Original Article

Interaction between mecamylamine and nitric oxide in dorsal hippocampus using the elevated plus-maze test of anxiety

Piri M[1*], Shahab Z[2], Shahin MS[3]

1- Department of Biology, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, I. R. Iran.
2- Department of Biology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, I. R. Iran.
3- Islamic Azad University, Shahr-e-Rey Branch, Tehran, I. R. Iran.

Received October 22, 2012; Accepted April 17, 2013

Abstract:

Background: Nitric oxide and mecamylamine have an important role in anxiety-like behavior. Determining the site of action in the brain and interaction between these agents need to be investigated. Therefore, this study aimed to investigate the possible interaction between mecamylamine and nitric oxide in dorsal hippocampus using the elevated plus-maze test of anxiety.

Materials and Methods: This experimental study was performed on 180 male NMRI mice. Mice were anaesthetized with ketamine and xylazine and two cannuale were inserted stereotaxically into the CA1 region of the dorsal hippocampus. All animals were allowed to recover for 1 week before the beginning of the behavioral testing. The elevated plus-maze was used to test the anxiety-like behavior.

Results: Bilateral intra-dorsal hippocampal injections of mecamylamine, L-arginine or L-NAME induced the anxiogenic effects. Intra-dorsal hippocampal injection of ineffective dose of mecamylamine before different doses of L-arginine or L-NAME potentiated the anxiogenic effects of L-arginine or L-NAME.

Conclusion: Results reveal that both nitric oxide and mecamylamine not only play a part in the modulation of anxiety in the dorsal hippocampus of mouse but also have demonstrated a complex interaction as well.

Keywords: Mecamylamine, Nitric oxide, Anxiety, Dorsal hippocampus, Mouse

* **Corresponding Author.**
Email: biopiri@iauardabil.ac.ir
Tel: 0098 912 254 3585
Fax: 0098 451 772 8026

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences November, 2013; Vol. 17, No 5, Pages 429-437

Please cite this article as: Piri M, Shahab Z, Shahin MS. Interaction between mecamylamine and nitric oxide in dorsal hippocampus using the elevated plus-maze test of anxiety. ***Feyz*** 2013; 17(5): 429-37.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

برهمکنش مکامیلامین و سیستم نیتریک اکساید هیپوکامپ پشتی موش کوچک آزمایشگاهی در تست اضطراب ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع

مرتضی پیری [1*]، زهرا شهاب [2]، مریم السادات شاهین [3]

خلاصه:

سابقه و هدف: مکامیلامین و نیتریک اکساید در رفتارهای شبه اضطرابی نقش دارند. اما تعیین محل اثر و برهمکنش این سیستم‌ها در مغز نیازمند مطالعه می‌باشد. لذا، در این مطالعه برهمکنش احتمالی بین مکامیلامین و سیستم نیتریک اکساید هیپوکامپ پشتی در زمینه رفتار شبه اضطرابی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی روی ۱۸۰ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI انجام شد. موش‌های کوچک آزمایشگاهی با کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند و دو کانول با استفاده از دستگاه استریوتاکسی در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی قرار داده شد. به تمامی حیوانات قبل از شروع آزمون رفتاری برای بهبودی یک هفته فرصت داده شد. تست ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع برای سنجش رفتارهای شبه اضطرابی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج: تزریق دوطرفه مکامیلامین، L- آرژنین یا L-NAME به هیپوکامپ پشتی باعث القاء اثرات اضطراب‌زا می‌شود. تزریق مقدار غیرموثر مکامیلامین به داخل هیپوکامپ پشتی قبل از مقادیر مختلف L - آرژنین یا L-NAME اثرات اضطراب‌زای L- آرژنین یا L-NAME را تقویت می‌نماید.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهند که نه تنها نیتریک اکساید و مکامیلامین هر دو در تعدیل اضطراب در هیپوکامپ پشتی موش‌های کوچک آزمایشگاهی نقش دارند، بلکه بین آنها یک برهمکنش پیچیده نیز وجود دارد.

واژگان کلیدی: مکامیلامین، نیتریک اکساید، اضطراب، هیپوکامپ پشتی، موش کوچک آزمایشگاهی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۲، صفحات ۴۳۷-۴۲۹

مقدمه

اضطراب یک احساس ناراحت کننده است که خطری نامعلوم و مبهم را تداعی می‌کند. این حالت ذهنی که همه ما بارها تجربه کرده‌ایم با علائم جسمی و بدنی مختلف مثل فشردگی قفسه سینه، احساس تنگی و فشردگی در گلو، اشکال در تنفس، طپش قلب، گیجی، آشفتگی روانی و عرق کردن همراه است. با توجه به میزان بالای شیوع اختلالات اضطرابی در جامعه، شناسایی سیستم‌های نوروبیولوژیک و نوروترانسمیتری مرتبط با اضطراب می‌تواند در کنترل و درمان این اختلالات مفید واقع شود. مهمترین بخش مغز که در رفتارهای هیجانی مانند اضطراب دخیل می‌باشد دستگاه لیمبیک می‌باشد، که هیپوکامپ نیز به‌عنوان بخشی از آن در کنترل رفتارهای هیجانی مثل ترس و اضطراب نقش دارد [۳-۱].

