

بررسی برهم کنش سیستم دوپامینی D1 پوسته آکومبنس و سیستم گلوتاماتی ناحیه پری لیمبیک بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های صحرایی نر

حاتم احمدی¹، پروین رستمی²، محمد رضا زرین دست³، محمد ناصحی⁴، هما محسنی کوچصفهانی⁵

1-دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم)، دانشکده علوم زیستی، تهران، ایران. hatam_a_4167@yahoo.com

2-استاد دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم)، دانشکده علوم زیستی، تهران، ایران.

3-استاد فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشگاه تهران، گروه فارماکولوژی، تهران، ایران.

4-استادیار فیزیولوژی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی گروه زیست شناسی، واحد گرمسار، سمنان، ایران.

5- دانشیار بیولوژی تکوینی دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم)، دانشکده علوم زیستی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: 93/12/4 تاریخ پذیرش: 94/1/15

چکیده

مقدمه و هدف: سیستم‌های نوروترانسمیتری دوپامینی و گلوتاماتی نواحی پری فرونتال و هسته آکومبنس در تنظیم رفتارهای شبه اضطرابی نقش دارند. فعالیت سیستم دوپامینی هسته آکومبنس با ورودی‌های گلوتاماتی که عمدتاً از پری فرونتال می‌آید، تنظیم می‌شود. این مطالعه به بررسی برهم-کنش سیستم دوپامینی D1 پوسته آکومبنس و سیستم گلوتاماتی پری لیمبیک در تنظیم رفتارهای شبه اضطرابی می‌پردازد.

روش کار: بعد از گذشت 5 روز از جراحی موش‌های صحرایی نر در دستگاه استریوتاکسی، از دستگاه Elevated Plus Maze برای ثبت رفتارهای شبه اضطرابی ناشی از تزریق درون مغزی داروهای SKF38393 (آکونیست گیرنده دوپامینی D1)، SCH23390 (آناگونیست گیرنده D1)، NMDA (آکونیست گیرنده N-متیل-D-آسپاراتات)، D-AP7 (آناگونیست اختصاصی گیرنده NMDA) با دوزهای متفاوت، استفاده شد.

یافته‌ها: تزریق یک طرفه NMDA (0/9µg/µl) در پری لیمبیک طرف چپ موجب کاهش رفتارهای شبه اضطرابی نسبت به گروه کنترل شد، در صورتی که دوزهای به کاررفته D-AP7 (1µg/µl، 0/5 و 0/25) در این ناحیه اثری بر اضطراب نداشت. تزریق D-AP7، پاسخ ناشی از NMDA را متوقف کرد. تزریق یک طرفه دوزهای به کار رفته SCH23390 (1µg/µl، 0/5 و 0/25) به پوسته آکومبنس طرف چپ تاثیری بر رفتارهای شبه اضطرابی نداشت، معهداً، تزریق SKF38393 (3µg/µl) در همین ناحیه موجب بروز رفتارهای شبه اضطراب زدا شد، که این اثر با تزریق دوز بی اثر SCH23390 (0/25µg/µl) متوقف گردید. به کارگیری دوز بی اثر SKF38393 (1µg/µl) در پوسته آکومبنس موجب تقویت اثر دوز پایین NMDA و کاهش پاسخ دوز بالای آن در پری لیمبیک شد. در نهایت، تزریق دوز بی اثر SCH23390 (0/25µg/µl) در پوسته آکومبنس طرف چپ موجب کاهش پاسخ اضطراب زدایی NMDA در پری لیمبیک گردید.

نتیجه گیری: نتایج بیان‌گر اثر تنظیمی سیستم دوپامینی D1 پوسته آکومبنس بر رفتارهای شبه اضطراب زدای ایجاد شده از تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پوسته آکومبنس، پری لیمبیک، رفتارهای شبه اضطرابی، سیستم دوپامینی، سیستم گلوتاماتی.

مقدمه

به دو گروه به نام شبه D1 (D1-Like) شامل D1 و D5 و شبه D2 (D2-Like) شامل D2، D3، D4، تقسیم می‌شوند. گیرنده‌های زیرگروه D1 دوپامینی باعث افزایش سطح cAMP می‌شوند (21، 2). بیشترین فراوانی گیرنده‌های دوپامینی در سیستم عصبی مرکزی و به‌ویژه در نواحی انتهایی سیستم مزواستریاتال یعنی پوتامن، سیستم لیمبیک، هسته دم دار، هسته آکومبنس، توبرکول بویایی و هم‌چنین در جسم سیاه، عقده‌های قاعده‌ای، کورتکس مغزی، هیپوتالاموس و تالاموس می‌باشد (3، 12، 48). گلوتامات به عنوان نوروترانسمیتر تحریکی اصلی در مغز به ویژه در

از علل اضطراب، تغییر در سطح برخی نوروترانسمیترها و اتصال آن‌ها به گیرنده‌هایشان می‌باشد. دوپامین یکی از فعال‌ترین تعدیل‌کننده‌های عصبی است که در زمینه مکانیسم‌های ترس و اضطراب مؤثر می‌باشد. داده‌های بالینی و آزمایشگاهی جدید نشان می‌دهد که سیستم دوپامینی مرکزی در تنظیم حافظه، اضطراب و شرطی سازی ترس نقش دارند (36، 11). گیرنده‌های دوپامینی براساس توانایی و عدم توانایی دوپامین برای تحریک آدنیلات سیکلاز و تولید cAMP به طور عمده

که پوسته آن ادامه گسترش آمیگدال (extended amygdale) است و در نتیجه پوسته بخشی از سیستم لیمبیک به حساب می آید (41). پروجکشن نورونی تگمنتوم شکمی که عمدتاً دوپامینی است به هردو بخش هسته آکومبنس و کورتکس پری فرونتال میانی می رود (55، 15). پیشنهاد شده است که سیستم های نورونی گلوتاماتی و دوپامینی در این ناحیه می توانند با هم برهم کنش داشته باشند (44). گزارش شده که استرس های مختلف حاد و مزمن موجب تغییر در آزاد سازی دوپامین در ناحیه پوسته می شود (46). افزایش فعالیت گلوتامات در هسته آکومبنس و نیز افزایش خروجی نورون های مهاری گاباژریک این ناحیه در طی افسردگی گزارش شده است (47). ناحیه شکمی قشر پری فرونتال میانی (اینفرالیمبیک) و پستی آن (پری لیمبیک و سینگولا) دارای اثرات متناقض در بیان رفتارهای احساسی مانند اجتناب از شرایط نگران کننده (19، 15)، ترس شرطی (52) و شکل گیری رفتار هستند (22). نورون های خروجی از پری فرونتال بر پایانه اکسونی نورون های دوپامینرژیک که از تگمنتوم شکمی و بخش متراکم ماده سیاه به پوسته می آیند سیناپس می دهند (5). گزارش شده که ارتباطات قشری-استریاتوم به صورت دوطرفه است، نورون هایی از اینفرالیمبیک و پری لیمبیک شکمی به صورت پیش خوراند (feed forward) به پوسته آکومبنس می رود و برگشت آن از مسیر پوسته آکومبنس-پالیدوم، شکمی-تالاموسی-قشری به بخش پستی پری-لیمبیک و قشر سینگولیت قدامی می باشد (13). هم چنین محققین گزارش کرده اند که انتقال نورونی دوپامین در هسته آکومبنس با گلوتامات آزاد شده از نورون های پری فرونتال میانی تنظیم می شود، که این تنظیم به طور مستقیم بر روی نورون های خود هسته آکومبنس و یا غیر مستقیم از طریق تگمنتوم شکمی صورت می گیرد. هم چنین تغییر در سیستم های نوروترانسمیتری، از جمله سیستم دوپامینی

