فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۲۴، جلد ۷، شماره ۱، زمستان ۹۲، صفحه ۱ تا ۱۱

بررسی اثر آگونیست 5-HT1 سروتونین و گیرنده CB1 کانابینوئیدی(ACPA) آمیگدال مرکزی بر رفتارهای شبه اضطرابی در مدل ماز بعلاوه ای شکل در موش رت نژاد ویستار

صبا طاهری[۱]، شهربانو عریان[۲]، **محمد رضا زرین دست**[۳]، آمنه رضایوف[۴]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، تهران. ایران.

۲-استاد دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران. ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران، دکتری فارماکولوژی، گروه زیست شناسی، تهران. ایران.**zarinmr@ams.ac.ir**

٤-دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی دانشگاه تهران، تهران. ایران.

تاریخ دریافت:۹۲/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش:۹۲/۱۱/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: اضطراب، پاسخ یک موجود زنده به یک عامل تهدید کننده احتمالی است که می تواند هوموستاز آن را دچار اختلال نماید. این مطالعه با هدف بررسی اثر سیستم کانابینرژیک بر اضطراب درون آمیگدال مرکزی و تداخل آن با سیستم سروتونرژیک بر اضطراب در روش ماز بعلاوه مرتفع (EPM) انجام شد.

روش کار: به موش‌های کانول‌گذاری شده پس از یک هفته استراحت دوزهای مختلف آراشیدونیل سیکلوپروپیل آمید (ACPA) و آگونیست انتخابی گیرنده ۱ سروتونرژیک HT1- 5 به نام تجاری (CP94253 هیدروکلراید) به صورت داخل آمیگدال تجویز شد. درصد زمان حضور در بازوهای باز(٪OAT) و درصد دفعات ورود به بازوهای باز (٪OAE) و فعالیت حرکتی اندازه‌گیری گردید.

یافته ها: نتایج نشان داد که تجویز ACPA و تجویز دوزهای بالای آگونیست گیرنده 5-HT1 سروتونرژیک بر رفتارهای اضطرابی اثری ندارد. ولی تجویز ACPA داخل آمیگدال همراه با آگونیست گیرنده 5-HT1 سروتونرژیک اثر ضداضطرابی را نشان داده است.

نتیجه گیری: گیرنده های پیش سیناپسی کانابینوئیدی CB1 منجر به مهارترشح بسیاری از انتقال دهنده های عصبی، مانند سروتونین می شود و به نظر می رسد که که آگونیست سروتونینی توانسته جایگزین نوروترانسمیترهای مهار شده توسط ACPA باشد.

واژه های کلیدی: ACPA، گیرنده سروتونرژیک 5-HT1، ماز بعلاوه مرتفع، موش صحرائی رت.

مقدمه

اضطراب یک علامت هشدار دهنده است که خبر از احتمال خطری قریب الوقوع می دهد و موجود را برای مقابله با تهدید آماده می کند (۵). اضطراب عبارتست از یک احساس مبهم ترس، وحشت از خطری با منشا ناشناخته که بر فرد چیره می‌گردد. تعریف اضطراب و ترس از یک‌دیگر بسیار متفاوت هستند طبق تعریف Barlow در سال ۲۰۰۲ اضطراب جهت دهندهٔ حالت رفتاری آتی جاندار در رابطه با حوادث و رخدادهای ناخوشایند قریب‌الوقوع می‌باشد و ترس یک پاسخ هشداری بر خطر موجود و یا قریب‌الوقوع است که احساس شده است(۱۰). از دیدگاه فیزیولوژیک، اضطراب و استرس واکنش‌های پیچیده‌ای در ارگانیسم هستند که به دنبال آبشاری از پیامدهای بیوشیمیایی و اندوکرینی و توسط عوامل استرس‌زا در نتیجه رفتارهای کوتاه مدت و بلند مدت القا می‌گردند(۲۶).

کانابینوئیدها دسته ای از داروهای موثر بر سیستم CNS هستند که اثرات فارماکولوژیک گسترده ای را در انسان و سایر پستانداران ایجاد می کنند. تاکنون دو نوع