هیپوکامپ مقدار زیادی ورودی‌های کولینرژیک از بخش میانی سپتوم و نوار مورب بروکا دریافت می‌کند [۴]. مطالعات نشان می‌دهند که سیستم کولینرژیک نقش مهمی در حافظه، یادگیری [۵] و رفتارهای شبه اضطرابی دارد [۶،۱]. مطالعات انجام شده بر روی بیماران مبتلا به آلزایمر که عملکرد سیستم کولینرژیک در لوب گیجگاهی و هیپوکامپ آنها مختل می‌شود، نشان‌دهنده اهمیت سیستم کولینرژیک در فرآیند حافظه و اضطراب می‌باشد. این بیماران علاوه بر نقص پیش‌رونده حافظه، اضطراب فوق العاده شدیدی را نیز تجربه می‌نمایند [۷]. اثرات استیل کولین در سیستم عصبی به‌واسطه دو دسته اصلی گیرنده‌های نیکوتینی و موسکارینی میانجی‌گری می‌شوند که هر دو نوع گیرنده در کنترل رفتارهای شبه اضطرابی دخیل می‌باشند [۸]. تحریک یا مهار گیرنده‌های پیش سیناپسی نیکوتینی می‌توانند رهایش پیامبرهای مختلف عصبی از جمله سروتونین، دوپامین، استیل کولین و گلوتامات را تغییر دهند [۶،۵]. علاوه بر این برهمکنش مستقیم، گیرنده‌های نیکوتینی می‌توانند به‌واسطه تغییر میزان رهایش گلوتامات، میزان تولید نیتریک اکساید را در بخش‌های مختلف مغز تغییر دهند [۱۱-۹]. برخی از گزارشات نشان می‌دهند که مکامیلامین می‌تواند اثرات ضد اضطرابی القاء شده با نیکوتین را مهار نماید، ولی خود به تنهایی روی رفتار اضطرابی اثری ندارد [۱۲]، در حالی‌که برخی دیگر از

[1] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، اردبیل، ایران

[2] دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

[3] دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری، تهران، ایران

*** نشانی نویسنده مسئول:**

اردبیل ، میدان بسیج، دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

تلفن: ۰۹۱۲ ۲۵۴۳۵۸۵ **دورنویس:** ۰۴۵۱ ۷۷۲۸۰۲۶

پست الکترونیک: biopiri@iauardabil.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۱ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۲/۱/۲۸

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

گزارشات نشان‌دهنده این موضوع می‌باشند که مکامیلامین با حذف تونوس کولینرژیک موجود در هیپوکامپ باعث القاء اضطراب می‌شود [۱۳]. مشخص شده است که میزان استیل کولین درون‌زاد تولید شده در هیپوکامپ رابطه عکس با سطح استرس‌زایی محیط دارد و وقتی جاندار در شرایط استرس‌زا قرار می‌گیرد، میزان استیل کولین در هیپوکامپ کاهش یافته و همین کاهش می‌تواند باعث ظهور اضطراب گردد [۱۳]. از طرف دیگر اهمیت سیستم نیتریک اکساید در رفتار اضطرابی نشان داده شده است [۱٤]. نیتریک اکساید یک میانجی عصبی گازی شکل می‌باشد که به روش آنزیمی بعد از فعال شدن نورون‌ها توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از L– آرژنین ساخته می‌شود و خود باعث افزایش رهایش دوپامین، استیل کولین و گلوتامات می‌گردد [۱۵،۱٦]. آنزیم نیتریک اکساید سنتاز در مراکز عصبی که در کنترل اضطراب نقش دارند نظیر آمیگدال، هیپوکامپ و بخش پشتی ماده خاکستری دور قنات سیلویوس به مقدار زیاد بیان می‌شود [۱۷]. مطالعات نشان می‌دهد که نیتریک اکساید در اعمال مختلفی نظیر تمایز عصبی، تقویت دراز مدت سیناپسی (LTP)، تغییر شکل سیناپسی و حافظه و یادگیری نقش دارد [۱۷،۱۱،۱۰]. گزارش مستقیمی در مورد برهمکنش بین مکامیلامین (آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی) و نیتریک اکساید وجود ندارد. اما گزارشاتی مبنی بر برهمکنش بین گیرنده‌های نیکوتینی و سیستم نیتریک اکساید وجود دارد. برای مثال گزارش شده است که مهار فارماکولوژیکی سیستم نیتریک اکساید باعث تضعیف برخی از پاسخ‌های رفتاری القاء شده با تحریک گیرنده‌های نیکوتینی می‌شود [۱۸]. در این مطالعه با در نظر گرفتن اهمیت هیپوکامپ پشتی در رفتار اضطرابی و در نظر داشتن این نکته که گیرنده‌های نیکوتینی می‌توانند میزان تولید نیتریک اکساید را تحت تاثیر قرار دهند و نیز تعدیل رهایش استیل کولین توسط نیتریک اکساید، اثر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های نیکوتینی، مکامیلامین و برهمکنش آنها با سیستم نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی در زمینه رفتار اضطرابی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت، از موش‌های کوچک آزمایشگاهی با وزن تقریبی ۲۵–۲۲ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شده، در هر قفس ۵ سر موش قرار داده شد. در طول آزمایش آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت و هر سه روز یک‌بار قفس موش‌ها تمیز می‌شد. دمای حیوانخانه بین ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحی به‌مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. در طول یک هفته به‌منظور جلوگیری از تنش کار، هر روز حیوان‌ها Handling می‌شدند. هر حیوان فقط یک‌بار استفاده شده و در گروه هشت تایی قرار داده می‌شد. همه آزمایش‌ها در طول روز انجام می‌شد.

دستگاه تست اضطراب و نحوه انجام تست رفتاری

برای سنجش اضطراب از مدل رفتاری ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (elevated plus-maze) استفاده شد. اساس این ارزیابی مدل Pellow و File است [۱٤] ، که بر پایه دو غریزه طراحی شده است: یکی حس جستجوگرانه جوندگان، و دیگری احتراز از محیط‌های باز و روشن. در این روش حیوان بیشتر تمایل دارد وقت خود را در بازوهای بسته بگذراند. این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت به‌علاوه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته ۷×٤۰ است که در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیوارهای به بلندی ۱۰ سانتی‌متر قرار دارد. برای جلوگیری از سقوط موش‌های صحرایی، در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه‌هایی به ارتفاع یک سانتی متر از جنس شیشه تعبیه شده است. ماز به‌وسیله پایه‌هایی در ارتفاع ٤۰ سانتی متر از سطح زمین قرار می‌گیرد. موش‌ها درون محدوده مرکزی و رو به یک بازوی باز قرار می‌گرفتند. نور مناسب به وسیله یک لامپ ۱۰۰ وات که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز ماز قرار داشت، تأمین می‌شد. در مدت پنج دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کرد، چهار پارامتر به روش مشاهده اندازه‌گیری می‌شد: تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می‌شد، تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می‌شد، مدت زمانی که حیوان در بازوی باز می‌ماند و مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته می‌ماند. منظور از ورود به بازوی باز یا بسته قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر است. مدت زمان ماندن در هر بازو نیز بر همین اساس محاسبه شده است. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز (Open Arm Entries (%OAE، درصد زمان ماندن در بازوی باز (Open Arm Times (%OAT و فعالیت حرکتی به طریق زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد ورود به بازوی باز} = \left(\frac{\text{تعداد ورود به بازوی باز}}{\text{تعداد ورود به بازوی بسته + تعداد ورود به بازوی باز}}\right) \times ۱۰۰$$