پایانه های نورونی سیستم عصبی پستانداران، مطرح است (17). با توجه به این که گلوتامات از لحاظ رفتاری در تنظیم شناخت، یادگیری، حافظه و نیز در پاسخ به استرس نقش دارد (27)، و نیز مدارک مهمی مبنی بر کارآمدی داروهای گلوتاماتی به عنوان یکی از ابزارهای مهم، جهت درمان اختلالات اضطراب می باشد (7)، امروزه این سیستم به عنوان یکی از سیستم های هدف در درمان بیماری های اضطراب، افسردگی و اختلالات شناختی مطرح است. گیرنده های گلوتامات به دو گروه گیرنده های یونوتروپیک (iGluR) که کانال های یونی هستند و متابوتروپیک (mGluR) که به G- پروتئین متصل می شوند، تقسیم می گردند. گیرنده N-متیل-D-آسپاراتات (NMDA) یکی از انواع گیرنده های یونوتروپیک می باشد (17). اطلاعات پیش کلینیکی نشان می دهد، داروهایی که مسئول تنظیم افزایشی عملکرد گیرنده های NMDA هستند ممکن است در رفتارشناختی برای درمان کنترل اضطراب به کار روند (14). اصطلاح استریاتوم شکمی (Ventral striatum) اولین بار در سال 1973 به وسیله Heimer و Wilson مطرح شد. این ناحیه شامل توبرکول بویایی و هسته آکومبنس است. هسته آکومبنس بزرگ ترین بخش استریاتوم شکمی می باشد (24). امروزه هسته آکومبنس را از لحاظ آناتومیکی و عملکردی به دو بخش مرکزی (core) که موقعیت پستی جانبی (Dorsolateral) داشته و پوسته (shell) که موقعیت شکمی میانی (Ventromedial) دارد، و در اعمال متفاوتی نقش دارند تقسیم می کنند پوسته قسمت های میانی و شکمی بخش مرکزی را احاطه می نماید (15). هسته آکومبنس در رفتارهای منتج به لذت، هیجان، فعالیت حرکتی، یادگیری و پاتوفیزیولوژی افسردگی و اضطراب دارای نقش است (46). برخی محققین پیشنهاد کرده اند که ممکن است قسمت مرکزی آکومبنس، بقایای تشکیلات استریاتوم باشد، در صورتی

شده مخصوص (پلت) و آب تصفیه شده شهر به صورت آزادانه در تمام مدت نگهداری به جز زمان آزمایش استفاده می‌شد. تمامی آزمایش‌ها بین ساعت 10 تا 13 صبح انجام شدند. بر اساس سیکل خواب-بیداری در موش، رت‌ها در این دوره زمانی آرامش بیش‌تری داشته و استرس کمتری به آن‌ها وارد می‌شد. این پژوهش مطابق با موازین جهانی حمایت از حیوانات انجام شد.

داروها

در این تحقیق، داروهای SKF38393 (آگونیست گیرنده دوپامینی D1، SCH23390 (آنتاگونیست گیرنده D1)، NMDA (آگونیست گیرنده گلوتامات)، D-AP7 (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده NMDA)، که بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژی استریل 0/9 حل می‌شدند و هیدروکلرید کتامین Ketamine hydrochloride و زایلزین Xylazine جهت بیهوش کردن حیوانات مورد استفاده قرار گرفت.

جراحی موش‌ها در دستگاه استرئوتاکی

بعد از تشخیص نر و ماده، نرها از جنس ماده جدا و در قفس‌های جدا در شرایط آزمایشگاهی کنترل شده نگهداری می‌شدند. جانوران ابتدا به روش درون صفاقی با 0/1 میلی‌لیتر از مایع بیهوشی (5 میلی‌لیتر کتامین و 2 میلی‌لیتر زایلزین) بر حسب کیلوگرم از وزن، بیهوش و پس از قرار گرفتن موش‌ها در دستگاه مخصوص جراحی (استرئوتاکی) با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون (34) مختصات مغز رت، مشخصات پوسته آکومبسن طرف چپ {از نقطه برگما $AP = +1/4mm$ (قدامی - خلفی)، از خط وسط $ML = +0/7mm$ (میانی - جانبی)، از سطح جمجمه $DV = -5/5 mm$ (شکمی - پشتی)} و پری لیمبیک طرف چپ از نقطه برگما { mm $AP = +3/2$ (قدامی - خلفی) از خط وسط $ML = +0/7mm$ (میانی - جانبی) از سطح جمجمه mm $DV = -2/5$ (شکمی - پشتی)} را به دست آورده و کانول‌های راهنما با ضخامت 22 گیج در نقاط مورد نظر (طوری که

هسته اکومبسن، با تحریک و یا مهار گیرنده‌های آن‌ها که روی خروجی اصلی گابا آرژیک هسته اکومبسن موجود است، می‌تواند به طور غیر مستقیم و با واسطه تگمنتوم شکمی بر عملکرد قشر پری‌فرونتال میانی نیز تاثیر بگذارد (9). احتمال می‌رود مسیر دوپامینی مزوآمیگدال به طور غیرمستقیم، پاسخ دوپامینی هسته آکومبسن را با مکانیسمی حساس به دوپامین در پری فرونتال میانی تحت تاثیر قرار دهد (49). آزاد سازی دوپامین در پوسته اکومبسن تا حدی وابسته به تحریک هم‌زمان گیرنده های NMDA در همین ناحیه است. هم‌چنین ناحیه شکمی قشر پری فرونتال نورون‌هایی را به بخش‌های پشتی و میانی پوسته اکومبسن می‌فرستد و فعالیت این ناحیه را در برانگیختن رفتارهای شناختی و غیر شناختی تنظیم می‌کند (8). با توجه به اهمیت نقش دو بخش پوسته و مرکز هسته اکومبسن در تنظیم و مدیریت ترس، اضطراب، افسردگی و نقش سیستم های دوپامینی هسته آکومبسن و گلوتاماتی پری‌فرونتال میانی در این مورد، و در عین حال پروجکشن نورونی مستقیم و یا غیر مستقیم این دو هسته روی هم، در این پژوهش، تداخل اثر سیستم دوپامین D1 بخش پوسته هسته آکومبسن و سیستم گلوتاماتی بخش پری لیمبیک ناحیه پری‌فرونتال میانی بر روی رفتار شبه اضطرابی در موش صحرائی نر مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جانوران مورد آزمایش

در این تحقیق از موش‌های رت نر نژاد ویستار تهیه شده از پژوهشکده علوم شناختی، در محدوده وزنی 250-280 گرم استفاده شد. جانوران در گروه‌های 8 تایی در قفس‌هایی به ابعاد $15 \times 26 \times 42$ سانتی‌متر، در شرایط محیطی ثابت (22 ± 2 درجه سانتی‌گراد) و تنظیم نور به صورت دوره‌های 12 ساعت روشنایی - تاریکی (روشنایی از ساعت 7 صبح) نگهداری می‌شدند. از غذای فشرده

درست در سطح بالایی ناحیه مدنظر قرار گیرد) با دقت وارد می‌شد، اطراف کانول‌های روی استخوان جمجمه، ترکیب آکريل مخصوص دندانپزشکی و مونومر آن ریخته (طوری که کانول‌ها در بالای ماده آکريل جهت تزریق قابل دسترس باشند) و بعد از خشک شدن ماده آکريل، موش‌ها از دستگاه بیرون آورده و در جعبه‌ای جداگانه نگهداری گردیدند. پنج تا هفت روز، دوره بهبودی پس از جراحی به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی لازم است. اما در طول هفته به منظور کاهش حداکثری استرس جانور به هنگام تزریق و آزمون، هر جانور، دو بار و هر بار به مدت یک دقیقه نوازش شد.

تزریق درون مغزی داروها

در روز اجرای آزمون، برای تزریق دارو از سر سوزن 27 گیج دندانپزشکی (شرکت سوپا، ایران)، با طول 2 میلی‌متر بلندتر از کانول‌های راهنما که به لوله پلاستیکی (Cat down tube) متصل به سرنگ همیلتون 2/5 میکرولیتری بود استفاده شد. تزریق دارو با برداشتن سیم داخل کانول راهنمای 22 گیج و قرار دادن سرسوزن تزریق در داخل کانول راهنما صورت گرفت. دارو به ترتیب 0/3 و 0/5 میکرولیتر برای پوسته و ناحیه پری لیمبیک در هر کانول، به مدت 60-90 ثانیه تزریق صورت گرفت. الگوی حجم تزریق و مدت زمان آن، بر پایه تحقیقات قبلی و نیز گستردگی هسته‌های پری لیمبیک و پوسته اکومبسنس بوده است (8، 34، 43). در طول تزریق، به حیوان اجازه داده شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند. 5 دقیقه بعد از تزریق دارو، موش‌ها در دستگاه Elevated Pluse Maze مورد سنجش رفتارهای شبه اضطرابی قرار گرفتند.