گیرنده CB1 و CB2 برای کانابینوئیدها شناسایی شده است. گیرنده های CB1 بیشتر در ناحیه مرکزی مشاهده می شوند و بسیاری از اثرات مرکزی کانابینوئیدها با واسطه این گیرنده ها بروز می‌کند(۱۴). گیرنده های CB1 به طور وسیعی در کورتکس، بازال گانگلیا، هیپوکمپ و آمیگدال توزیع شده و اعمال فیزیولوژیک و رفتاری کانابینوئیدها را وساطت می کنند(۳۸) و خانواده گیرنده های جفت شده با G-پروتئین می باشند(۲۳). مشخص شده که کانابینوئیدها در حیوانات آزمایشگاهی هر دو اثر اضطراب‌زا و ضد اضطراب را اعمال می‌کنند، در مقابل آنتاگونیست‌های گیرنده کانابینوئیدی اثر اضطرب‌زا اعمال می نمایند(۱۲). با توجه به این مشاهده، موش‌های فاقد گیرنده CB1 نیز علائم اضطراب را نشان می دهند(۳۷). پاره ای از مطالعات نیز پاسخ اضطرابی را در ادامه تجویز لیگاندهای کانابینوئیدی گزارش نموده‌اند(۳۰). دوزهای پائین کانابینوئیدها معمولاً اثر ضد اضطرابی دارند، این در حالی است که دوزهای بالاتر اثر برعکس ایجاد می کنند(۲۳). چنین اثرات بحث انگیزی در مورد SR141716A که یک آنتاگونیست اختصاصی گیرنده CB1 می باشد گزارش شده است. از تجویز سیستمیک SR141716A در مدل اضطرابی Elevated Plus Mase هم اثر اضطراب‌زا (۴۰، ۳۹) و ضداضطراب (۴۱) مشاهده شده است. اخیراً گیرنده های کانابینوئیدی جدیدی موسوم به CB3 نیز در سیستم عصبی گزارش شده است. گزارشات در زمینه نقش کانابینوئیدها در تعدیل اضطراب بسیار متناقض می باشند. برخی بیان‌گر اثر ضد اضطراب این ترکیبات می باشند، در حالی که برخی دیگر اثر اضطراب زای آن‌ها را نشان داده اند(۳۵). سروتونین مغزی نقش عمده‌ای در فرآیندهای فیزیولوژیکی و شرایط پاتولوژیکی دارد. انتقال عصبی سروتونین در تنظیم حالات(mood)، کنترل هیجان(impulse) ، خواب، تغذیه، تحریک جنسی(libido) ، اعمال شناختی (cognitive functions) ، مثل یادگیری و حافظه نقش دارد. علاوه بر این، سروتونین در تنظیم اضطراب و ترس، خودکشی(suicidal) و سایر فعالیت های تند و خشن نقش دارد. تمامی این اعمال با گیرنده های سروتونینی انجام می شود. گیرنده 5-HT1 نقش مهمی در ایجاد اختلالات اضطرابی دارد، زیرا بخشی از آگونیست های این گیرنده به صورت ضد اضطراب عمل می کنند(۴). مطالعات نشان می دهند که کاهش سروتونین مسئول بروز اثر ضد اضطرابی برخی از داروهای ضد اضطراب است. تغییر مستقیم غلظت سروتونین با تجویز داروهای آگونیست و آنتاگونیست بر رفتار تاثیر گذار خواهد بود. آنتاگونیست های سروتونینی مثل متی سرژاید اثر ضد اضطرابی برابر با کلردیازپوکساید دارد. حداقل دو نوع گیرنده سروتونینی در بروز اثرات ضد اضطرابی نقش دارند که یکی از گیرنده ها،گیرنده‌ی 5- HT1A که به وفور در هیپوکامپ، سپتوم، آمیگدال و هسته رافه یافت می شوند (۲۲). گزارش شده است که طیف وسیعی از عملکردهای شناختی از جمله احساسات، پاداش، یادگیری، حافظه، توجه و ادراک با بادامه مغز در ارتباط است(۳). گیرنده های هر دو دسته داروئی مکانیسم انتقال پیام داخل سلولی مشابهی دارند، که از طریق فعال سازی پروتئین های G1 موجب کاهش cAMP می شوند(۱۹). آمیگدال نقش کلیدی در کنترل واکنش‌های اتونومیک نوراندوکرینی و رفتاری مرتبط با اضطراب دارد(۴۳). به طور قطع آمیگدال یک ناحیه ضروری برای کنترل پدیده رفتار اضطرابی می-باشد(۱۷). علاوه بر این نقش نورون های موجود در آمیگدال در ارتباط با اضطراب به اثبات رسیده است(۳۱). آمیگدال مرکزی رفتارها و تغییرات در

عملکرد هیپوکامپ مرتبط با استرس و حافظه عاطفی را آشکار می سازد(۳۳). بیان فراوان گیرنده‌های کانابینوئید در آمیگدال و مشارکت سیستم اندوکانابینوئیدی آمیگدال در تنظیم فرآیندهای حافظه پیشنهاد شده است(۲۰). آشکار شدن نقش آمیگدال قاعده‌ای- جانبی در کنترل ترس و اضطراب نشان دهنده وجود چرخه عصبی مرتبط با رفتارهای اضطرابی در آمیگدال است. به نظر می‌رسد که ساختمان های مغزی متفاوتی در تنظیم انواع متفاوت اضطراب دخیل باشند. آمیگدال یکی از مهم‌ترین مناطق در تنظیم اضطراب است (۲۹). شواهد آزمایشگاهی بیان‌گر این امر هستند که آمیگدال نقش کلیدی در هماهنگی و ظهور ترس و اضطراب در انسان و چندین گونه از حیوانات، از جمله موش صحرائی دارد. اثر سیستم کانابینرژیک بر اضطراب در آمیگدال مرکزی، و تداخل آن با سیستم سروتونرژیک (تجویز داخل آمیگدال) تا کنون مورد بررسی قرار نگرفته است. بر پایه یافته های مذکور، هدف از این مطالعه بررسی تنظیم اثر ضد اضطرابی کانابینوئید ها توسط سیستم سروتونرژیک است.

مواد و روش ها

حیوانات

در این مطالعه از موش های صحرائی نر نژاد ویستار (دانشکده فارماکولوژی دانشگاه تهران، تهران، ایران) با وزن حدود ۲۳۰ تا ۲۵۰ گرم در شروع استفاده شد. حیوانات در اتاق مخصوص حیوانات (با دمای ۳±۲۲ سانتی‌گراد) نگهداری شدند. در هر قفس چهار حیوان نگهداری شد که چرخه نور ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی (۷:۰۰ تا ۱۹:۰۰) به همراه آب و غذای کافی برای آن‌ها رعایت شد. این حیوانات برای مدت حداقل ۱ هفته پیش از آغاز آزمایشات در اتاق خصوص نگهداری شدند و تست در طی فاز روشنائی انجام گرفت. هر حیوان تنها یک بار در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت و پروتکل توسط کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تصویب قرار گرفت.