$$\text{درصد ماندن در بازوی باز} = \left(\frac{\text{مدت ماندن در بازوی باز}}{\text{مدت ماندن در بازوی باز + مدت ماندن در بازوی بسته}}\right) \times ۱۰۰$$

تعداد ورود به بازوی باز + تعداد ورود به بازوی بسته = فعالیت حرکتی جاندار

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

افزایش معنی‌دار درصد ورود به بازوی باز و درصد ماندن در بازوی باز به همراه عدم تغییر فعالیت حرکتی نشان دهنده کاهش اضطراب در این تست است. البته عامل در صد ورود به بازوی باز (%OAE) نسبت به فاکتور درصد زمان حضور در بازوی باز (%OAT) در ثبت رفتارهای اضطرابی و ضد اضطرابی حیوان دارای حساسیت کمتری است.

داروها

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از مکامیلامین، L - آرژنین و L-NAME که همگی از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه گردید. تمامی داروها بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل حل شدند و به‌صورت درون مغزی به ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی تزریق شدند.

روش جراحی و کانول‌گذاری در ناحیه هیپوکامپ پشتی (CA1)

موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ mg/kg) به‌علاوه زایلازین (۱۰ mg/kg) بی-هوش شدند. بعد از بی‌هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. کانول‌های راهنما (G ۲۳) به‌صورت دو طرفه یک میلی-متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (۲۰۰۱) قرار داده شدند. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی عبارت بود از: AP=-۲، ML=+۱/٦، V=-۱/٥ [۱۹]. بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندانپزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده می‌شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به‌منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده، به حالت عادی خود برگردد.

تزریق درون مغزی دارو

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن G ۳۰ دندانپزشکی که ۹ میلی متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد (شماره ٤) متصل بود، در داخل کانول راهنما G ۲۳ قرار داده شده، در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-٦۰ ثانیه تزریق می‌شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

بافت شناسی

پس از کشتن حیوانات توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ٤ (µl ۱ درصد) به داخل هر دو کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شده، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار می‌گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده می‌شد. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. لازم به توضیح است که حیواناتی که کانول گذاری آنها صحیح انجام نشده بود یا به‌دلیلی نظیر بسته بودن یا افتادن کانول‌ها امکان تزریق درون مغزی فراهم نشد، از روند مطالعه حذف شدند و به جای آنها از حیوانات جایگزین استفاده شد. به‌همین دلیل از مجموع ۱۸۰ موش به‌کار رفته در این مطالعه تنها داده‌ها ۱٦۰ موش در تجزیه و تحلیل نهایی مورد استفاده قرار گرفت و داده‌های ۲۰ موش به‌دلایل مختلف مانند اشتباه در کانول گذاری حذف گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

در همه آزمایش‌ها درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز به‌عنوان ملاک رفتار اضطرابی اندازه‌گیری شد. هم‌چنین، میزان فعالیت حرکتی حیوان نیز به‌صورت هم‌زمان اندازه‌گیری گردید. نمره هر گروه به‌صورت $\overline{X} \pm SEM$ ثبت گردید. به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایش، از روش آنالیز واریانس دوطرفه، آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مکمل توکی استفاده گردید. اختلاف در سطح $P<۰/۰۵$ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Plot Sigma استفاده شد.

تیمارهای دارویی و آزمایش‌های انجام شده

آزمایش اول: اثر مکامیلامین بر رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی

در این آزمایش چهار گروه حیوان به‌کار رفت. گروه اول سالین (۱ میکرو لیتر بر موش) و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف مکامیلامین (٤، ۲، ۰/۵ میکروگرم بر موش) را به‌صورت درون مغزی در داخل ناحیه هیپوکامپ پشتی دریافت کردند.

آزمایش دوم: اثر L - آرژنین در حضور مقدار کم مکامیلامین بر رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی

در این آزمایش هشت گروه حیوان به‌کار رفت. چهار گروه اول ابتدا سالین (۱ میکرولیتر بر موش) و چهار گروه بعدی در همین زمان مقدار غیر موثر مکامیلامین (۰/۵ میکرو گرم بر موش) را دریافت

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

کردند. دو دقیقه بعد از تزریق اول مقادیر مختلف L - آرژنین (۱، ۰/۵، ۰/۱ و ۰ میکروگرم بر موش) به ناحیه هیپوکامپ پشتی حیوان تزریق شد و پنج دقیقه بعد آزمون اضطراب انجام گرفت.