دستگاه Elevated Plus Maze (EPM)

در این تحقیق برای سنجش رفتارهای شبه اضطرابی، از مدل رفتاری EPM استفاده شد. این مدل بر پایه کشمکش بین دو تمایل ذاتی حس جستجوگرانه و نیز

احتراز از ارتفاع و ورود به محیط‌های باز و روشن در جوندگان در سال 1985 توسط Pellow و همکارانش طراحی شد. در حالت طبیعی، جانور بیشتر وقت خود را در بازوهای بسته سپری کرده و تمایل بیشتری به ماندن در این بازوها دارد (35، 23). حداقل نیم ساعت قبل از آزمون و به منظور آشنا شدن با محیط اتاق و کاهش استرس، موش‌ها در اتاق تست قرار گرفتند. دستگاه EPM موجود در آزمایشگاه از جنس فایبرگلاس، از چهار بازو به علامت مثبت (+) تشکیل شده است. طول و عرض هر کدام از بازوها 10×50 و صفحه مرکزی 10×10 سانتی متر است. دو بازوی باز در مقابل هم، در انتها باز بوده و فقط دارای یک لبه یک سانتی‌متری در طول بازوها برای جلوگیری از افتادن جانور است. دو بازوی بسته دیگر با دیواره‌هایی به ارتفاع 48 سانتی‌متر محدود شده‌اند، به گونه‌ای که موش قادر به دیدن روی دیوار با عمل روی دو پا ایستادن نباشد. کف بازوها از جنس پلاستیک و به رنگ سیاه می‌باشد. دستگاه توسط پایه‌ای با ارتفاع 80 سانتی متر از سطح زمین قرار دارد. نور مناسب اتاق تست توسط یک لامپ 100 واتی واقع در ارتفاع 120 سانتی‌متری در بالای دستگاه تامین می‌شود. 5 دقیقه بعد از تزریق دارو، موش در مرکز دستگاه، طوری که سر آن به طرف بازوی بسته باشد قرار می‌گیرد. مدت زمان سنجش رفتارهای جانور 5 دقیقه است. پارامترهای مناسب عبارتند از:

- 1- درصد تعداد ورود به بازوی باز open arm %
- entrance (%OAE)، که برابر است با درصد تعداد ورود به بازوی باز تقسیم بر مجموع تعداد ورود به هر دو بازو
- 2- درصد زمان سپری شده در بازوی باز open arm % time (%OAT)، که برابر است با درصد زمان سپری شده در بازوی باز تقسیم بر مجموع زمان سپری شده در هر دو بازو. افزایش معنی‌دار در این دو پارامتر نشان دهنده

SCH23390 (0/25, 0/5) و 1 میکروگرم در میکرولیتر)، سه گروه آزمایشی دیگر دوز بی اثر 0/25 میکروگرم در میکرولیتر SCH23390 را قبل از تزریق دوزهای مختلف SKF38393 (1، 3 و 4 میکروگرم در میکرولیتر) در پوسته اکومبسن دریافت کردند. اجرای تست 5 دقیقه بعد از آخرین تزریق صورت گرفت.

آزمایش 3- بررسی برهم کنش تزریق SKF38393 در پوسته اکومبسن طرف چپ بر اثرات تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ روی رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرائی نو

در این آزمایش چهار گروه موش مورد آزمایش قرار گرفت. تزریق دوز بی اثر SKF38393 در پوسته اکومبسن چپ و دوزهای مختلف NMDA در ناحیه پری لیمبیک چپ ایجاد شد. گروه کنترل که 0/3 میکرولیتر سالین در پوسته اکومبسن و 0/5 میکرولیتر سالین در پری لیمبیک دریافت کرد، سه گروه آزمایشی دیگر، 1 میکروگرم در میکرولیتر SKF38393 در پوسته اکومبسن چپ، و بلافاصله در ناحیه پری لیمبیک چپ، سه دوز مختلف NMDA (0/3، 0/6 و 0/9 میکروگرم در میکرولیتر) را دریافت کردند. اجرای تست 5 دقیقه بعد از آخرین تزریق صورت می گرفت

آزمایش 4- بررسی برهم کنش تزریق SCH23390 در پوسته اکومبسن طرف چپ بر اثرات تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ روی رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرائی نو

در این آزمایش چهار گروه موش مورد آزمایش قرار گرفت. تزریق دوز بی اثر SCH23390 در پوسته اکومبسن چپ و دوزهای مختلف NMDA در ناحیه پری لیمبیک چپ انجام شد. گروه کنترل که 0/3 میکرولیتر سالین در پوسته اکومبسن و 0/5 میکرولیتر سالین در پری لیمبیک، سه گروه آزمایشی دیگر 0/25 میکروگرم در میکرولیتر SCH23390 را در پوسته اکومبسن چپ و بلافاصله در ناحیه پری لیمبیک چپ، سه دوز مختلف NMDA (0/3، 0/6 و 0/9 میکروگرم در میکرولیتر) را دریافت کردند.

کاهش رفتار شبه اضطرابی در حیوان و کاهش این پارامترها بیان گر افزایش رفتار شبه اضطرابی است.

3- پارامتر مهم دیگری که مورد سنجش قرار می گیرد میزان حرکت جانور یا فعالیت حرکتی (Locomotor activity) است، که بیان گر مجموع تعداد ورود به بازوی باز و بسته در زمان 5 دقیقه است.

گروه های آزمایشی

دوزهای دارویی مورد استفاده در این تحقیق، یا مشابه با دوزهای دارویی استفاده شده توسط محققین قبلی به دست آمده و یا بر اساس پاسخ دوزی (Dose response) داروها بوده است (25، 40، 56).

آزمایش 1- بررسی تاثیر تزریق NMDA در غیاب و حضور D-AP7 در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ بر رفتارهای شبه اضطرابی موش صحرائی نو

در این آزمایش یازده گروه موش مورد آزمایش قرار گرفت و تمام تزریق های دارویی در ناحیه پری لیمبیک چپ انجام شد. گروه کنترل 0/5 میکرولیتر سالین، چهار گروه آزمایشی اول، دوزهای مختلف NMDA (0/3، 0/6، 0/9 و 1/2 میکروگرم در میکرولیتر)، سه گروه آزمایشی دوم دوزهای مختلف D-AP7 (0/5، 0/25) و 1 میکروگرم در میکرولیتر)، سه گروه آزمایشی سوم دوز بی اثر 0/25 میکروگرم در میکرولیتر D-AP7 را قبل از تزریق دوزهای مختلف NMDA (0/3، 0/6 و 0/9 میکروگرم در میکرولیتر) در ناحیه پری لیمبیک دریافت کردند. اجرای تست، 5 دقیقه بعد از آخرین تزریق انجام شد.

آزمایش 2- بررسی تاثیر تزریق SKF38393 در غیاب و حضور SCH23390 در پوسته اکومبسن طرف چپ بر رفتارهای شبه اضطرابی موش صحرائی نو

در این آزمایش تمام تزریق های دارویی در پوسته اکومبسن چپ ده گروه موش صورت گرفت. گروه اول از حیوانات سالین 0/3 میکرولیتر، سه گروه آزمایشی اول دوزهای مختلف SKF38393 (1، 3 و 4 میکروگرم در میکرولیتر)، سه گروه آزمایشی دوم دوزهای مختلف

1- بررسی تاثیر تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ در غیاب و حضور D-AP7 بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرائی نو

تحلیل واریانس یک طرفه و Post hoc Tukey نشان داد که تزریق دوز 0/9 میکروگرم در میکرولیتر NMDA در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ موجب افزایش معنی دار OAT % [F(4,35)=4/4, P<0/01] (نمودار A-1) و OAE % [F(4,35)=10/5, P<0/001] (نمودار B-1) جانوران نسبت به گروه کنترل شد. لیکن تغییری در فعالیت حرکتی [F(4,35)=1/17, P>0/05] (نمودار C-1) ایجاد نشد. نتایج نشان می دهد که NMDA تزریق شده در این ناحیه مغزی از موش صحرائی موجب کاهش رفتار شبه اضطرابی می شود. با این حال افزایش دوز NMDA به 1/2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ باعث کاهش OAE % می شود، که بیانگر اثر اضطراب زایی این دارو در دوز بالاتر است. هم چنین نتایج تحلیل واریانس یک طرفه نشان می دهد که تزریق دوزهای به کار رفته D-AP7 در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ تغییری در هیچ کدام از پارامترهای OAT % [F(3,28)=1/4, P>0/05] (نمودار A-1)، OAE % [F(3,28)=0/9, P>0/05] (نمودار B-1) و فعالیت حرکتی [F(3,28)=0/7, P>0/05] (نمودار C-1) موش های مورد آزمایش نسبت به گروه کنترل ایجاد نمی کند. نتایج نشان داد که مهار گیرنده های NMDA در این ناحیه از موش صحرائی بر پارامترهای رفتار شبه اضطرابی اثری ندارد. تحلیل واریانس دوطرفه و Post hoc Tukey نشان داد که تزریق دوز بی اثر 0/25 میکروگرم در میکرولیتر D-AP7 در پری لیمبیک طرف چپ موجب کاهش پاسخ NMDA روی OAT % [F(3,56)=4/4, P<0/01]، دوز×دارو، F، P>0/05.

