

بررسی برهم کنش سیستم دوپامینی D1 پوستهاکومبنس 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 فیزیولوژیچانوری 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 اکومبنس در تنظیم رفتارهای شبه اضطرابی نقش دارند. فعالیت سیستم دوپامینی هسته اکومبنس با ورودی‌های گلوتاماتی که عمدتاً از پری فرونتال می‌آید، تنظیم می‌شود. این مطالعه به بررسی برهم-کنش سیستم دوپامینی D1 پوسته اکومبنس 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* (آنتاگونیست گیرنده D1)، *NMDA* (آکونیست گیرنده N-متیل-D-آسپاراتات)، *D-AP7* (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده *NMDA*) با دوزهای متفاوت، استفاده شد.

یافته‌ها: تزریق طرفه *0/9 NMDA* ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) در پری لیمبیک طرف چپ موجب کاهش رفتارهای شبه اضطرابی نسبت به گروه کنترل شد، در صورتی که دوزهای به کاررفته *0/1,5 D-AP7* ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) 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 کاررفته *SCH23390* ($0/25$ و $0/1,5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) به پوسته اکومبنس طرف چپ تأثیری بر رفتارهای شبه اضطرابی نداشت، معهداً، تزریق *SKF38393* ($3 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) در همین ناحیه موجب بروز رفتارهای شبه اضطراب زدا شد، که این اثر با تزریق دوز بی اثر *SCH23390* ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) $0/25$ متوقف گردید. به کارگیری دوز بی اثر *SKF38393* ($1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) در پوسته اکومبنس موجب تقویت اثر دوز پایین *NMDA* و کاهش پاسخ دوز بالای آن در پری لیمبیک شد. در نهایت، تزریق دوز بی اثر *SCH23390* ($0/25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) در پوسته اکومبنس طرف چپ موجب کاهش پاسخ اضطراب زدایی *NMDA* در پری لیمبیک گردید.

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

واژه های کلیدی: پوسته اکومبنس، پری لیمبیک، رفتارهای شبه اضطرابی، سیستم دوپامینی، سیستم گلوتاماتی.

مقدمه

به طور عمده به دو گروه به نام شبه D1 (D1) و شبه D2 (D2) شامل D1 و D5 و شبه D2 (D2) 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 به ویژه در نواحی انتهایی سیستم مزواستریاتال یعنی پوتامن، سیستم لیمبیک، هسته دم دار، هسته اکومبنس، توبرکول بویایی و هم چنین در جسم سیاه، عقده‌های قاعده‌ای، کورتکس مغزی، هیپوتالاموس و تالاموس می‌باشد (3، 12، 48).

از علل اضطراب، تغییر در سطح برخی نوروترانسمیترها و اتصال آن‌ها به گیرنده‌هایشان می‌باشد. دوپامین یکی از فعال‌ترین تعدیل کننده‌های 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*

نوروترانسمیتر تحریکی اصلی در مغز به ویژه در 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 رفتار شناختی برای درمان کنترل اضطراب به کار روند (14). اصطلاح استریاتوم شکمی (*Ventral striatum*) اولین بار در سال 1973 به وسیله *Wilson* و *Heimer* مطرح شد. این ناحیه شامل توبرکول بویایی و هسته اکومبنس است. هسته اکومبنس بزرگ ترین بخش استریاتوم شکمی می باشد (24). امروزه هسته اکومبنس 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 اکومبنس 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

اکومبنس، بقایای تشکیلات استریاتوم باشد، در صورتی 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 شکمیکه عمدتاً دوپامینی است به هردو بخش هسته اکومبنس 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 اکومبنس و نیز افزایش خروجی نورون های مهاری گابا آرژیک 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 خروجیاز 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 اکومبنسی رود و برگشت آن از مسیر پوسته اکومبنس-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 اکومبنس 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 اکومبنسو یا غیر مستقیم از طریق تگمنتوم شکمی صورت می گیرد. هم چنین تغییر در

از ساعت 7 صبح) نگهداری می‌شدند. از غذای فشرده 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 زایلین *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 زایلین) 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 مجمه $DV = -5/5 mm$ (شکمی - پستی)} و پری لیمبیک طرف چپ از نقطه برگما { mm $+3/2$ (قدامی - خلفی) از خط وسط $ML = +0/7mm$ (میانی - جانبی) از سطح مجمه $mm -2/5$ (شکمی - پستی)} رابه‌دست آورده و کانول‌های

سیستم‌های نوروترانسمیتری، از جمله سیستم دوپامینی هسته آکومبسن، با تحریک و یا مهار گیرنده‌های آن‌ها که روی خروجی اصلی گابا آرژیک هسته آکومبسن 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 آکومبسن تا حدی وابسته به تحریک هم‌زمان گیرنده‌های *NMDA* در همین ناحیه است. هم‌چنین ناحیه شکمی قشر پری فرونتال نورون‌هایی را به بخش‌های پستی و میانی پوسته آکومبسن 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 آکومبسن در تنظیم و مدیریت ترس، اضطراب، افسردگی و نقش سیستم‌های 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 صحرایی 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 280-250 گرم استفاده شد. جانوران در گروه‌های 8 تایی در قفس‌هایی به ابعاد (15×26×42 سانتی‌متر)، در شرایط محیطی ثابت (22 ± 2 درجه سانتی‌گراد) و تنظیم نور به صورت دوره‌های 12 ساعت روشنایی - تاریکی (روشنایی