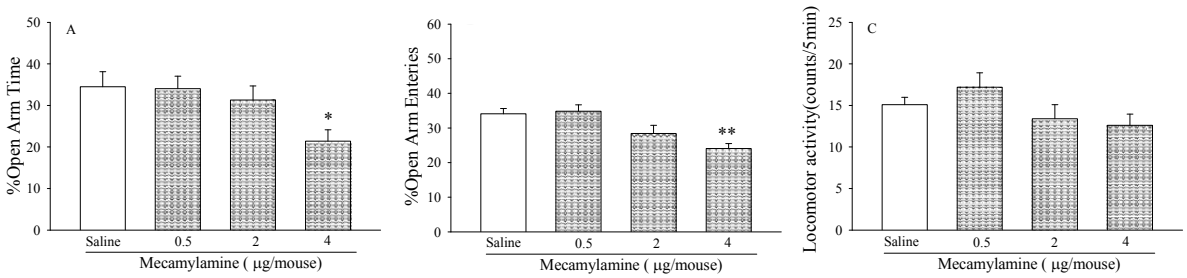
آزمایش سوم: اثر L-NAME در حضور مقدار کم مکامیلامین بر رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی

در این آزمایش نیز هشت گروه حیوان به‌کار رفت. چهار گروه اول ابتدا سالین (۱ میکرولیتر بر موش) و چهار گروه بعدی در همین زمان مقدار غیر موثر مکامیلامین (۰/۵ میکروگرم بر موش) را دریافت کردند. دو دقیقه بعد از تزریق اول مقادیر مختلف L-NAME (۵۰، ۱۰، ۵ و ۰ نانوگرم بر موش) به ناحیه هیپوکامپ پشتی حیوان تزریق شد و پنج دقیقه بعد آزمون اضطراب انجام گرفت.

نتایج

آزمایش اول: اثر مکامیلامین بر روی رفتار اضطرابی

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف مکامیلامین به ناحیه هپوکامپ پشتی به‌صورت معنی‌دار درصد زمان حضور در بازوی باز [P=۰/۰۲۲، ۳/۳۶ =F(۲۸،۳)] و درصد ورود به بازوی باز [P<۰/۰۰۰۱، ۷/۸۱ =F(۲۸،۳)] را کاهش می‌دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد [P=۰/۱۳۶، ۱/۹۶=F(۲۸،۳)]. این نتایج نشان‌دهنده اضطراب‌زا بودن مکامیلامین می‌باشد. به‌علاوه، آزمون مکمل توکی نشان داد که کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز و کاهش درصد ورود به بازوی باز در دوز (٤ میکروگرم بر موش) از نظر آماری معنی‌دار می‌باشند (نمودار شماره ۱).

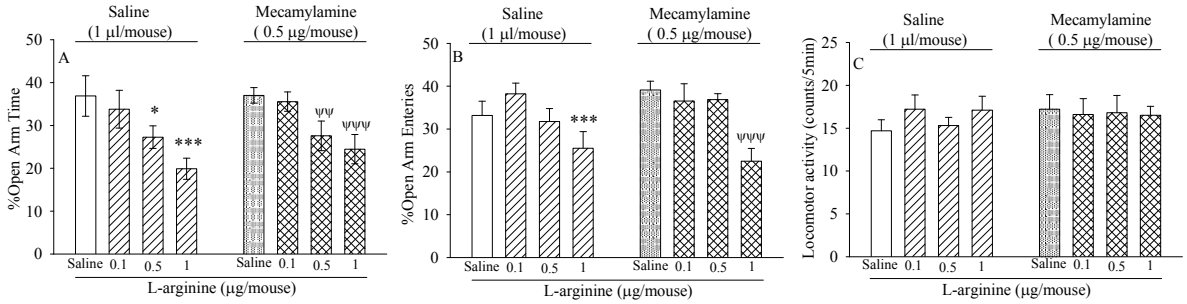


نمودار شماره ۱- اثر تزریق مکامیلامین بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز، درصد ورود حیوان به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. P<۰/۰۱**، P<۰/۰۵* در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین می‌باشد.

آزمایش دوم: اثر تزریق L - آرژنین به هیپوکامپ پشتی در حضور و غیاب مکامیلامین بر روی رفتار اضطرابی

نتایج تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که مکامیلامین به‌صورت معنی‌داری درصد ورود به بازوی باز [P<۰/۰۰۰۱، ۸/۵۹=F(۵٦،۱)] را تغییر می‌دهد، اما اثر معنی‌داری بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز [P=۰/٦۵۱، ۰/٤۳=F(۵٦،۱)] و فعالیت حرکتی حیوان [P=۰/۳٤۲، ۰/۷۲=F(۵٦،۱)] ندارد. آنالیز واریانس دوطرفه هم‌چنین مشخص نمود که مقادیر مختلف L- آرژنین به‌صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز [P<۰/۰۰۰۱، ۳۵/۰٤=F(۵٦،۳)] و درصد ورود به بازوی باز [P<۰/۰۰۰۱، ۳٦/٤۸=F(۵٦،۳)] را تغییر می‌دهد، اما اثر معنی‌داری بر روی فعالیت حرکتی [P=۰/٦۲۸، ۰/۲٦=F(۵٦،۳)] ندارد. در ادامه آنالیز واریانس دوطرفه مشخص نمود که بین فاکتور اول و دوم (مقادیر مختلف L - آرژنین×مکامیلامین) در زمینه درصد زمان حضور در بازوی باز [P=۰/۰۲٤، ۳/۱۸=F(۵٦،۳)] و درصد ورود به بازوی باز [P=۰/۰۲۱، ۳/۷٦ =F(۵٦،۳)] برهمکنش وجود دارد، ولی این دو فاکتور حتی همراه با هم نیز اثر معنی‌داری بر روی فعالیت حرکتی [P=۰/۲۹۱، ۰/۹۹=F(۵٦،۳)] حیوان ندارند. این نتایج نشان می‌دهد که بین این دو فاکتور در زمینه رفتار اضطرابی برهمکنش وجود دارد. نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق L- آرژنین به تنهایی به هیپوکامپ پشتی درصد زمان حضور در بازوی باز [P<۰/۰۰۰۱، ۷/۸۱=F(۲۸،۳)] و درصد ورو به بازوی باز [P<۰/۰۰۰۱، ۸/۵۸=F(۲۸،۳)] را کاهش می‌دهد، اما اثری بر روی فعالیت حرکتی حیوان [P=۰/٦٦۲، ۰/۵٤=F(۲۸،۳)] ندارد. هم‌چنین، نتایج آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان می‌دهد که در حضور مقدار کم مکامیلامین، اثر اضطراب‌زای L - آرژنین به‌شدت تقویت می‌شود و درصد زمان حضور در بازوی باز [P<۰/۰۰۰۱، ۸٦/۱=F(۲۸،۳)] و درصد ورو به بازوی باز [P<۰/۰۰۰۱، ۳٦/۳۳=F(۲۸،۳)] به‌شدت کاهش می‌یابد، بدون اینکه فعالیت حرکتی حیوان [P=۰/۹۹۲، ۰/۳۳=F(۲۸،۳)] تغییری نماید (نمودار شماره ۲).