اجرای تست 5 دقیقه بعد از آخرین تزریق صورت گرفت (58).

بررسی برش های بافتی به منظور تعیین موقعیت محل تزریق

در انتهای آزمون و به منظور تایید محل تزریق داروها، ابتدا موش ها با کلروفرم کشته و محلول متیلن بلو 1% با حجم 0/3 و 0/5 میکرولیتر به ترتیب در نواحی پوسته اکومبنس و پری لیمبیک چپ تزریق شد، سپس سر موش ها با گیوتین جدا شده، و بعد از شکافتن جمجمه، مغز جانور از جمجمه برداشته و در محلول فرمالدئید 10% قرار گرفت. بعد از 48 ساعت، با دستگاه میکروتوم ویبرواسلایس، مغزها با ضخامت 40 میکرومتری برش و در ادامه محل کاشت کانول ها و تزریق دارو با استفاده از دستگاه استریومیکروسکوپ بررسی و اشکال آن با اطلس پاکسینوس و واتسون مقایسه شد (49). داده های مربوط به موش هایی که کانول ها به صورت مطلوب در مراکز مورد نظر قرار داده نشده بود از تحلیل های آماری حذف گردید.

تحلیل آماری

داده های به دست آمده در نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل آماری شد. به علت این که داده ها دارای توزیع نرمالی بودند، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه اثرات دوزهای مختلف هر دارو با گروه کنترل مربوطه، و نیز از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه برای مقایسه بررسی اثرات برهم کنش بین داروها استفاده شد. بعد از معنی دار بودن عدد F، با آنالیز Post Hoc Tukey، معنی دار بودن تفاوت گروه های آزمایشی بررسی گردید. P<0/05 به عنوان سطح تفاوت معنی دار گروه ها مورد ملاک قرار می گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Sigma Plot صورت گرفت.

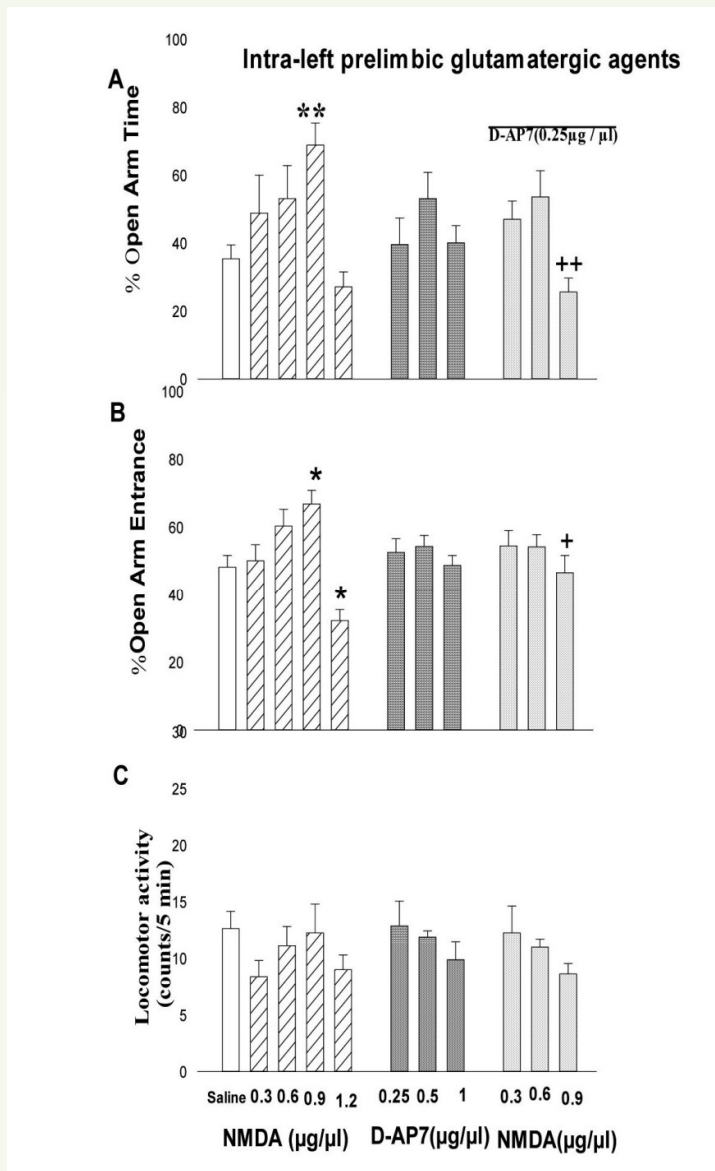
نتایج

پوسته اکومینس طرف چپ تغییری معنی‌دار در هیچ کدام از پارامترهای OAT % [P>0/05]، [F(3,28)=2/3 (نمودار A-2)، OAE %] [P>0/05]، [F(3,28)=1/6 (نمودار B-2) و فعالیت حرکتی [F(3,28)=1، P>0/05] (نمودار C-2) موش‌های مورد آزمایش نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد. نتایج نشان می‌دهد که مهار گیرنده‌های D1 در این ناحیه مغزی از موش صحرایی بر رفتار شبه اضطرابی تاثیر معنی‌دار ندارد. تحلیل واریانس دوطرفه و Post hoc Tukey نشان داد که تزریق دوز بی اثر (SCH23390) (0/25 μg/μl) در پوسته اکومینس طرف چپ موجب کاهش پاسخ ایجاد شده توسط دوز مؤثر SKF38393 روی OAT % [P>0/05]؛ P<0/05؛ F(3,28)=3/8؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(3,28)=1/5؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(3,28)=0/3؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(3,28)=2/9؛ حیوانات نسبت به گروه کنترل شد، در حالی که تغییری معنی‌دار در OAE % [F(3,28)=1/6، P>0/05] (نمودار B-2) و فعالیت حرکتی [F(3,28)=0/6، P>0/05] (نمودار C-2) ایجاد نکرد. نتایج نشان داد که تحریک گیرنده‌های D1 در این ناحیه مغزی از موش صحرایی موجب بروز رفتارهای شبه اضطراب زد می‌شود. هم چنین تحلیل واریانس یکطرفه و Post hoc Tukey نشان داد که تزریق دوزهای مختلف SCH23390 (1 و 0/5 و 0/25 μg/μl) در

1/5 (56,3) = F دوز، P<0/05؛ F(3,28)=3/6؛ دارو F (نمودار 1-A) و OAE % [P<0/01]؛ F(3,56)=4/1؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(1,56)=1/5؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(3,56)=1/5؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(3,56)=1/6؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(1,56)=0/1؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(3,56)=0/4؛ دوز×دارو F، P>0/05؛ F(1,56)=0/1؛ دوز×دارو F (نمودار C-1) ایجاد نکرده است.

2- بررسی تاثیر تزریق SKF38393 در پوسته اکومینس طرف چپ در غیاب و حضور SCH23390 بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرایی نو

تحلیل واریانس یکطرفه و Post hoc Tukey نشان داد که تزریق دوز 3 μg/μl از SKF38393 در پوسته اکومینس طرف چپ موجب افزایش معنی‌دار OAT % [F(3,28)=2/9، P<0/05] (نمودار A-2) حیوانات نسبت به گروه کنترل شد، در حالی که تغییری معنی‌دار در OAE % [F(3,28)=1/6، P>0/05] (نمودار B-2) و فعالیت حرکتی [F(3,28)=0/6، P>0/05] (نمودار C-2) ایجاد نکرد. نتایج نشان داد که تحریک گیرنده‌های D1 در این ناحیه مغزی از موش صحرایی موجب بروز رفتارهای شبه اضطراب زد می‌شود. هم چنین تحلیل واریانس یکطرفه و Post hoc Tukey نشان داد که تزریق دوزهای مختلف SCH23390 (1 و 0/5 و 0/25 μg/μl) در



نمودار 1- اثر تزریق D-AP7 و NMDA و برهم کنش آن‌ها در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ بر رفتار شبه اضطرابی در موش بزرگ آزمایشگاهی. سمت بالا نمودار، اثر تزریق دوزهای مختلف NMDA (0.3، 0.6، 0.9، 1.2 μg/μl) و 0.3، 0.6 و 0.9 μg/μl، و طرف پائین نمودار، اثر تزریق دوز بی اثر D-AP7 (0.25 μg/μl) قبل از دوزهای مختلف NMDA (0.3 و 0.9 μg/μl) را نشان می‌دهد. پارامترهای سنجش شده شامل %OAT، %OAE و Locomotor activity است. هر ستون نشان دهنده میانگین هر گروه است (0.3/0.6 و 0.9/0.3). در مقایسه با گروه سالین و P < 0.05، + و P < 0.01، ++ در مقایسه با گروه‌هایی که فقط NMDA دریافت کردند. نتایج بیانگر اثر آنتاگونیستی تزریق D-AP7 بر پاسخ اضطراب زدایی NMDA در ناحیه پری لیمبیک است.

