ای شکل و نیز کاهش فعالیت حرکتی در تست جعبه باز در موش بزرگ آزمایشگاهی شد [۳۱]. اضطراب یک اختلالات مهمی است که به دنبال مواجهه با استرس در فرد ایجاد می‌شود [۳۲]. گزارشات پیشین حاکی از آن است که کمپلکس آمیگدال یکی از ساختارهای مهم مغز است که در کنترل اضطراب و سایر اختلالات هیجانی به دنبال استرس در انسان و حیوانات نقش مهمی دارد [۳۳]. مطالعات پیشین نشان داده است که فعالیت سیناپسی در آمیگدال، به طور مبالغه‌آمیزی به دنبال اضطراب افزایش می‌یابد [۳۳]. هم‌چنین به طور مشابهی، افزایش فعالیت نورونی و نیز هایپرتروفی آمیگدال در بیماران مبتلا به اختلالات اضطرابی مشاهده شد [۳۴، ۳۵]. مطالعات پیشین نشان داده است که گیرنده‌های آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال نقش مهمی در پردازش و انسجام اطلاعات مربوط به رفتارهای هیجانی مانند ترس و اضطراب دارد [۳۳]. از این میان، بیش‌تر مقالات به ارتباط بین فعالیت گیرنده‌های آدرنرژیک آلفا-۲ و بتا-۱ با اضطراب اشاره کرده‌اند [۳۳]. ولی تاکنون، مطالعه‌ای جهت بررسی نقش تحریک گیرنده‌های بتا ۲-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال بر اضطراب ناشی از استرس انجام نشده است. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای، Bashiri و همکاران در سال ۲۰۱۶ ارتباط گیرنده‌های آلفا ۲-آدرنرژیک نشان دادند که تزریق کلونیدین (آگونیست گیرنده‌های آلفا ۲-آدرنرژیک) به ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال سبب کاهش رفتارهای اضطرابی ناشی از نیکوتین در موش بزرگ آزمایشگاهی شد. این محققین هم‌چنین نشان دادند که تزریق یوهیمین (آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا ۲-آدرنرژیک) سبب معکوس شدن پاسخ مهاری کلونیدین بر رفتارهای اضطرابی شد [۳۶]. هم‌چنین، نشان داده شده است که تزریق یوهیمین سبب افزایش فعالیت الکتریکی نورون‌های آدرنرژیک و نیز افزایش غلظت نوراپی‌نفرین در نواحی مختلفی از مغز به ویژه آمیگدال می‌شود [۳۶]. به همین علت، Buffalari و Grace در سال ۲۰۰۹ در مطالعه خود از یوهیمین به عنوان یک ماده اضطراب‌آور استفاده کردند و نشان دادند که تزریق یوهیمین سبب افزایش فعالیت الکتریکی نورون‌های ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال و نیز افزایش غلظت نوراپی‌نفرین در این ناحیه می‌شود [۳۷]. بنابراین، با مطالب فوق می‌توان به این نتیجه رسید که تحریک گیرنده‌های آلفا-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی آمیگدال سبب کاهش رفتارهای اضطرابی می‌شوند [۳۷]. در مورد نقش گیرنده‌های بتا ۱-آدرنرژیک آمیگدال در اضطراب، Fu و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که میزان بیان گیرنده‌های بتا ۱-آدرنرژیک در ناحیه قاعده‌ای-جانبی



amygdala neurons and fear behavior across the estrous cycle in rats. *Sci Rep* 2019; 9: 12292.

<https://doi.org/10.1038/s41598-019-48683-3>

PMid:31444385 PMCID:PMC6707149

[13] Zhang X, Tong Tong Ge, Yin G, Cui R, Zhao G, Yang W. Stress-Induced functional alterations in amygdala: implications for neuropsychiatric diseases. *Front Neurosci* 2018; 12: 367.

<https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00367>

PMid:29896088 PMCID:PMC5987037

[14] Yang Y, Wang JZ. From structure to behavior in basolateral amygdala-hippocampus circuits. *Front Neural Circuits* 2017; 11: 86.