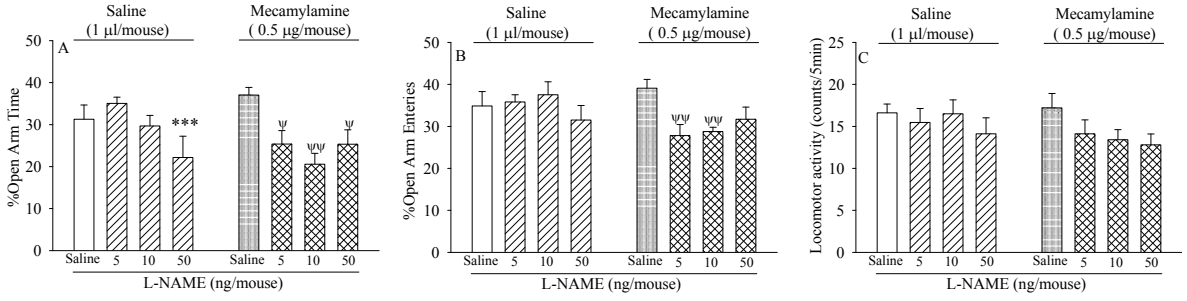
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]



نمودار شماره ۲- اثر تزریق L ـ آرژنین، پیش‌ساز نیتریک اکساید، در حضور و غیاب مکامیلامین بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز، درصد ورود حیوان به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. حیوان. $P<$۰/۰۰۱***، $P<$۰/۰۵* در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین و $P<$۰/۰۰۱ ΨΨΨ، $P<$۰/۰۱ ΨΨ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده مکامیلامین می‌باشد.

آزمایش سوم: اثر تزریق L-NAME به هیپوکامپ پشتی در حضور و غیاب مکامیلامین بر روی رفتار اضطرابی

نتایج تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که مکامیلامین اثر معنی‌داری بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز [P=۰/۱۴۹، F(۵۶،۱)=۱/۱۴]، درصد ورود به بازوی باز [P=۰/۲۱۸، F(۵۶،۱)=۱/۹۹] و فعالیت حرکتی حیوان [P=۰/۱۲۹، F(۵۶،۱)=۲/۲۶] ندارد. آنالیز واریانس دوطرفه هم-چنین مشخص نمود که مقادیر مختلف L-NAME به‌صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز [$P<$۰/۰۰۰۱، F(۵۶،۳)=۱۱/۲۸] را تغییر می‌دهد، اما اثر معنی‌داری بر روی درصد ورود به بازوی باز [P=۰/۱۳۲، F(۵۶،۳)= ۲/۴۴] و فعالیت حرکتی [P=۰/۱۶۴، F(۵۶،۳)=۱/۱۹] ندارد. در ادامه آنالیز واریانس دوطرفه مشخص نمود که بین فاکتور اول و دوم (مقادیر مختلف L-NAME×مکامیلامین) در زمینه درصد زمان حضور در بازوی باز [P=۰/۰۱۸، F(۵۶،۳)=۴/۸۷] و درصد ورود به بازوی باز [P=۰/۰۲۶، F(۵۶،۳)=۴/۴۷] برهمکنش وجود دارد، ولی این دو فاکتور حتی همراه با هم نیز اثر معنی‌داری بر روی فعالیت حرکتی [P=۰/۴۱۵، F(۵۶،۳)=۰/۹۹] حیوان ندارند. این نتایج نشان می‌دهند که بین این دو فاکتور در زمینه رفتار اضطرابی برهمکنش وجود دارد. نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق L-NAME به تنهایی به هیپوکامپ پشتی درصد زمان حضور در بازوی باز [$P<$۰/۰۰۰۱، F(۲۸،۳)=۱۰/۳۶] و درصد ورود به بازوی باز [P=۰/۰۴۸، F(۲۸،۳)=۲/۶۷] را کاهش می‌دهد، اما اثری بر روی فعالیت حرکتی حیوان [P=۰/۵۹، F(۲۸،۳)=۰/۶۳] ندارد. هم‌چنین، نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مکمل توکی نشان می‌دهد که در حضور مقدار کم مکامیلامین، اثر اضطراب‌زای L-NAME به شدت تقویت می‌شود و درصد زمان حضور در بازوی باز [P=۰/۰۰۲، F(۲۸،۳)=۶/۰۹] و درصد ورو به بازوی باز [P=۰/۰۰۵، F(۲۸،۳)=۵/۰۱] به شدت کاهش می‌یابد، بدون اینکه فعالیت حرکتی حیوان [P=۰/۱۷، F(۲۸،۳)=۱/۷۳] تغییری نماید (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳- اثر تزریق L-NAME، مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز، در حضور مکامیلامین بر روی درصد زمان حضور در بازوی باز، درصد ورود حیوان به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. $P<$۰/۰۰۱*** در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین و $P<$۰/۰۱ ΨΨ، $P<$۰/۰۵ Ψ در مقایسه با گروه دریافت کننده مکامیلامین می‌باشد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