$F(2/3)=56.3$ ؛ $P<0/01$ ، دوز×دارو $F(4/9)=56.3$ ؛ دوز $F(1/1)=56.1$ ؛ $P>0/05$ ، F (نمودار B-4 سمت پائین) و فعالیت حرکتی $[P>0/05 ; F(1/8)=56.3]$ دوز×دارو $F(0/3)=56.3$ ؛ $P>0/05$ ، F (نمودار C-4 - سمت پائین) تغییر ایجاد نمی‌کند. نتایج بیان‌گر کاهش اضطراب زدایی NMDA در ناحیه پری‌لیمبیک به علت مهار گیرنده‌های D1 در پوسته اکومبسن ناشی از تزریق SCH23390 است.

بحث و نتیجه‌گیری

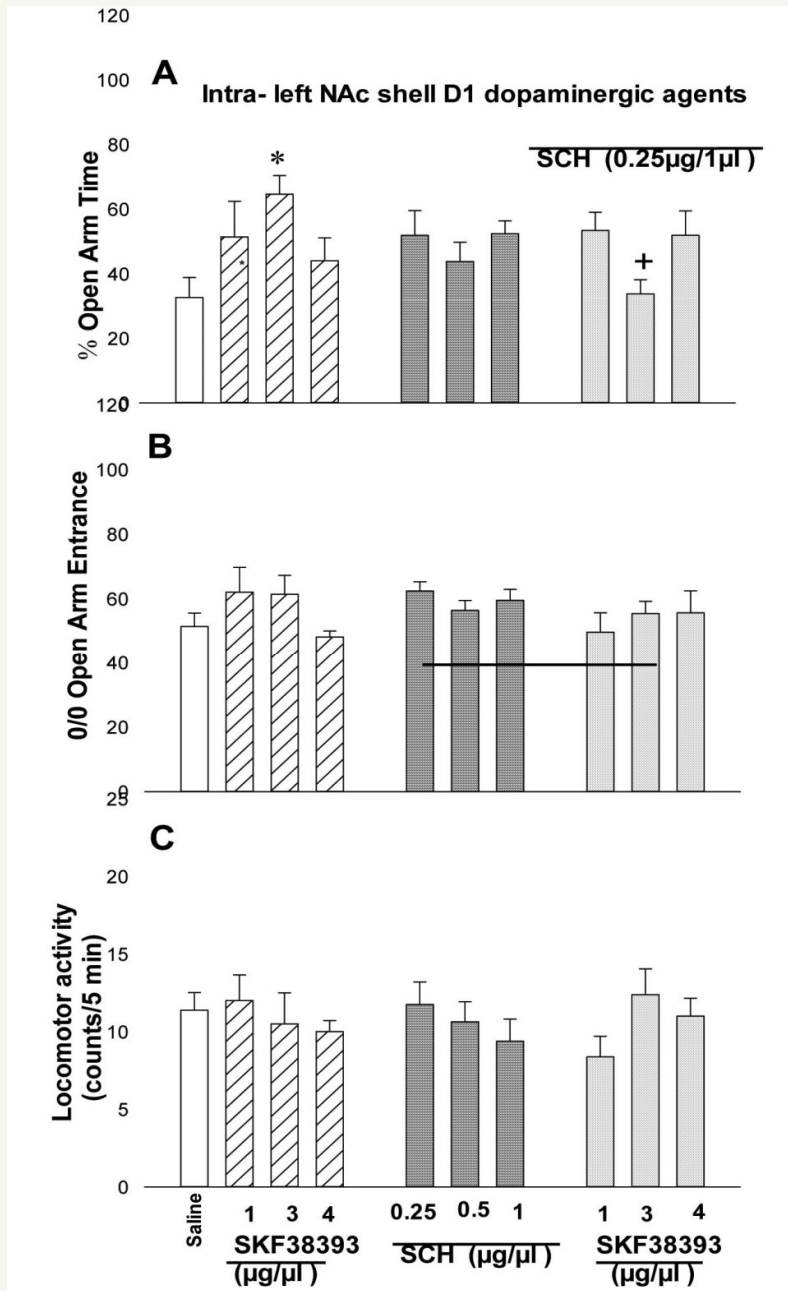
بررسی تاثیر تزریق NMDA در ناحیه پری‌لیمبیک طرف چپ، در حضور و غیاب D-AP7 بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرائی نر
آیا تحریک گیرنده‌های یونوتروپیک گلوتاماتی در ناحیه پری‌لیمبیک می‌تواند با تغییر در رفتارهای شبه اضطرابی در جانوران مرتبط باشد؟ نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تزریق NMDA در طرف چپ این ناحیه موجب افزایش OAT و OAE % می‌شود، که می‌توان آن را به عنوان کاهش رفتار شبه اضطرابی، و یا بروز رفتارهای شبه اضطراب زدا تفسیر کرد. نکته قابل توجه در این آزمایش این بود که افزایش بیشتر دوز NMDA در این ناحیه، موجب بروز رفتارهای اضطراب زایی شد. اثر اضطراب زایی NMDA در این آزمایش موافق با نتایج دیگر محققین نیز هست. تزریق NMDA به ناحیه آمیگدال در تست رفتاری EPM موجب افزایش رفتارهای اضطرابی شده است (57). تعدادی از محققین در ارائه نتایج کارهای خود روی بخش‌های مختلف مغز، اثرات اضطراب زدایی را برای اعمال آنتاگونیست‌های NMDA، مانند D-AP7، D-AP5 گزارش کرده‌اند (37)، (28).

3- بررسی برهم‌کنش تزریق SKF38393 در پوسته اکومبسن طرف چپ بر اثرات تزریق NMDA در ناحیه پری‌لیمبیک طرف چپ روی رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرائی نر

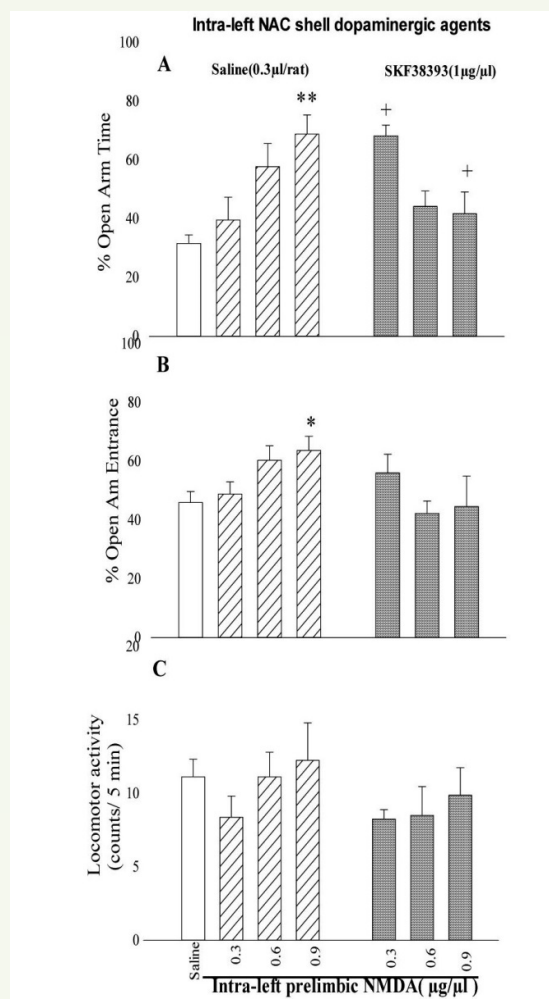
تحلیل واریانس دوطرفه و post hoc Tukey نشان داد که تزریق دوز بی اثر ($1\mu\text{g}/\mu\text{l}$) SKF38393 در پوسته اکومبسن طرف چپ موجب تقویت اثر دوز کم NMDA، و در عوض باعث کاهش پاسخ دوز بالای آن در ناحیه پری‌لیمبیک روی OAT % $[P<0/01]$ ؛ $F(3/2)=56.3$ ؛ دوز×دارو $F(5/3)=56.3$ ؛ $P<0/01$ ، F (نمودار A-3 سمت پائین) می‌شود، در صورتی که برهم‌کنش ذکر شده اثری معنی‌دار روی OAE % $[P<0/01]$ ؛ $F(4/5)=56.3$ ؛ دوز×دارو $F(0/2)=56.3$ ؛ $P>0/05$ ، F (نمودار B--3 سمت پائین) و فعالیت حرکتی $[P>0/05 ; F(0/5)=56.3]$ دوز×دارو $F(1/4)=56.3$ ؛ $P>0/05$ ؛ $F(0/8)=56.1$ ؛ (نمودار C--3 سمت پائین) ندارد. نتایج نشان دهنده اثر تنظیمی و وابسته به دوز تحریک گیرنده‌های D1 در پوسته اکومبسن بر رفتار شبه اضطراب زدای ناشی از تحریک گیرنده‌های NMDA در پری-لیمبیک است.