<https://doi.org/10.3389/fncir.2017.00086>

PMid:29163066 PMCID:PMC5671506

[15] Faraji N, Shiravi A, Bahari Z, Shirvani H, Meftahi GH. Basolateral amygdala  $\alpha$ 1-Adrenergic receptor suppression attenuates stress-induced anxiety-like behavior and spine morphology impairment on hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Neurochem J* 2020; 14: 77-89.

<https://doi.org/10.1134/S1819712420010079>

[16] Aubry AV, Serrano PA, Burghardt NS. Molecular mechanisms of stress-induced increases in fear memory consolidation within the amygdala. *Front Behav Neurosci* 2016; 10: 191.

<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00191>

PMid:27818625 PMCID:PMC5073104

[17] Onur OA, Walter H, Schlaepfer TE, Rehme AK, Schmidt C, Keyser C, et al. Noradrenergic enhancement of amygdala responses to fear. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2009; 4: 119-126.

<https://doi.org/10.1093/scan/nsn049>

PMid:19246474 PMCID:PMC2686227

[18] McCall JG, Siuda ER, Bhatti DL, Lawson LA, McElligott ZA, Stuber GD, et al. Locus coeruleus to basolateral amygdala noradrenergic projections promote anxiety-like behavior. *Life* 2017; 6: e18247.

<https://doi.org/10.7554/eLife.18247>

PMid:28708061 PMCID:PMC5550275

[19] Buffalari DM, Grace AA. Noradrenergic modulation of basolateral amygdala neuronal activity: opposing influences of  $\alpha$ -2 and  $\beta$  receptor activation. *J Neuroscience* 2007; 27: 12358-12366.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2007-07.2007>

PMid:17989300 PMCID:PMC6673273

[20] Kang EH, Yu BH. Anxiety and  $\beta$ -adrenergic receptor function in a normal population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29: 733-737.

<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.04.027>

PMid:15939520

[21] Buffalari DM, Grace AA. Noradrenergic modulation of basolateral amygdala neuronal activity: opposing influences of  $\alpha$ -2 and  $\beta$  receptor activation. *J Neurosci* 2007; 27: 12358-12366.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2007-07.2007>

PMid:17989300 PMCID:PMC6673273

[22] LeDoux J. The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cell Mol Neurobiol* 2003; 23: 727-738.

<https://doi.org/10.1023/A:1025048802629>

PMid:14514027

[23] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2007; Elsevier: Academic Press (6th Edition).

[24] Dalooei JR, Sahraei H, Meftahi GH, Khosravi M, Bahari Z, Hatf B, et al. Temporary amygdala inhibition reduces stress effects in female mice. *J Adv Res* 2016; 7: 643-649.

<https://doi.org/10.1016/j.jare.2016.06.008>

PMid:27489731 PMCID:PMC4950119

[25] Albrechet-Souza L, Cristina de Carvalho M, Rodrigues Franci C, Brandao ML. Increases in plasma corticosterone and stretched-attend postures in rats naive and previously exposed to the elevated plus-maze are sensitive to the anxiolytic-like effects of midazolam. *Horm Behav* 2007; 52: 267-273.

<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.05.002>

PMid:17553501

[26] Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in

آمیگدال (توسط تزریق دوطرفه سالبوتامول) سبب بروز اثرات

ضد اضطرابی در حیواناتی که تحت استرس شوک الکتریکی کف پا قرار گرفته‌اند، می‌شود.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه

علوم پزشکی بقیه‌الله تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

[1] Galluzzi L, Yamazaki T, Kroemer G. Linking cellular stress responses to systemic homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Bio* 2018; 19: 731-745.

<https://doi.org/10.1038/s41580-018-0068-0>

PMid:30305710

[2] Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Dialogues Clin Neurosci* 2017; 19: 181-191.

<https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.2/wcarlezon>

PMid:PMC5573562

[3] Gjerstad JK, Lightman SL, Spiga F. Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility. *STRESS* 2018; 21: 403-416.