بحث

در این مطالعه که در موش‌های کوچک آزمایشگاهی انجام شده است، برهمکنش مکامیلامین و سیستم نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی در زمینه رفتارهای اضطرابی با استفاده از ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع مورد بررسی قرار گرفته است. ماز به‌علاوه-ای شکل مرتفع یکی از آزمون‌های اضطرابی مرسوم در جوندگان می‌باشد که از آن می‌توان برای پی‌بردن به اثرات اضطرابی و ضد اضطرابی داروها استفاده کرد [۲۱،۲۰]. یافته‌های ما در این مطالعه نشان می‌دهند که تزریق مکامیلامین به داخل هیپوکامپ پشتی باعث کاهش زمان حضور در بازوی باز و کاهش درصد ورود به بازوی باز می‌شود، بدون اینکه بر روی فعالیت حرکتی حیوان تأثیری بگذارد. این یافته‌ها نشان‌دهنده اضطراب‌زا بودن مکامیلامین می‌باشد. هم‌چنین، می‌توان دریافت که از بین بردن تونوس استیل کولینی با آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی استیل کولین اضطراب‌زا می‌باشد که این یافته نشان‌دهنده اهمیت تونوس کولینرزیک در هیپوکامپ پشتی در جلوگیری از اضطراب در شرایط عادی و فیزیولوژیک می‌باشد. برخی مطالعات نشان می‌دهند قرار گرفتن سلول‌های هیپوکامپ در معرض مکامیلامین باعث کاهش رهایش استیل کولین می‌شود [۲۳،۲۲]. نکته جالب‌تری که تائید کننده نتایج ما می‌باشد این است که قرار گرفتن جاندار در شرایط استرس‌زا باعث کاهش رهایش استیل کولین در هیپوکامپ می‌شود و همین کاهش تونوس کولینرژیک هیپوکامپ باعث بروز علائم اضطراب می‌گردد [۱۳]. وجود اضطراب شدید در بیماران مبتلا به آلزایمر نیز هم‌سو با یافته ما می‌باشد، در این بیماران میزان استیل کولین در لوب پیشانی و هیپوکامپ کاهش می‌یابد، که همین از بین رفتن تونوس کولینرژیک در هیپوکامپ می‌تواند عامل اضطراب در این بیماران باشد [۷]. برخی از گزارشات حاکی از اهمیت سروتونین در میانجی‌گری اثرات اضطرابی مکامیلامین در هیپوکامپ می-باشند؛ در این مطالعات نشان داده شده است که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های سروتونینی می‌توانند اضطراب القاء شده با مکامیلامین را کاهش دهند، که این مشاهده همراه با شواهد دیگر حاکی از این است که مکامیلامین به‌واسطه افزایش رهایش سروتونین باعث القاء اضطراب می‌شود [۲٤]. نکته جالب‌تر اینکه نیکوتین و مکامیلامین با مکانیسم‌های مختلف هر دو رهایش سروتونین را در هیپوکامپ پشتی افزایش می‌دهند و به همین دلیل هر دو اضطراب‌زا می‌باشند [۲۵،۲٤]. با توجه به نقش تعدیل کننده‌ای که گیرنده‌های نیکوتینی در تنظیم رهایش پیامبرهای مختلف عصبی دارند، نباید نقش دیگر پیامبرهای عصبی را در میانجی‌گری اثرات اضطرابی داروهای نیکوتینی از نظر دور داشت. در این میان گلوتامات نقش ویژه‌ای دارد، این پیامبر عصبی که رهایش آن توسط داروهای نیکوتینی تعدیل می‌گردد، علاوه بر اینکه مستقیما رفتار اضطرابی را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲٦]، می‌تواند به‌واسطه فعال کردن گیرنده NMDA و افزایش تولید نیتریک اکساید نیز رفتار اضطرابی را تحت تاثیر قرار دهد [۱۸]. بنابراین، در بخش بعدی این مطالعه برهمکنش مکامیلامین با سیستم نیتریک اکساید در زمینه رفتار اضطرابی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که L- آرژنین و L-NAME هر دو اضطراب‌زا می‌باشند، اما نکته جالب توجه برهمکنش بین مکامیلامین با این داروهای نیتریک اکسایدی در زمینه رفتار اضطرابی می‌باشد. نتایج ما در این پژوهش مشخص نمود که دوز غیر موثر مکامیلامین که به تنهایی اثری بر روی رفتار اضطرابی ندارد، به‌شدت رفتار اضطرابی القاء شده با L- آرژنین و L-NAME را تشدید می‌نماید؛ به‌گونه‌ای که مقادیر کم این دارها که قبلا به‌تنهایی اثری بر روی رفتار اضطرابی نداشتند، در حضور دوز بی‌اثر مکامیلامین باعث القاء اضطراب می‌شوند. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه هم‌سو با مطالعه قبلی ما می‌باشد که نشان می‌دهد تزریق دوزهای بالای L - آرژنین به ناحیه هیپوکامپ پشتی در موش صحرایی باعث القاء اضطراب می‌شود [۲۸،۲۷]. گزارشاتی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد تزریق محیطی L- آرژنین در موش سوری اضطراب‌زا بوده [۲۹] و قادر است اثرات ضد اضطرابی دیازپام را تضعیف نماید [۳۰]. نتایج ما در این مطالعه هم‌چنین نشان می‌دهد که تزریق L-NAME باعث القاء اضطراب می‌گردد. نتایج ما در راستای مطالعات پیشینی است که نشان می‌دهند تزریق سیستمیک مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز باعث القاء اضطراب در مدل ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع می-شود [۲۸،۲۷]. این یافته هم‌چنین توسط مطالعاتی که نشان می-دهند، تزریق درون صفاقی NG- نیترو L - آرژنین (یک مهارکننده اختصاصی نیتریک اکساید سنتاز عصبی) باعث القاء اضطراب می-شود، حمایت می‌گردد [۳۱]. بر خلاف اکثر گزارشات فوق، مطالعاتی نیز وجود دارد که بیان کننده اثرات ضد اضطرابی مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز می‌باشند [۳۲]. نتایج متناقض به-دست آمده در مورد اثرات اضطرابی و ضد اضطرابی داروهای نیتریک اکساید می‌تواند نتیجه برهمکنش پیچیده نیتریک اکساید با پیامبرهای مختلف عصبی باشد. مطالعات نشان می‌دهد که نیتریک اکساید رهایش گلوتامات، استیل کولین، هیستامین، سروتونین، دوپامین و نور اپی‌نفرین را تغییر می‌دهد و اثر دوگانه بر روی برخی از آنها دارد؛ به‌عنوان نمونه نیتریک اکساید از یک‌سو رهایش گلوتامات را افزایش داده و از سوی دیگر گیرنده‌های NMDA را مهار می‌کند [۳۳،۲۱]. عملکرد دوگانه نیتریک اکساید بر روی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