داروها

داروهای مورد استفاده در این آزمایش عبارتند از:
5-propoxy-3-(1,2,3,6-tetrahydro-4-pyridinyl)-1H-pyrrolo[3,2-b] pyridine hydrochloride (CP 94253; Tocris,UK) و ACPA (Tocris, UK)

ACPA یک آگونیست انتخابی قوی گیرنده کانابینوئیدی CB1 است، که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته است. ACPA در اتانول خالص، امولفور و سالین ۰/۹ ٪ به نسبت ۱:۱:۱۸ و CP94253 هیدروکلراید در سالین ۰/۹ ٪ به نسبت ۱:۹ حل شد. داروهای ذکر شده در آمیگدال مرکزی تزریق شدند.

جراحی

حیوانات توسط کتامین هیدروکراید(۵۰ mg/kg) و زایلوزین(۴ mg/kg) بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکس(stoelting (Stoelting Co., Illinois, USA) قرار داده شدند. یک کانال راهنمای استیل (21 gauge, Supa; Osve, Tehran, Iran) طبق مختصات آمیگدال مرکزی در اطلس پاکسینوس، در دو آمیگدال مرکزی چپ و راست کاشته شدند. مختصات آمیگدال مرکزی در اطلس پاکسینوس بدین شرح است:- mm ۱/۷ تا -۱/۹ (بر اساس وزن بدن) به سمت جلوی برگما، -mm ۳/۷تا ±۳/۲ در دوسمت خط میانی و -۶/۴ mm تا -۵/۴ در عمق از استخوان جمجمه. سپس این کانال‌ها توسط سیمان دندانپزشکی در استخوان جمجمه ثابت شدند. و آن‌گاه مدت ۵ روز جهت بهبود جراحی به موش‌ها زمان داده وسپس از تست گرفته شد. تزریق داخل آمیگدال توسط یک کانال داخلی که از سرنگ مخصوص دندانپزشکی(27- gauge, Supa, Iran) تهیه شد صورت گرفت. بدین صورت که

۱ mm از کانال راهنما بلندتر در نظر گرفته شد و لذا در ۱mm پائین تر از آن تزریق صورت می گرفت. این سرنگ توسط یک لوله پلی اتیلنی به یک سرنگ همیلتون ۲ µl متصل شد و مقدار ۰/۵ µl از مایع در هریک از دو طرف (آمیگدال راست و چپ) تزریق گردید (مجموعاً ۱ µl). هر یک از این دو تزریق ۶۰ ثانیه طول کشید. این سرنگ‌ها کمی بیش از ۶۰ ثانیه در آمیگدال مرکزی نگه داشته می شدند تا دارو به خوبی وارد شود و از خارج شدن دارو پیشگیری شود. این مراحل بر اساس روشی که قبلاً مورد استفاده قرار می گرفته انجام شد(۳۲). تست نیز ۵ دقیقه پس از تزریق داخل آمیگدال صورت گرفت. در پایان مطالعه، µl/rat ۱ محلول متیلن بلو داخل آمیگدال تزریق گردید و با برش مغزی صحت تزریق در آمیگدال مرکزی تائید می‌شد.

تست رفتاری (Elevated Plus Maze)

Elevated Plus Maze یک ماز چوبی به شکل به علاوه است که بر چهار پایه استوار است. دو تا از بازوها فاقد دیواره جانبی و انتهائی هستند (بازوهای باز ۱۰cm ×۵۰)، دو بازوی دیگر دارای دو دیواره جانبی و یک دیواره انتهائی هستند ولی سقف آن باز است (بازوهای بسته ۴۰×۱۰×۵۰) (۲۹). در محل برخورد این چهار بازو یک صفحه مربع شکل به ابعاد ۱۰ ×۱۰ قرار دارد. ارتفاع ماز از زمین ۵۰ cm است. پیش از ورود به داخل ماز، حیوان به مدت۵ دقیقه در یک جعبه چوبی به ابعاد ۵۰×۱۰۵۰×۳۵ قرار داده می شود. تست حیوان در Elevated Plus Maze ۵ روز پس از کانال گذاری گرفته شد. هر حیوان به تنهائی در مرکز Elevated Plus Maze به صورتی گذاشته می شود که صورت حیوان به سمت بازوی باز باشد و ۵ دقیقه در ماز به صورت آزاد قرار گیرد. تمام تحرکات حیوان در ۵ دقیقه بر Elevated Plus Maze فیلم برداری شد و تعداد دفعات داخل شدن حیوان به بازوهای باز، بازوهای بسته و مجموع زمان صرف شده در بازوهای باز و هم چنین مجموع زمان‌های صرف شده در بازوی بسته اندازه گیری می شود. عبور چهار دست و پای حیوان از خط ورودی بازوها ورود محسوب می گردد. درصد ورود به بازوی باز و ورود به بازوی بسته که ملاک اضطراب است به این صورت محاسبه می گردد: (الف) (۱۰۰× نسبت ورود به بازوی باز به مجموع ورود به بازوهای باز وبسته)=(OAE٪)، (ب) (۱۰۰× نسبت زمان صرف شده در بازوهای باز به مجموع زمان صرف شده در بازوهای باز و بسته)= (OAT٪). مجموع ورود به بازوهای باز و بسته نیز LA(Locomotor Activity) نامیده می شود.

آزمایشات

آزمایش اول: در این آزمایش، اثر ACPA به تنهائی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ۵ گروه حیوان به کار گرفته شدند. حیوانات نرمال سالین یا ACPA (ng/rat ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲) داخل آمیگدال دریافت کردند و تست ۵دقیقه پس از تزریق داخل آمیگدال صورت گرفت.

آزمایش دوم: در آزمایش دوم اثر دوزهای مختلف آگونیست 5– HT1 سرتونرژیک به تنهایی بررسی شد. برای این منظور ۵ گروه حیوان به کار گرفته شدند. چهار گروه از حیوانات نرمال سالین یا CP94253 هیدروکلراید (ng/ kg rat ۰/۰۵، ۰/۵، ۵ و ۵۰) داخل آمیگدال دریافت کردند و تست ۵ دقیقه پس از تزریق داخل آمیگدال صورت گرفت.