4- بررسی برهم‌کنش تزریق SCH23390 در پوسته اکومبسن طرف چپ بر اثرات تزریق NMDA در ناحیه پری‌لیمبیک طرف چپ روی رفتارهای شبه اضطرابی در موش بزرگ آزمایشگاهی

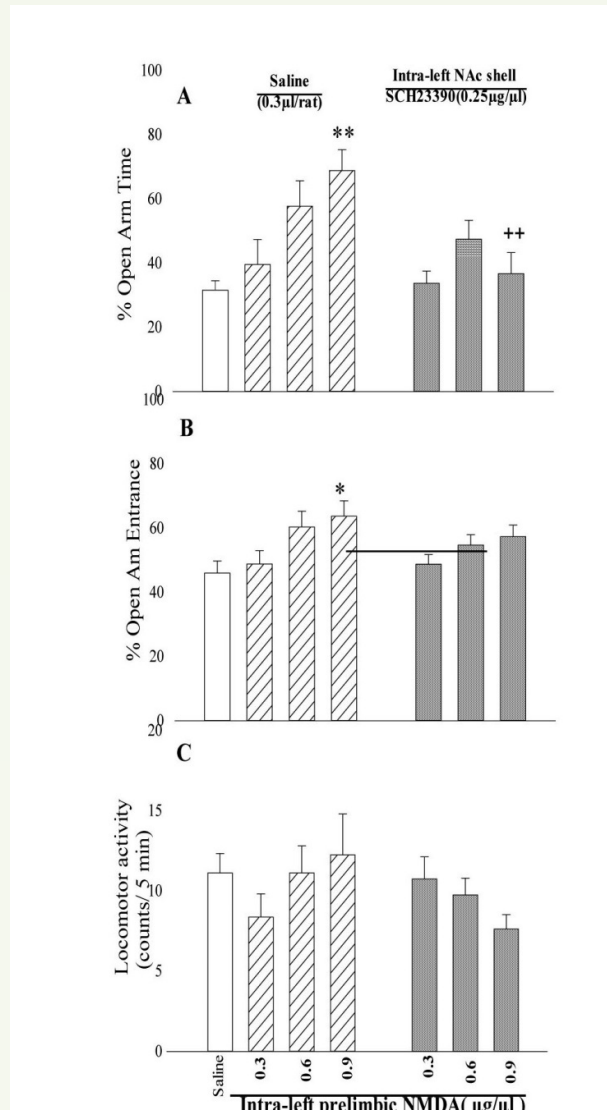
تحلیل واریانس دوطرفه و post hoc Tukey نشان داد که تزریق دوز بی اثر ($25\mu\text{g}/\mu\text{l}$) SCH23390 در پوسته اکومبسن طرف چپ موجب کاهش پاسخ دوز بالای NMDA در ناحیه پری‌لیمبیک روی OAT % $[P<0/01]$ ؛ $F(4/4)=56.3$ ؛ دوز×دارو $F(4/3)=56.3$ ؛ $P<0/05$ ، $F(4/3)=56.1$ ؛ (نمودار A-4 - سمت پائین) می‌شود، در صورتی که این برهم‌کنش روی OAE % $[P>0/05]$ ؛



نمودار 2- اثر تزریق SKF38393، SCH23390 و برهم کنش آنها در پوسته اکومینس طرف چپ بر رفتار شبه اضطرابی در موش بزرگ آزمایشگاهی. سمت بالا نمودار، اثر تزریق دوزهای مختلف SKF38393 (1، 3 و 4 µg/µl)، وسط نمودار اثر تزریق دوزهای مختلف SCH23390 (0/25، 0/5 و 1 µg/µl) و طرف پائین نمودار، اثر تزریق دوز بی اثر SCH23390 (0/25 µg/µl) قبل از دوزهای مختلف SKF38393 (1، 3 و 4 µg/µl) را نشان می دهد. پارامترهای سنجش شده شامل %OAT، %OAE و لocomotor activity است. هر ستون نشان دهنده میانگین هر گروه است (P<0/05 * در مقایسه با گروه سالین و P<0/05 + در مقایسه با گروه هایی که فقط SKF38393 دریافت کردند).



نمودار 3- اثر برهم کنش تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک با SKF38393 در پوسته اکومبنس بر رفتار شبه اضطرابی در موش بزرگ آزمایشگاهی. سمت بالا نمودار، اثر تزریق دوزهای مختلف NMDA (0/3، 0/6 و 0/9 μ g/ μ l) در ناحیه پری لیمبیک، و طرف پائین نمودار، اثر برهم-کنش تزریق دوزی اثر SKF38393 (1 μ g/ μ l) در پوسته اکومبنس قبل از دوزهای مختلف NMDA در ناحیه پری لیمبیک را نشان می دهد. پارامترهای سنجش شده شامل OAT% و OAE% و Locomotor activity است. هر ستون نشان دهنده میانگین هر گروه است (P<0/05*، P<0/01** در مقایسه با گروه سالین و P<0/05+ در مقایسه با گروه هایی که فقط NMDA دریافت کردند).



نمودار 4- اثر برهم کنش تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک با SCH23390 در پوسته اکومبسن بر رفتار شبه اضطرابی در موش بزرگ آزمایشگاهی. سمت بالا نمودار، اثر تزریق دوزهای مختلف NMDA (0/3، 0/6 و 0/9 µg/µl) در ناحیه پری لیمبیک، و طرف پائین نمودار، اثر تزریق دوز بی اثر SCH23390 (0/25 µg/µl) در پوسته اکومبسن قبل از دوزهای مختلف NMDA در ناحیه پری لیمبیک را نشان می دهد. پارامترهای سنجش شده شامل OAT % و OAE % و Locomotor activity است. هر ستون نشان دهنده میانگین هر گروه است (P<0/05 *، P<0/01 ** در مقایسه با گروه سالین و P<0/01 ++ در مقایسه با گروههایی که فقط NMDA دریافت کردند).

نر بر پارامترهای مرتبط با رفتارهای شبه اضطرابی و نیز فعالیت حرکتی اثری نداشت، که ممکن است عدم اثر آن ناشی از توان گلوتاماتی پایین و یا کاهش توان فیزیولوژیکی گیرنده های NMDA در ناحیه پری لیمبیک باشد (14). نتایج دیگر این تحقیق نشان داد که دوز بی اثر

هم چنین گزارش شده که تزریق همین آنتاگونیست ها در برخی نواحی مغزی اثری روی رفتارهای شبه اضطرابی ندارد (26، 33). و یا حتی دارای اثر اضطراب زایی است (4). پژوهش حاضر نشان داد که دوزهای تزریق شده D-AP7 در ناحیه پری لیمبیک موش صحرایی

حرکتی و دیگر پارامترهای مرتبط با آن در موش‌های صحرائی ایجاد نمی‌کند (16). از دیگر نتایج تحقیق حاضر این است که تزریق SCH233930 رفتارهای شبه اضطراب زدای القاء شده توسط SKF38393 را مهار می‌کند، که از یک جهت نشان دهنده اثر آنتاگونیستی SCH233930 بر فعالیت SKF38393 بوده، و از طرفی تایید کننده آزمایش قبلی مبنی بر مؤثر بودن فعال سازی گیرنده D1 در کاهش رفتار اضطرابی است.