<https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1470238>

PMid:29764284 PMCID:PMC6220752

[4] Mohammad Rezaei R, Pourali-Malabad R, Shiravi A, Rashidy-Pour A, Vafaei AA. Interaction between 5-HT6 receptors and acute stress and corticosterone on fear memory reconsolidation in mice. *Koomesh* 2020; 22: 185-191. (Persian).

<https://doi.org/10.29252/koomesh.22.1.185>

[5] Choobdar S, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Sedaghat K. Protective role of vitamin-D on chronic stress induced-learning and memory deficits in rats. *Koomesh* 2019; 21: 708-715. (Persian).

[6] Ellenbroek BA, van der Kam EL, van der Elst MC, Cools AR. Individual differences in drug dependence in rats: the role of genetic factors and life events. *Eur J Pharmacol* 2005; 526: 251-258.

<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.09.032>

PMid:16253227

[7] Mah L, Szabuniewicz C, Fiocco AJ. Can anxiety damage the brain? *Curr Opin Psychiatry* 2016; 29: 56-63.

<https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000223>

PMid:26651008

[8] McEwen BS. Stress, sex, and neural adaptation to a changing environment: mechanisms of neuronal remodeling. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1024: 38-59.

<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05568.x>

PMid:20840167 PMCID:PMC2946089

[9] Fava M, Hwang I, Rush AJ, Sampson N, Walters EE, Kessler RC. The importance of irritability as a symptom of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication. *Mol Psychiatry* 2010; 15: 856-867.

<https://doi.org/10.1038/mp.2009.20>

PMid:19274052 PMCID:PMC3012558

[10] McLean CP, Asnaani A, Litz BT, Hofmann SG. Gender differences in anxiety disorders: prevalence, course of illness, comorbidity and burden of illness. *J Psychiatric Res* 2011; 45: 1027-1035.

<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2011.03.006>

PMid:21439576 PMCID:PMC3135672

[11] Fox AS, Shackman AJ. The central extended amygdala in fear and anxiety: Closing the gap between mechanistic and neuroimaging research. *Neurosci Lett* 2019; 693: 58-67.

<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.11.056>

PMid:29195911 PMCID:PMC5976525

[12] Blume SR, Padival M, Urban JH, Rosenkranz JA. Disruptive effects of repeated stress on basolateral

<https://doi.org/10.1053/meta.2002.33184>

PMid:12040534

[33] Fu A, Li X, Zhao B. Role of beta1-adrenoceptor in the basolateral amygdala of rats with anxiety-like behavior. *Brain Res* 2008; 1211: 85-92.

<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.03.013>

PMid:18423428

[34] Rauch SL, Whalen PJ, Shin LM, McInerney SC, Macklin ML, Lasko NB, et al. Exaggerated amygdala response to masked facial stimuli in posttraumatic stress disorder: a functional MRI study. *Biol Psychiatry* 2000; 47: 769-776.

[https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(00\)00828-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(00)00828-3)

[35] Stein MB, Simmons AN, Feinstein JS, Paulus MP. Increased amygdala and insula activation during emotion processing in anxiety-prone subjects. *Am J Psychiatry* 2007; 164: 318-327.

<https://doi.org/10.1176/ajp.2007.164.2.318>

PMid:17267796

[36] Valizadegan F, Oryan S, Nasehi M, Zarrindast MR. Interaction between morphine and noradrenergic system of basolateral amygdala on anxiety and memory in the elevated plus-maze test based on a test-retest paradigm. *Arch Iran Med* 2013; 16: 281-287.

[37] Buffalari DM, Grace AA. Anxiogenic modulation of spontaneous and evoked neuronal activity in the basolateral amygdala. *Neuroscience* 2009; 163: 1069-1077.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.07.003>

PMid:19589368 PMCID:PMC2760662

[38] Hurlmann R, Walter H, Rehme AK, Kukulja J, Santoro SC, Schmidt C, et al. Human amygdala reactivity is diminished by the  $\beta$ -noradrenergic antagonist propranolol. *Psychol Medicine* 2010; 40: 1839-1848.

<https://doi.org/10.1017/S0033291709992376>

PMid:20102667

inbred mice. *Behav Brain Res* 2002; 134: 49-57.