آزمایش سوم: در آزمایش دیگر اثر ACPA به همراه بررسی شد. حیوانات ۵دقیقه قبل از تزریق داخل آمیگدال CP94253 هیدروکلراید (۵۰ng/kg) نرمال سالین یا دوزهای مختلف ACPA (ng/ kg rat ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲) دریافت کردند و تست ۵ دقیقه پس از تزریق داخل آمیگدال صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

افزایش زمان حضور در بازوهای باز و تعداد ورود به بازوهای باز معیار کاهش اضطراب در نظر گرفته شد. محاسبات از طریق انجام روش آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه گروه ها با گروه کنترل آن‌ها و واریانس دو طرفه برای مقایسه گروه ها قبل و بعد از تزریق داروی دوم با یک‌دیگر جهت ارزیابی تداخل آن‌ها با هم به کمک نرم افزار SPSS صورت گرفت. آنالیز به کمک Post hoc LSD ادامه یافت. از لحاظ آماری P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار فرض شد.

نتایج

اثر تزریق داخل آمیگدال ACPA به تنهایی بر اضطراب در روش Elevated Plus Maze

نمودار ۱ نشان دهنده اثرات ACPA داخل آمیگدال به تنهایی بر پارامترهای اضطرابی در روش Elevated Plus Maze است. ANOVA یک طرفه نشان داد که تزریق داخل آمیگدال ACPA باعث افزایش OAT ٪ در دوز ng/kg ۲ (P<۰/۰۵، F(۳۵،۴) =۹/۵۸) داشته ولی بر OAE ٪ (P>۰/۰۵، F(۳۵،۴) = ۱/۶۵) و فعالیت حرکتی (P>۰/۰۵، F(۳۵،۴) = ۲/۶۲) تاثیر معنی داری نداشته است که نشان دهنده اثر اضطرابی زدایی دارو در دوز استفاده شده در گروه های مورد مطالعه است.

اثر تزریق داخل آمیگدال CP94253 هیدروکلراید به تنهایی بر اضطراب در روش Elevated Plus Maze

نمودار ۲ نشان دهنده اثرات CP94253 هیدروکلراید داخل آمیگدال به تنهائی بر پارامترهای اضطرابی در روش Elevated Plus Maze می باشد. ANOVA یک طرفه نشان داد که تزریق داخل آمیگدال CP94253 هیدروکلراید به تنهائی در هیچ یک از دوزها تغییر معنی داری در OAT ٪ (P>0/۰۵، F(۳۵،۴) =۳/۶۳۵) و OAE ٪ (P>۰/۰۵، F(۳۵،۴) = ۰/ ۶۲۵) و در فعالیت حرکتی حیوانات شد LA (P<۰/۰۱، ۳/۰۹۶ = F(۳۵،۴)) ایجاد نکرد که نشان دهنده عدم تاثیر آن بر اضطراب در گروه های مورد مطالعه است.

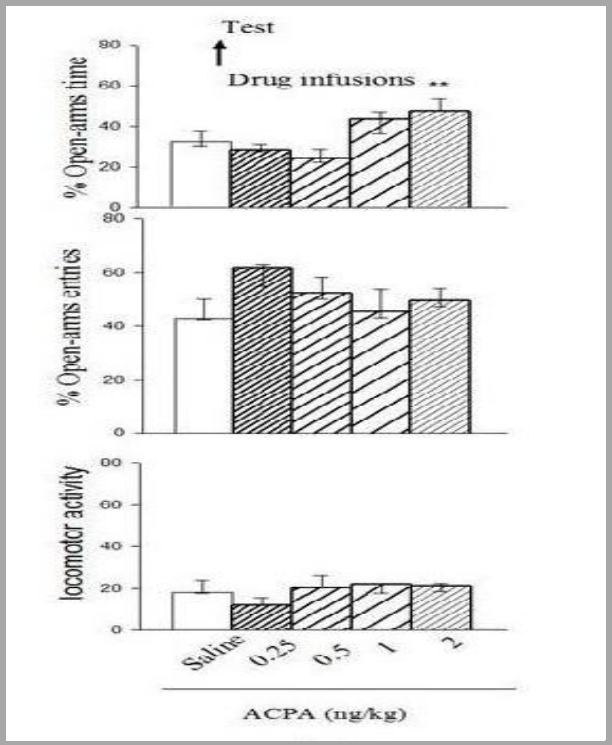
اثر تزریق داخل آمیگدال ACPA به تنهایی و درحضور CP94253 هیدروکلراید بر اضطراب در روش Elevated Plus Maze

نمودار۳ نشان دهنده اثرات ACPA داخل آمیگدال به تنهائی بر پارامترهای اضطرابی در روش Elevated Plus Maze می باشد. ANOVA دو طرفه نشان داد که تجویز CP94253 هیدروکلراید (۵۰ ng/ kg rat) به همراه ACPA (ng/rat ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و۲) تغییر معنی داری درOAT٪ (P>۰/۰۵، F(۳۵،۴) = ۳/۶۴) و OAE ٪(P>۰/۰۵، F(۳۵،۴) =۰/۶۲۵) ایجاد نکرده اما موجب کاهش معنی دار در LA (P<۰/۰۱، F(۳۵،۴) =۰/۰۰۰۵) در دوزهای (۰/۲۵ ng/ kg rat و ۱) می شود. این نتایج نشان می‌دهد که تزریق داخل آمیگدال دوز غیرموثر CP94253 توانسته پاسخ اضطراب‌زدایی ACPA را سرکوب کند.