بررسی برهم کنش اثر تزریق داروهای دوپامینی در پوسته اکومبسن طرف چپ روی پاسخ NMDA در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ بر رفتار شبه اضطرابی

مسیرهای دوپامینی مزوکورتیکولیمبیک در ایجاد اثرات دوپامین روی رفتارهای اضطرابی دخیل است (32)، (10). برخی از محققین پیشنهاد کرده‌اند که خروجی نورون‌های گلوتاماتی از قشر پری فرونتال نقشی تعدیلی در تنظیم فعالیت سیستم دوپامینی در هسته اکومبسن دارد (50، 6). فعال سازی سیستم گلوتاماتی قشر پری- لیمبیک و در نتیجه، اثر آن روی سلول‌های دوپامینی تگمنتوم شکمی، باعث افزایش آزادسازی دوپامین در هسته اکومبسن می‌شود (31). نتایج داده‌های تحقیق حاضر از بررسی برهم کنش تزریق SKF38393 در پوسته اکومبسن طرف چپ با NMDA در پری لیمبیک طرف چپ بر رفتارهای شبه اضطرابی موش‌های صحرائی نشان می‌دهد که تزریق دوز بی اثر SKF38393 به عنوان آگونیست D1 در پوسته اکومبسن طرف چپ موجب تقویت اثر دوز پایین NMDA در پری لیمبیک طرف چپ برای بروز رفتارهای شبه اضطراب زدای می‌شود. ممکن است فعال سازی گیرنده D1 در پوسته اکومبسن موجب تقویت آزادسازی گلوتامات از پایانه‌های تحریکی نورون‌های گلوتاماتی شود که از ناحیه پری- لیمبیک به این ناحیه آمده‌اند. این فرضیه توسط محققین قبلی هم مطرح شده است (54، 20). تفاوت اثر رفتاری مشاهده شده از برهم کنش دوزهای بی اثر SKF38393

D-AP7 قبل از NMDA در این ناحیه باعث کاهش رفتارهای شبه اضطراب زدای و نیز فعالیت حرکتی می‌شود که بیانگر اثر آنتاگونیستی D-AP7 در جلوگیری از اثر NMDA در این ناحیه است.

بررسی تاثیر تزریق SKF38393 در پوسته اکومبسن طرف چپ در غیاب و حضور SCH23390 بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرائی نو

گیرنده‌های دوپامینی D1 و D2 هر دو در میانجی-گیری اضطراب نقش دارند (1). گیرنده‌های دوپامینی D1 و D2 موجود در آمیگدال دارای نقش‌های مختلفی در تنظیم اضطراب هستند (29). هم‌چنین برخی از محققین گزارش کرده‌اند که تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده D1 و D2 رفتارهای شبه اضطرابی را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد (59، 45). تزریق آگونیست D1 (SKF-81297) به ناحیه اینفرالیمبیک در موش سوری نیز رفتار اضطرابی را کاهش می‌دهد (53). تحریک گیرنده‌های دوپامینی در پوسته اکومبسن، با تزریق آپومورفین به این ناحیه موجب کاهش رفتارهای اضطرابی در طول دوره ترک داروها می‌شود (39). داده‌های بدست آمده در این مطالعه نشان داد که تزریق SKF38393 به پوسته اکومبسن طرف چپ موجب کاهش رفتارهای شبه اضطرابی می‌شود. نتایج این آزمایش با گزارش‌های قبلی نیز هم‌خوانی دارد. به نظر می‌رسد مسیرهای دوپامینی تگمنتوم شکمی به هسته اکومبسن در ایجاد اثرات دوپامین بر روی اضطراب نقش داشته باشد (38). از نتایج دیگر این تحقیق، تزریق SCH23390 در این ناحیه بود، که اثری روی پارامترهای سنجش شده نداشت. لذا به نظر می‌رسد مهار گیرنده‌های D1 در پوسته اکومبسن تغییری در رفتارهای شبه اضطرابی و نیز فعالیت حرکتی ندارد. اثر خنثی SCH23390 بر رفتارهای شبه اضطرابی، با تزریق درون صفاقی آن به موش صحرائی توسط محققین قبلی گزارش شده است (51، 42). گزارش شده که تزریق SCH233930 در پوسته اکومبسن تغییری در فعالیت

رفتارهای شبه اضطراب زدا را القاء می کند. 2- تزریق SKF38393 و SCH23390 در پوسته اکومبنس، به ترتیب موجب کاهش و عدم تغییر در رفتارهای شبه اضطرابی می شود. 3- تزریق دوز بی اثر SKF38393 در پوسته اکومبنس موجب تقویت اثر دوز پایین NMDA در پری لیمبیک شده، در صورتی که پاسخ دوز بالای آن را مهار می کند.

تشکر و قدردانی

از کلیه دوستان دانشجو و همکاران پژوهشگر علوم شناختی تهران که این پروژه با همکاری آن‌ها صورت گرفته صمیمانه تشکر و قدردانی می کنیم.

در پوسته اکومبنس با دوزهای بیشتر و کمتر NMDA در ناحیه پری لیمبیک ممکن است مرتبط با میان کنش اثر وابسته به دوز این داروها در این ناحیه مغزی باشد. هم چنین تزریق دوز بی اثر SCH23390 در پوسته اکومبنس موجب کاهش پاسخ رفتار شبه اضطراب زدا القاء شده توسط تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک شد. این اثر ممکن است ناشی از کاهش عملکرد گیرنده های D1 روی پایانه های گلوتاماتی در ناحیه پوسته شود که از پری لیمبیک آمده اند، و به تبع آن باعث کاهش پاسخ NMDA شود.

به طور خلاصه نتایج این تحقیق نشان می دهد که: 1- فعال سازی گیرنده های NMDA در ناحیه پری لیمبیک

منابع

- Adriani, W. (1998). N-methyl-D-aspartate and dopamine receptor involvement in the modulation of locomotor activity and memory processes. *Exp Brain Res*, 123(1-2); 52.-9
- Andersen, P.H. (1990). Dopamine receptor subtypes: beyond the D1/D2 classification. *Trends Pharmacol Sci*, 11(6); 231-6.
- Andersen, P.H., Jansen, J.A. (1990). Dopamine receptor agonists: selectivity and dopamine D1 receptor efficacy. *Eur J Pharmacol*, 188(6); 335-47.
- Barros, D.M. (2000). Molecular signalling pathways in the cerebral cortex are required for retrieval of one-trial avoidance learning in rats. *Behav Brain Res*, 114(1-2); 183-92.
- Berendse, H.W., Groenewegen, H.J., Lohman, A.H. (1992). Compartmental distribution of ventral striatal neurons projecting to the mesencephalon in the rat. *J Neurosci*, 12(6); 2079-103.
- Brady, A.M., O'Donnell, P. (2004). Dopaminergic modulation of prefrontal cortical input to nucleus accumbens neurons in vivo. *J Neurosci*, 24(5); 1040-9.
- Cortese, B.M., Phan, K.L. (2005). The role of glutamate in anxiety and related disorders. *CNS Spectr*, 10(10); 820-30.
- Ding, D.C., Gabbott, P.L., Totterdell, S. (2001). Differences in the laminar origin of projections from the medial prefrontal cortex to the nucleus accumbens shell and core regions in the rat. *Brain Res*, 1:81-9.
- Doherty, M., Gratton, A. (2007). Differential involvement of ventral tegmental GABA(A) and GABA(B) receptors in the regulation of the nucleus accumbens dopamine response to stress. *Brain Res*, 1150; 62-8.
- Feenstra, M.G., van der Weij, W., Botterblom, M.H. (1995). Concentration-dependent dual action of locally applied N-methyl-D-aspartate on extracellular dopamine in the rat prefrontal cortex in vivo. *Neurosci Lett*, 201(2); 175-8.
- Garpenstrand, H. (2001). Human fear conditioning is related to dopaminergic and serotonergic biological markers. *Behav Neurosci*, 115(2); 358-64.
- Gingrich, J.A., Caron, M.G. (1993). Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu Rev Neurosci*, 16; 299-321.
- Groenewegen, H.J., Galis-de Graaf, Y., Smeets, W.J. (1999). Integration and segregation of limbic cortico-striatal loops at the thalamic level: an experimental tracing study in rats. *J Chem Neuroanat*, 16(3); 167-85.
- Harvey, B.H., Shahid, M. (2012). Metabotropic and ionotropic glutamate receptors as neurobiological targets in anxiety and stress-related disorders: focus on pharmacology and preclinical translational models. *Pharmacol Biochem Behav*, 100(4); 775-800.
- Heimer, L., Alheid, G.F. (1991). Piecing together the puzzle of basal forebrain anatomy. *Adv Exp Med Biol*, 295; 1-42.