[https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00452-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00452-1)

[27] Calfa G, Volosin M, Molina VA. Glucocorticoid receptors in lateral septum are involved in the modulation of the emotional sequelae induced by social defeat. *Behav Brain Res* 2006; 172: 324-332.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.05.022>

PMid:16814878

[28] Bignante EA, Paglini G, Molina VA. Previous stress exposure enhances both anxiety-like behaviour and p35 levels in the basolateral amygdala complex: modulation by midazolam. *Eur Neuropsychopharmacol* 2010; 20: 388-397.

<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2010.02.007>

PMid:20223640

[29] Bali A, Jaggi AS. Electric foot shock stress: a useful tool in neuropsychiatric studies. *Rev Neurosci* 2015; 26: 655-677.

<https://doi.org/10.1515/revneuro-2015-0015>

PMid:26167978

[30] Yamaguchi T, Tsujimatsu A, Kumamoto H, Izumi T, Ohmura Y, Yoshida T, et al. Anxiolytic effects of yokukansan, a traditional Japanese medicine, via serotonin 5-HT1A receptors on anxiety-related behaviors in rats experienced aversive stress. *J Ethnopharmacol* 2012; 143: 533-539.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.07.007>

PMid:22819689

[31] Guedri K, Frih H, Chettoum A, Rouabhi R. Chronic restraint stress induced neurobehavioral alterations and histological changes in rat. *J Toxicol Environ Health Sci* 2017; 9: 123-129.

<https://doi.org/10.1007/s13530-017-0312-6>

[32] Miller DB, O'Callaghan JP. Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism* 2002; 51: 5-10.

## Effects of the stimulation of $\beta_2$ -adrenoceptors of the the basolateral amygdala on anxiety-like behaviors following electrical foot-shock stress in male rat

Gholam Hossein Meftahi (Ph.D)<sup>1</sup>, Gila Pirzad Jahromi (Ph.D)<sup>1</sup>, Nazila Gholipour (Ph.D)<sup>2</sup>, Zahra Bahari (Ph.D)<sup>\*3</sup>

<sup>1</sup> - Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> - Dept. of Chemistry, Faculty of Pharmacy, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup> - Dept. of Physiology and Medical Physics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

\* Corresponding author. +98 21 87555420 bahari\_441@yahoo.com

Received: 17 Feb 2020; Accepted: 23 Aug 2020

**Introduction:** The basolateral amygdala (BLA) is a key structure that integrated anxiety information. It is suggested that baso-lateral area of amygdala receives a dense norepinephrine innervation from the locus coeruleus nucleus. Furthermore, stress increased norepinephrine secretion in the BLA. In the present study, we examined the effects of the stimulation of  $\beta_2$ -adrenoceptors in the BLA on anxiety-like behaviors following foot-shock stress.

**Materials and Methods:** Foot-shock stress (10 Hz, 40 mV for 60 seconds) for 4 consecutive days applied to animals. Salbutamol (the  $\beta_2$ -adrenoreceptor agonist; 4  $\mu$ g/rat) bilaterally injected into the BLA 5 min before starting foot-shock stress for 4 consecutive days. Anxiety-like behaviors assessed 24h after the last session of stress, using elevated plus-maze (EPM) and open field test (OFT).

**Results:** Foot-shock stress significantly decreased time spent and the number of entries into the open arms of EPM. Similarly, stress significantly decreased the time spent and the number of entries into the center area of OFT. Furthermore, foot-shock stress significantly decreased the number of grooming and rearing behaviors. Additionally, intra-BLA infusions of salbutamol before stress significantly increased time spent and the number of entries into the open arms as compared with stress group. In addition, OFT results showed that salbutamol increased the time spent in the center, number of center entries, the number of rearing and grooming behaviors, line crossing and total distance as compared with the stress group.

**Conclusion:** It is likely that  $\beta_2$ - adrenoceptors of the BLA mediate the induced-anxiety-behaviors by foot-shock stress.

**Keywords:** Amygdala, Adrenergic Receptors, Stress, Anxiety, Open Field Test, Elevated plus maze Test, Rats.