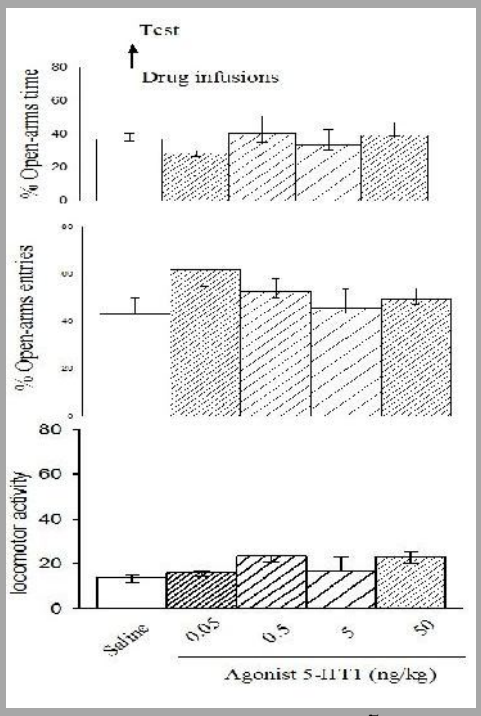
بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه اثر بررسی اثر سیستم کانابینرژیک بر اضطراب در آمیگدال مرکزی، و تداخل آن با سیستم سروتونرژیک مورد بررسی قرار گرفته است. برای تست اضطراب از مدل ماز بعلاوه مرتفع که یک مدل پذیرفته شده برای بررسی رفتارهای اضطرابی است (۳۲)، استفاده شده است. نتایج مطالعات ما نشان می-دهد که تزریق پیش از تست ACPA تاثیری بر روی رفتارهای اضطرابی ندارد. هسته مرکزی آمیگدال، که منطقه مهمی در ایجاد و تعدیل اضطراب به شمار می رود، پیام‌هائی را از بازولترال آمیگدال دریافت می کند و خود نیز این پیام‌ها را به مناطق هدف پائین‌تر که واسطه بسیاری از رفتارهای اتونومیک و نشان داد که تزریق داخل آمیگدال ACPA که آگونیست انتخابی گیرنده CB1 است، بدون هیچ‌گونه الکتروفیزیولوژیک

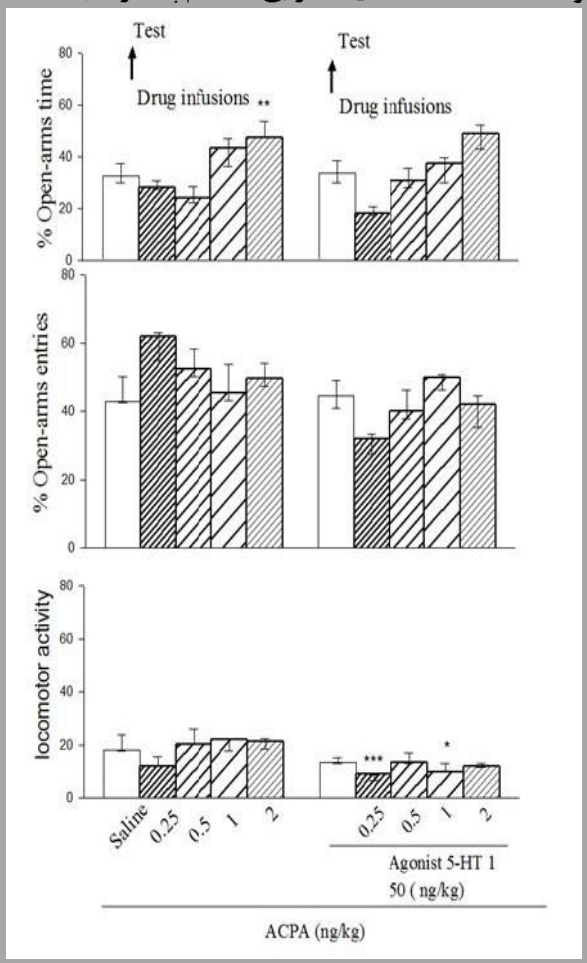
حاصل از ترس و اضطراب هستند می رساند(۳۶). اطلاعات بدست آمده در این پژوهش اثری بر فعالیت حرکتی، اثر معنی داری بر اضطراب ایجاد نکرده است. اثر ضد اضطراب ACPA به کمک افزایش معنی دار درصد زمان حضور در بازوهای باز و هم‌چنین درصد تعداد ورود به بازوهای باز، مشخص می‌شود(۲۸). چندین مطالعه نیز نتایج ما را تایید می کنند و نشان دهنده اثرات ضد اضطراب آگونیست های گیرنده کانابینوئیدی می باشند. دوزهای پائین کانابینول(۳۴، ۷، ۶) در مدل‌های اضطرابی مختلف اثر ضد اضطراب نشان داده اند و برخی مطالعات نیز بر خلاف نتایج ما را نشان می دهند، مثلاً گزارشاتی در دست است که نشان می‌دهد Δ9- تتراهیدروکانابینول (Δ9-THC) که یک آگونیست غیر انتخابی کانابینوئیدی است، آناندامید که یک لیگاند اندوژن کانابینوئیدی است(۴۴)، موجب افزایش حضور موش صحرائی و سوری در بازوهای بسته می شود که نشان دهنده اثر اضطراب زای آن می باشد.هم‌چنین تجویز داخل صفاقی CP55,940 که یک آگونیست گیرنده کانابینوئیدی است، اثر اضطراب زا ایجاد می کند(۴۰). علاوه بر این در مطالعات انسانی نیز اضطراب از اثرات ناخواسته مصرف کانابینوئیدها گزارش شده که یکی از علل قطع مصرف آن‌ها به شمار می رود(۱۵). تفاوت گونه ها نیز در نوع اثر کانابینوئید ها بر رفتار حیوان اهمیت دارند. مثلاً در موش‌های صحرائی نژاد Lewis، Δ9-THC اثر پاداشی دارد درحالی‌که در بقیه گونه های موش‌های صحرائی، از قبیل Wistar اثر اضطراب زا دارد(۲۱).