16. Hoffman, D.C., Beninger, R.J. (1985). The D1 dopamine receptor antagonist, SCH 23390 reduces locomotor activity and rearing in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 22(2); 341-2.
17. Jafari-Sabet, M. (2006). NMDA receptor blockers prevents the facilitatory effects of post-training intra-dorsal hippocampal NMDA and physostigmine on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Behav Brain Res*, 169(1); 120-7.
18. Jardim, M.C. (2005). Role of glutamate ionotropic and benzodiazepine receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus on anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, 82(1); 182-9.
19. Jinks, A.L., McGregor, I.S. (1997). Modulation of anxiety-related behaviours following lesions of the prelimbic or infralimbic cortex in the rat. *Brain Res*, 772(1-2); 181-90.
20. Kalivas, P.W., Duffy, P., Barrow, J. (1989). Regulation of the mesocorticolimbic dopamine system by glutamic acid receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther*, 251(1); 378-87.
21. Keabian, J.W., Calne, D.B. (1979). Multiple receptors for dopamine. *Nature*, 277(5692); 93-6.
22. Killcross, S., Coutureau, E. (2003). Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex*, 13(4); 400-8.
23. Lapid-Bluhm, M.D. (2008). Behavioural assays to model cognitive and affective dimensions of depression and anxiety in rats. *J Neuroendocrinol*, 20(10); 1115-371
24. Ligorio, M., Descarries, L., Warren, R.A. (2009). Cholinergic innervation and thalamic input in rat nucleus accumbens. *J Chem Neuroanat*, 37(1); 33-45.
25. Martinez, G. (2002). Effects of selective NMDA and non-NMDA blockade in the nucleus accumbens on the plus-maze test. *Physiol Behav*, 2(76); 219-24.
26. Menard, J., Treit, D. (2000). Intra-septal infusions of excitatory amino acid receptor antagonists have differential effects in two animal models of anxiety. *Behav Pharmacol*, 11(2); 99-108.
27. Moghaddam, B. (2002). Stress activation of glutamate neurotransmission in the prefrontal cortex: implications for dopamine-associated psychiatric disorders. *Biol Psychiatry*, 51(10); 775-87.
28. Molchanov, M.L., Guimaraes, F.S. (2002). Anxiolytic-like effects of AP7 injected into the dorsolateral or ventrolateral columns of the periaqueductal gray of rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 160(1); 30-8.
29. Mora, M.P de la. (2008). Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of fear and anxiety: Structural and functional analysis. *Prog Neurobiol*, 90(2); 198-216.
30. Morari, M. (1998). Reciprocal dopamine-glutamate modulation of release in the basal ganglia. *Neurochem Int*, 33(5); 383-97.
31. Murase, S. (1993). Prefrontal cortex regulates burst firing and transmitter release in rat mesolimbic dopamine neurons studied in vivo. *Neurosci Lett*, 157(1); 53-6.
32. Nasehi, M. (2011). The effects of dopaminergic drugs in the dorsal hippocampus of mice in the nicotine-induced anxiogenic-like response. *Pharmacol Biochem Behav*, 98(3); 468-73.
33. Padovan, C.M., Guimaraes, F.S. (2000). Restraint-induced hypoactivity in an elevated plus-maze. *Braz J Med Biol Res*, 33(1); 79-83.
34. Paxinos, G., Watson, C. (2007). The rat brain in stereotaxic coordinates (6rd ed.). Academic Press. London. UK.
35. Pellow, S. (1985). Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, 14(3); 149-67.
36. Pezze, M.A., Feldon, J. (2004). Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Prog Neurobiol*, 74(5); 301-20.
37. Plaznik, A. (1994). Effects of antagonists at the NMDA receptor complex in two models of anxiety. *Eur Neuropsychopharmacol*, 4(4); 503-12.
38. Puglisi-Allegra, S. (1991). Acute stress induces time-dependent responses in dopamine mesolimbic system. *Brain Res*, 554(1-2); 217-22.
39. Radke, A.K., Gewirtz, J.C. (2000). Increased dopamine receptor activity in the nucleus accumbens shell ameliorates anxiety during drug withdrawal. *Neuropsychopharmacology*, 37(11); 2405-15.
40. Rezayof, A., Hosseini, S.S., Zarrindast, M.R. (2009). Effects of morphine on rat behaviour in the elevated plus maze: the role of central amygdala dopamine receptors. *Behav Brain Res*, 202(2); 171-8.
41. Riedel, G. (1997). Nucleus accumbens lesions impair context, but not cue, conditioning in rats. *Neuroreport*, 8(11); 2477-81.
42. Rodgers, R.J., Nikulina, E.M., Cole, J.C. (1994). Dopamine D1 and D2 receptor ligands

modulate the behaviour of mice in the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*, 49(4); 985-95.

43. Rostami, P., Hajizadeh-Moghaddam, A., Zarrindast, M.R. (2006). The effects of histaminergic agents in the ventral hippocampus of rats in the plus-maze test of anxiety-like behaviours. *Physiol Behav*, 87(5); 891-6.

44. Sargolini, F. (1999). Effects of lesions to the glutamatergic afferents to the nucleus accumbens in the modulation of reactivity to spatial and non-spatial novelty in mice. *Neuroscience*, 93(3); 855-67.

45. Shah, A.A., Sjovold, T., Treit, D. (2004). Selective antagonism of medial prefrontal cortex D4 fear-related behaviour in rats. *Eur J Neurosci*, 19(12); 3393-7.. receptors decreases

46. Shirayama, Y., Chaki, S. (2006). Neurochemistry of the nucleus accumbens and its relevance to depression and antidepressant action in rodents. *Curr Neuropharmacol*, 4(4); 277-91.

47. Simon, A.B., Gorman, J.M. (2006). Advances in the treatment of anxiety: targeting glutamate. *NeuroRx*, 3(1); 57-68.

48. Spano, P.F., Govoni, S., Trabucchi, M. (1978). Studies on the pharmacological properties of dopamine receptors in various areas of the central nervous system. *Adv Biochem Psychopharmacol*, 19; 155-65.

49. Stevenson, C.W., Gratton, A. (2003). Basolateral amygdala modulation of the nucleus accumbens dopamine response to stress: role of the medial prefrontal cortex. *Eur J Neurosci*, 17(6); 1287-95.

50. Takahata, R., Moghaddam, B. (2003). Activation of glutamate neurotransmission in the prefrontal cortex sustains the motoric and dopaminergic effects of phencyclidine. *Neuropsychopharmacology*, 28(6); 1117-24.

51. Timothy, C., Costall, B., Smythe, J.W. (1999). Effects of SCH23390 and raclopride on anxiety-like behavior in rats tested in the black-white box. *Pharmacol Biochem Behav*, 62(2); 323-7.

52. Vidal-Gonzalez, I. (2006). Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learn Mem*, 13(6); 728-33.

53. Wall, P.M. (2004). Infralimbic D1 receptor agonist effects on spontaneous novelty exploration and anxiety-like defensive responding in CD-1 mice. *Behav Brain Res*, 152(1); 67-79.

54. Wang, W. (2012). Regulation of prefrontal excitatory neurotransmission by dopamine in the nucleus accumbens core. *J Physiol*, 590(pt 16); 3743-69.

55. Zarrindast, M.R. (2006). Repeated administration of dopaminergic agents in the nucleus accumbens and morphine-induced place preference. *Behav Brain Res*, 169(2); 248-55.

56. Zarrindast, M.R. (2008). Activation of dopamine D1 receptors in the medial septum improves scopolamine-induced amnesia in the dorsal hippocampus. *Behav Brain Res*. 229(1); 68-73.

57. Zarrindast, M.R. (2007). Nicotine-induced anxiogenic-like behaviours of rats in the elevated plus-maze: possible role of NMDA receptors of the central amygdala. *J Psychopharmacol*, 26(4); 555-63.

58. Zarrindast, M.R. (2001). Effects of cholinergic system of dorsal hippocampus of rats on MK-801 induced anxiolytic-like behavior. *Neurosci Lett*, 505(2); 65-70.

59. Zarrindast, M.R. (2010). The effects of dopaminergic drugs in the ventral hippocampus of rats in the nicotine-induced anxiogenic-like response. *Neuroscience Letters*, 475; 156-160.