رهایش گاما آمینو بوتیریک اسید و سروتونین نیز گزارش شده است. مطالعات نشان می‌دهند که این عملکرد دوگانه در مورد رهایش گاما آمینو بوتیریک اسید و سروتونین می‌تواند تحت تاثیر محل اثر نیتریک اکساید در مغز و غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها قرار بگیرد [۳٤]. با توجه به گزارشاتی که نشان‌دهنده اهمیت سیستم سروتونرژیک در میانجی‌گری رفتار اضطرابی القاء شده با مکامیلامین می‌باشند [۲٤]، این احتمال وجود دارد که تغییر رهایش سروتونین در پاسخ به داروهای نیتریک اکسایدی یکی از علل اصلی وجود برهمکنش بین این دو سیستم در زمینه رفتار اضطرابی باشد. اثر دوگانه نیتریک اکساید نیز بر روی سروتونین و برخی دیگر از پیامبرهای عصبی می‌تواند زمینه‌ساز پاسخ اضطرابی یکسان ایجاد شده با L- آرژنین و L-NAME در حضور و غیاب مکامیلامین باشد. از سوی دیگر پاسخ اضطرابی یکسانی که توسط آگونیست و آنتاگونیست نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی موش سوری مشاهده شده است، نشان‌دهنده نقش تعدیل‌کننده نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی در زمینه رفتار اضطرابی می‌باشد [۳۵]. نقش تعدیل‌کننده نیتریک اکساید در زمینه رفتارهای دیگر نظیر حافظه و یادگیری در مطالعات گذشته نشان داده شده است؛ برخی مطالعات نشان می‌دهند که تزریق آگونیست نیتریک اکساید به هیپوکامپ پشتی در مقادیر متوسط باعث تقویت حافظه می‌شود، در حالی‌که تزریق مقادیر بالای آن باعث تخریب حافظه می‌گردد [۳٦]. بنابراین، می‌توان گفت علت پاسخ یکسانی که توسط آگونیست و آنتاگونیست نیتریک اکساید در زمینه رفتار اضطرابی رخ داده است، می‌تواند نقش تعدیل‌کننده نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی و برهمکنش پیچیده بین نیتریک اکساید با پیامبرهای مختلف عصبی و بعضاً اثر دوگانه نیتریک اکساید بر روی برخی از آنها باشد [۱٤].

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت نه تنها مکامیلامین و داروهای نیتریک اکسایدی در هیپوکامپ پشتی باعث القاء اضطراب می‌شوند، که بین آنها در زمینه رفتار اضطرابی یک برهمکنش پیچیده وجود دارد؛ به‌گونه‌ای که دوز غیر موثر مکامیلامین اثر اضطراب‌زای L- آرژنین و L-NAME را به‌شدت تقویت می‌نماید. یافته‌های ما هم‌چنین نقش تعدیل‌کننده سیستم کولینرژیک و نیتریک اکساید در زمینه رفتار اضطرابی را تائید می‌کنند.

تشکر قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین آزمایشگاه گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

References:

[1] Zarrindast MR, Nasehi M, Piri M, Heidari N. Effects of cholinergic system of dorsal hippocampus of rats on MK-801 induced anxiolytic-like behavior. ***Neurosci Lett*** 2011; 505(2): 65-70.

[2] Piri M, Nasehi M, Asgariyan M, Zarrindast MR. Influence of nitric oxide agents in the dorsal hippocampus of mice on anxiogenic-like effect induced by histamine. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2012; 102(3): 391-9.

[3] Zarrindast MR, Nasehi M, Piri M, Bina P. Anxiety-like behavior induced by histaminergic agents can be prevented by cannabinoidergic WIN55,212-2 injected into the dorsal hippocampus in mice. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2010; 94(3): 387-96.

[4] Jouvenceau A, Billard JM, Lamour Y, Dutar P. Persistence of CA1 hippocampal LTP after selective cholinergic denervation. ***Neuroreport*** 1996; 7(4): 948-52.

[5] Raoufi N, Piri M, Moshfegh A, Shahin MS. Nicotine improves ethanol-induced impairment of memory: possible involvement of nitric oxide in the dorsal hippocampus of mice. ***Neuroscience*** 2012; 219: 82-91.

[6] Piri M, Nasehi M, Shahab Z, Zarrindast MR. The effects of nicotine on nitric oxide induced anxiogenic-like behaviors in the dorsal hippocampus. ***Neurosci Lett*** 2012; 528(2): 93-8.

[7] Weiner MF, Koss E, Wild KV, Folks DG, Tariot P, Luszczynska H, et al. Measures of psychiatric symptoms in Alzheimer patients: a review. ***Alzheimer Dis Assoc Disord*** 1996; 10(1): 20-30.

[8] Chae Y, Yeom M, Han JH, Park HJ, Hahm DH, Shim I, et al. Effect of acupuncture on anxiety-like behavior during nicotine withdrawal and relevant mechanisms. ***Neurosci Lett*** 2008; 430(2): 98-102.

[9] O'Neill AB, Brioni JD. Benzodiazepine receptor mediation of the anxiolytic-like effect of (-)-nicotine in mice. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1994; 49(3): 755-7.

[10] Zarrindast MR, Piri M, Nasehi M, Ebrahimi-Ghiri M. Nitric oxide in the nucleus accumbens is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2012; 101(1): 166-73.