نمودار۱-اثرات ACPA داخل آمیگدال به تنهایی بر پارامترهای اضطرابی که نشان دهنده اثرات ضد اضطرابی در دوز ۲ ng/kg در پارامتر OAT ٪ (P<۰/۰۵) می باشد.**



نمودار ۲ -اثرات CP94253 هیدروکلراید داخل آمیگدال که به تنهایی بر پارامترهای اضطرابی نشان دهنده بی اثر بودن دارو در دوزهای مورد استفاده در رفتارهای اضطرابی در تمام پارامترها (P>۰/۰۵) می باشد.



نمودار۳- اثراتACPA در حضور CP94253 هیدروکلراید در داخل آمیگدال بر پارامترهای اضطرابی که نشان دهنده اثرات ضد اضطرابی داروها در دوزهای مورد استفاده در رفتارهای اضطرابی در پارامتر LA P<۰/۰۱ ** و P<۰/۰۵ *) می باشد.

همچنین گزارش شده که توزیع گیرنده‌های کانابینوئیدی در مغز موش‌های صحرائی نژاد Wistar و Lewis متفاوت می باشد(۲). با توجه به این گزارشات به نظر می رسد که دوز آگونیست کانابینوئیدی و گونه حیوان آزمایشگاهی نقش مهمی در تغییر وضعیت اضطرابی توسط کانابینوئیدها دارد. در بخش دیگر این مطالعه مشخص شد که تزریق آگونیست 5-HT1 گیرنده سروتونرژیک تاثیری بر رفتارهای اضطرابی در گروه‌های مورد مطالعه نشان نداده است. به دنبال مطالعات ما مطالعات متعددی نشان داده اند که افزایش غلظت 5-HT در مغز اضطراب را افزایش می دهد و کاهش سطوح 5-HT اضطراب را کاهش می دهد (۲۴). 5 -HT نقش مهمی در توسعه و تداوم اختلالات اضطرابی دارد(۴۴). مطالعات نشان می دهد که بیماران مبتلا به‌اختلالات اضطرابی ممکن است پلی مورفیسم ژنتیکی در انتقال 5-HT یا رسپتورهای 5-HT1A و رسپتورهای 5-HT1A داشته باشند (۱۱، ۹). شواهد بالینی نیز موید دخالت گیرنده های 5-HT3A در تنظیم اضطراب است(۲۷). اما اثربخشی بالینی آن است هنوز نامشخص است(۱۹). بنابراین، انتظار می رود که افزایش فعالیت سیستم سروتونرژیک مرکزی می تواند با اضطراب مرتبط باشد و بالعکس کاهش فعالیت آن با کاهش اضطراب همراه است. در صورتی که بین رفتار های مربوط به اضطراب و غلظت 5-HT در سیستم عصبی مرکزی (CNS) ارتباط وجود دارد، به این معنی که گونه های مختلف موش و حتی سویه های مختلف رت دارای غلظت‌های متفاوتی از 5-HT در مغز خود هستند (۴۲). این موضوع می تواند نشان دهنده این مطلب باشد که در موش هایی با رفتارهای اضطرابی در مناطق مختلف از سیستم عصبی مرکزی سطوح 5-HT افزایش می یابد(۱۸، ۱۳). به طور کلی، نتایج ما نشان می‌دهد که ترس حاد مقدار غلظت 5-HT خارج سلولی را در مناطق سروتونرژیک افزایش می دهد و بین غلظت 5-HT و اضطراب در حیوانات ارتباط وجود دارد. در بخش انتهایی مطالعه نشان داده شد که تزریق داخل آمیگدال دوز غیرموثر CP94253 توانسته پاسخ اضطراب‌زدایی ACPA را سرکوب نماید. با توجه به مطالعات صورت گرفته روی سروتونین و سیستم اندوکانابینوئیدی در آمیگدال، مشخص شده است که گیرنده CB_1 و گیرنده 5-HT1A هر دو از نوع کانال یونی دریچه دار وابسته به لیگاندند. هر دو گیرنده کانابینوئیدی و سروتونینی در نورون‌های گاباارژیک آمیگدال و تشکیلات هیپوکمپ حضور دارند(۱). هم‌چنین، این نورون ها رونوشت mRNA گیرنده CB_1 و زیر واحد HT_{3A}-5 را با هم بیان می کنند(۱۶). پس پیشنهاد می شود که یک تعامل بین کانابینوئید و سیستم های سروتونرژیک در انتقالات عصبی وجود دارد. گیرنده های CB_1 و پروتئین‌های ناقل سروتونین با هم در آمیگدال رت وجود دارند. گیرنده های CB_1 روی فیبرهای سروتونرژیک هسته رافه حضور دارند که به آمیگدال رفته و آن‌جا به بخش‌های دیگر سیناپس می دهند. پس بین سیستم های کانابینوئیدی و سروتونرژیک در آمیگدال ارتباط متقابل وجود دارد (۸). گیرنده های پیش سیناپسی کانابینوئیدی CB1 منجر به مهارترشح بسیاری از انتقال دهنده های عصبی، از جمله(γ-aminobutyric acid GABA)، گلوتامات، دوپامین، نورآدرنالین، استیل کولین و hydroxytryptamine (5-HT-5) می شوند. مطالعات الکتروفیزیولوژیک کاربردی در نئوکورتکس نشان داده اند که فعال شدن کانابینوئیدی CB1 منجر به کاهش ترشح 5-HT1 می شود(۲۵). به نظر می رسد که کاهش ترشح 5-HT1 ناشی از فعال شدن گیرنده های کانابینوئیدی CB1 باشد که یک اثر مهاری قابل توجه است. در مطالعه اخیر مشخص شد که

آگونیست سروتونینی اثر اضطراب زدایی ACPA را از بین برد شاید این‌طور بتوان بحث کرد که آگونیست سروتونینی توانسته جایگزین نوروترانسمیترهای مهار شده توسط ACPA باشد.

منابع

1.Akimova, E., Lanzenberger, R., Kasper, S. (2009). The serotonin-1A receptor in anxiety disorders. Biol Psychiatry,66(7); 627-35.

2.Arnold, JC., Topple, AN., Mallet, PE., Hunt, GE., McGregor, IS. (2001). The distribution of cannabinoid-induced Fos expression in rat brain: differences between the Lewis and Wistar strain. Brain Res, 921(1-2);240-55.

3.Baxter, MG., Murray, EA. (2002). The amygdala and reward. Nat Rev Neurosci, 3(7); 563-73.

4.Beloborodova, EI., Akimova, LA., Asanova, AV., Cherniavskaia, GM., Burkovskaia, VA., Ustiuzhanina, EA. (2009). Trophologic insufficiency and absorptive function of small intestine in patients with chronic obstructive pulmonary disease]. Klin Med (Mosk), 87(3); 59-63.

5.Belzung, C. (2001). The genetic basis of the pharmacological effects of anxiolytics: a review based on rodent models. Behav Pharmacol, 12(6-7);451-60.

6.Berrendero, F., Mendizabal, V., Murtra, P., Kieffer, BL., Maldonado, R. (2003). Cannabinoid receptor and WIN 55 212-2-stimulated [35S]-GTPgammaS binding in the brain of mu-, delta- and kappa-opioid receptor knockout mice. Eur J Neurosci, 18(8); 2197-202.

7.Berrendero, F., Castane, A., Ledent, C., Parmentier, M., Maldonado, R., Valverde, O. (2003). Increase of morphine withdrawal in mice lacking A2a receptors and no changes in CB1/A2a double knockout mice. Eur J Neurosci, 17(2);315-24.

8.Brailov, I., Bancila, M., Brisorgueil, MJ., Miquel, MC., Hamon, M., Verge, D. (2000). Localization of 5-HT(6) receptors at the plasma membrane of neuronal cilia in the rat brain. Brain Res, 872(1-2); 271-5.

9.Canli, T., Congdon, E., Gutknecht, L., Constable, RT., Lesch, KP. (2005). Amygdala responsiveness is modulated by tryptophan hydroxylase-2 gene variation. J Neural Transm, 112(11); 1479-85.

10. Davis, M. (2006). Neural systems involved in fear and anxiety measured with fear-potentiated startle. Am Psychol, 61(8);741-56.

11. Golimbet, VE., Alfimova, MV., Mitiushina, NG. (2004). Polymorphism of the serotonin 2A receptor gene (5HTR2A) and personality traits. Mol Biol (Mosk), 38(3);404-12.

12. Ghiasvand, M., Rezayof, A., Zarrindast, MR., Ahmadi, S. (2011). Activation of cannabinoid CB1 receptors in the central amygdala impairs inhibitory avoidance memory consolidation via NMDA receptors. Neurobiol Learn Mem, 96(2); 333-8.
Psiquiatr, 31(2);145-53.

13. Gomez-Merino, D., Bequet, F., Berthelot, M., Chennaoui, M., Guezennec, CY. (2001). Site-dependent effects of an acute intensive exercise on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in rat brain. Neurosci Lett, 301(2);143-6.

14. Hajos, N., Freund, TF. (2002). Pharmacological separation of cannabinoid sensitive receptors on hippocampal excitatory and inhibitory fibers. Neuropharmacology, 43(4);503-10.

15. Hall, W., Solowij, N. (1998). Adverse effects of cannabis. Lancet, 14;352(9140);1611-6.

16. Holmes, A. (2008). Genetic variation in cortico-amygdala serotonin function and risk for stress-related disease. Neurosci Biobehav Rev, 32(7); 1293-314.

17. Jafari, MR., Golmohammadi, S., Ghiasvand, F., Zarrindast, MR., Djahanguiri, B. (2007). Influence of nicotinic receptor modulators on CB2 cannabinoid receptor agonist (JWH133)-induced antinociception in mice. Behav Pharmacol, 18(7); 691-7.

18. Kusserow, H., Davies, B., Hortnagl, H., Voigt, I., Stroh, T., Bert, B. (2004). Reduced anxiety-related behaviour in transgenic mice overexpressing serotonin 1A receptors. Brain Res Mol Brain Res, 129(1-2);104-16.