[11] Piri M, Zarrindast MR. Nitric oxide in the ventral tegmental area is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. ***Neuroscience*** 2011; 175: 154-61.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

[12] Brioni JD, O'Neill AB, Kim DJ, Decker MW. Nicotinic receptor agonists exhibit anxiolytic-like effects on the elevated plus-maze test. ***Eur J Pharmacol*** 1993; 238(1): 1-8.
[13] File SE, Kenny PJ, Ouagazzal AM. Bimodal modulation by nicotine of anxiety in the social interaction test: role of the dorsal hippocampus. ***Behav Neurosci*** 1998; 112(6): 1423-9.
[14] Roohbakhsh A, Moghaddam AH, Massoudi R, Zarrindast MR. Role of dorsal hippocampal cannabinoid receptors and nitric oxide in anxiety like behaviours in rats using the elevated plus-maze test. ***Clin Exp Pharmacol Physiol*** 2007; 34(3): 223-9.
[15] Zarrindast MR, Shendy MM, Ahmadi S. Nitric oxide modulates state dependency induced by lithium in an inhibitory avoidance task in mice. ***Behav Pharmacol*** 2007; 18(4): 289-95.
[16] Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. ***Physiol Behav*** 2010; 100(4): 297-304.
[17] Nasehi M, Piri M, Abdollahian M, Zarrindast MR. Involvement of nitrergic system of CA1in harmane induced learning and memory deficits. ***Physiol Behav*** 2010; 109: 23-32.
[18] Shim I, Kim HT, Kim YH, Chun BG, Hahm DH, Lee EH, et al. Role of nitric oxide synthase inhibitors and NMDA receptor antagonist in nicotine-induced behavioral sensitization in the rat. ***Eur J Pharmacol*** 2002; 443(1-3): 119-24.
[19] Paxinos G, Franklin, KBJ. The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. 2nd ed Academic Press; 2001.
[20] Jafari K, Oryan S, Pakpour B, Navaeian M, Piri M. Influence of dorsal hippocampal GABA receptors on state-dependent learning induced by CB1 cannabinoid receptors agonist in mice. ***Feyz*** 2012; 16(4): 288-96. [in Persian]
[21] Piri M, Nasehi M, Shahin MS, Zarrindast M. The interaction between harmane and nicotinic receptors of dorsal hippocampus in a hole-board test of anxiety in mice. ***Feyz*** 2010; 14(4): 388-97. [in Persian]
[22] Hiramatsu M, Miwa M, Hashimoto K, Kawai S, Nomura N. Nociceptin/orphanin FQ reverses mecamylamine-induced learning and memory impairment as well as decrease in hippocampal acetylcholine release in the rat. ***Brain Res*** 2008; 1195: 96-103.
[23] Nasehi M, Piri M, Sharifi S, Shahin M-S, zarrindast MR. Effects of mecamylamine (a nicotinic receptor antagonist) on harman induced-amnesia in an inhibitory avoidance test. ***Koomesh*** 2011; 13(1): 100-7. [in Persian]
[24] File SE, Kenny PJ, Cheeta S. The role of the dorsal hippocampal serotonergic and cholinergic systems in the modulation of anxiety. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2000; 66(1): 65-72.
[25] Azizbeigi R, Piri M. Nicotine restores morphine-induced amnesia via activation of dopamine D1 receptors in the nucleus accumbens. ***Feyz*** 2012; 16(5): 445-53. [in Persian]
[26] O'Tuathaigh CMP, O'Connor AM, O'Sullivan GJ, Lai D, Harvey R, Croke DT, et al. Disruption to social dyadic interactions but not emotional/anxiety-related behaviour in mice with heterozygous knockout'of the schizophrenia risk gene neuregulin-1. ***Progress in Neuro-Psychopharmacol Biological Psychiatry*** 2008; 32(2): 462-6.
[27] Asgarian M, Piri M, Benanj M, Shahin MS, Zarindast MR. Role of nitric oxide system of dorsal hippocampus in the histamine-induced anxiogenic-like response. ***Kowsar Med J*** 2011; 16(3): 137-43.
[28] Shahab Z, Bananej M, Piri M, Shahin M-S, Zarrindast MR. Influence of nicotine and nitric oxide on anxiety behavior in mice. ***Pejouhesh*** 2011; 35(2): 106-13.
[29] Kurt M, Bilge SS, Aksoz E, Kukula O, Celik S, Kesim Y. Effect of sildenafil on anxiety in the plus-maze test in mice. ***Pol J Pharmacol*** 2004; 56(3): 353-7.
[30] Volke V, Soosaar A, Koks S, Vasar E, Mannisto PT. L-Arginine abolishes the anxiolytic-like effect of diazepam in the elevated plus-maze test in rats. ***Eur J Pharmacol*** 1998; 351(3): 287-90.
[31] Monzon ME, Varas MM, De Barioglio SR. Anxiogenesis induced by nitric oxide synthase inhibition and anxiolytic effect of melanin-concentrating hormone (MCH) in rat brain. ***Peptides*** 2001; 22(7): 1043-7.
[32] Forestiero D, Manfrim CM, Guimaraes FS, de Oliveira RM. Anxiolytic-like effects induced by nitric oxide synthase inhibitors microinjected into the medial amygdala of rats. ***Psychopharmacology (Berl)*** 2006; 184(2): 166-72.
[33] Mahmoudi G, Piri M, Pourmote'abbed A, Oryan S, Zarrindast MR. Effect of muscarinic and NMDA receptors of ventral tegmental area interaction on inhibitory avoidance memory consolidation. ***Kowsar Med J*** 2010; 15(2): 77-82.
[34] Trabace L, Kendrick KM. Nitric oxide can differentially modulate striatal neurotransmitter concentrations via soluble guanylate cyclase and peroxynitrite formation. ***J Neurochem*** 2000; 75(4): 1664-74.
[35] Moreira FA, Molchanov ML, Guimaraes FS. Ionotropic glutamate-receptor antagonists inhibit the aversive effects of nitric oxide donor injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. ***Psychopharmacology (Berl)*** 2004; 171(2): 199-203.
[36] Huang AM, Lee EH. Role of hippocampal nitric oxide in memory retention in rats. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1995; 50(3): 327-32.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]