19. Lopez-Gil, X., Artigas, F., Adell, A. (). Unraveling monoamine receptors involved in the action of typical and atypical

تشکر و قدر دانی

بدینوسیله از آقای دکتر ناصحی که در تمام مراحل از مشاوره ایشان استفاده شد تشکر و قدردانی می نماییم.

antipsychotics on glutamatergic and serotonergic transmission in prefrontal cortex. Curr Pharm Des, 16(5);502-15.
20. Marco, EM., Viveros, MP. (2009). The critical role of the endocannabinoid system in emotional homeostasis: avoiding excess and deficiencies. Mini Rev Med Chem, 9(12);1407-15.
21. McGregor, IS., Dastur, FN., McLellan, RA., Brown, RE. (1996). Cannabinoid modulation of rat pup ultrasonic vocalizations. Eur J Pharmacol, 10;313(1-2);43-9.
22. Moreira, FA., Crippa, JA. (2009). The psychiatric side-effects of rimonabant. Rev Bras
23. Nasehi, M., Piri, M., Jamali-Raeufy, N., Zarrindast, MR. (2010). 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, 16;100(4); 297-304.
24. Nasehi, M., Piri, M., Nouri, M., Farzin, D., Nayer-Nouri, T., Zarrindast, MR. (). Involvement of dopamine D1/D2 receptors on harmane-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. Eur J Pharmacol, 634(1-3); 77-83.
25. Nakazi, M., Bauer, U., Nickel, T., Kathmann, M., Schlicker, E. (2000). Inhibition of serotonin release in the mouse brain via presynaptic cannabinoid CB1 receptors. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 361(1);19-24.
26. Nutt, CL., Zerillo, CA., Kelly, GM., Hockfield, S. (2001). Brain enriched hyaluronan binding (BEHAB)/brevican increases aggressiveness of CNS-1 gliomas in Lewis rats. Cancer Res, 1;61(19);7056-9.
27. Orme, HT., Smith, AG., Nagel, MA., Bert, RJ., Mickelson, TS., Gilden, DH. (2007). VZV spinal cord infarction identified by diffusion-weighted MRI (DWI). Neurology, 69(4);398-400.
28. Pellow, S., File, SE. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. Pharmacol Biochem Behav, 24(3);525-9.
29. Pellow, S. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects in a novel test of anxiety: are exploratory models of anxiety in rodents valid? Methods Find Exp Clin Pharmacol, 8(9); 557-65.
30. Rezayof, A., Habibi, P., Zarrindast, MR. (2010). Involvement of dopaminergic and glutamatergic systems of the basolateral amygdala in amnesia induced by the stimulation of dorsal hippocampal cannabinoid receptors. Neuroscience, 23(175);118-26.
31. Rezayof, A., Golhasani-Keshtan, F., Haeri-Rohani, A., Zarrindast, MR. (2007). Morphine-induced place preference: involvement of the central amygdala NMDA receptors. Brain Res, 16;1133(1);34-41.
32. Rivard, L., Srinivasan, J., Stone, A., Ochoa, S., Sternberg, PW., Loer, CM. ().A comparison of experience-dependent locomotory behaviors and biogenic amine neurons in nematode relatives of Caenorhabditis elegans. BMC Neurosci,11;22.
33. Schafe, GE., Doyere, V., LeDoux, JE. (2005). Tracking the fear engram: the lateral amygdala is an essential locus of fear memory storage. J Neurosci, 26;25(43);10010-4.
34. Tucci, SA., Genn, RF., Thomas, A., Edwards, JE., File, SE. (2003). Age-associated sex differences in response to food deprivation in two animal tests of anxiety. Neurosci Biobehav Rev, 27(1-2); 155-61.
35. Viveros, ME., Cabiedes, J., Reyes, E., Cabral, AR. (2005). Activated protein C resistance and lupus anticoagulant activity induced by plasma and purified monospecific human IgG anti-beta2-glycoprotein-I antibodies. Rev Invest Clin, 57(4); 563-71.
36. Walker, DL., Toufexis, DJ., Davis, M. (2003). Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. Eur J Pharmacol, 28;463(1-3);199-216.
37. Zarrindast, MR., Navaeian, M., Nasehi, M. (2011). Influence of three-day morphine-treatment upon impairment of memory consolidation induced by cannabinoid infused into the dorsal hippocampus in rats. Neurosci Res, 69(1);51-9.
38. Zarrindast, MR., Ghiasvand, M., Rezayof, A., Ahmadi, S. (2012). The amnesic effect of intra-central amygdala administration of a cannabinoid CB1 receptor agonist, WIN55,212-2, is mediated by a beta-1 noradrenergic system in rat. Neuroscience, 14(212);77-85.
39. Zarrindast, MR., Dorrani, M., Lachinani, R., Rezayof, A. (2010). Blockade of dorsal hippocampal dopamine receptors inhibits state-dependent learning induced by

cannabinoid receptor agonist in mice. Neurosci Res, 67(1); 25-32.

40. Zarrindast, MR., Mahboobi, S., Sadat-Shirazi, MS., Ahmadi, S. (2010). Anxiolytic-like effect induced by the cannabinoid CB1 receptor agonist,arachydonilcyclopropylamide (ACPA), in the rat amygdala is mediated through the D1 and D2 dopaminergic systems. J Psychopharmacol, 25(1); 131-40.

41. Zarrindast, MR., Navaeian, M., Nasehi, M. (2010). Influence of three-day morphine-treatment upon impairment of memory consolidation induced by cannabinoid infused into the dorsal hippocampus in rats. Neurosci Res, 69(1); 51-9.

42. Zarrindast, MR., Valizadegan, F., Rostami, P., Rezayof, A. (2008). Histaminergic system of the lateral septum in the modulation of anxiety-like behaviour in rats. Eur J Pharmacol, 583(1);108-14.

43. Zarrindast, MR., Nouri, M., Ahmadi, S. (2007). Cannabinoid CB1 receptors of the dorsal hippocampus are important for induction of conditioned place preference (CPP) but do not change morphine CPP. Brain Res, 13;1163;130-7.

44. Zarrindast, MR., Sarahroodi, S., Arzi, A., Khodayar, MJ., Taheri-Shalmani, S., Rezayof, A. (2008). Cannabinoid CB1 receptors of the rat central amygdala mediate anxiety-like behavior: interaction with the opioid system. Behav Pharmacol, 19(7); 716-23.