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 لبهیک 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 عملروی دو پا ایستادن نباشد. کف بازوها از جنس پلاستیک و به رنگ سیاه می‌باشد. دستگاه توسط پایه‌ای با ارتفاع 80 سانتی‌متر 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

راهنما با ضخامت 22 گیج در نقاط مورد نظر (طوری که 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 سر سوزن 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 اکومینس 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 Plus 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

مختلف $SCH23390$ (0/25، 0/5 و 1 میکروگرم در میکرولیتر)، سه گروه آزمایشی دیگر دوزی 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 $D-AP7$ (0/25، 0/5 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 اولدوزهای مختلف $SKF38393$ (1، 3 و 4 میکروگرم در میکرولیتر)، سه گروه آزمایشی دوم دوزهای

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

بررسی برش‌های بافتی به منظور تعیین موقعیت محل تزریق

در انتهای آزمون و به منظور تایید محل تزریق داروها، ابتدا موش‌ها با کلروفرم کشته و محلول متیلن بلو 1% با حجم 0/3 و 0/5 میکرولیتر به ترتیب در نواحی پوسته اکومینس و پری لیمبیک چپ تزریق شد، سپس سر موش‌ها 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 ویبروسلایس، مغزها با ضخامت 40 میکرومتری برش و در ادامه محل کاشت کانول‌ها و تزریق دارو با استفاده از دستگاه استریومیکروسکوپ بررسی و اشکالات باطلس پاکسینوس و واتسون مقایسه شد (49). داده‌های مربوط به موش‌هایی که کانول‌ها به صورت مطلوب در مراکز مورد نظر قرار داده نشده بود از تحلیل‌های آماری حذف گردید.

تحلیل آماری

داده‌های به دست آمده در نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل آماری شده. به علت این که داده‌ها 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 معنی‌دار بودن عدد F ، با آنالیز $Post Hoc Tukey$ ، معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌های آزمایشی بررسی گردید. $P < 0/05$ به عنوان سطح تفاوت معنی‌دار گروه‌ها مورد ملاک قرار می‌گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار $Sigma Plot$ صورت گرفت.

نتایج

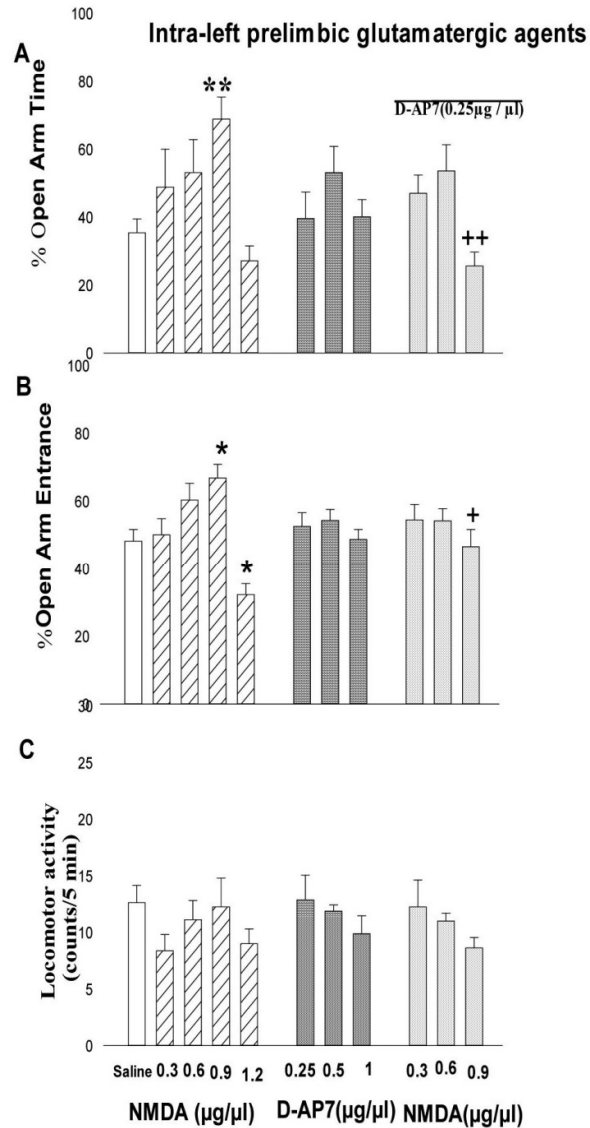
1- بررسی تاثیر تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ در غیاب و حضور AP7D بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرائی نو

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 معنی‌دار $[F(4,35)=4/4, P < 0/01 \% OAT]$ و $[F(4,35)=10/5, P < 0/001 \% OAE]$ (نمودار A-1) و $[F(4,35)=1/17, P > 0/05]$ در تغییر در فعالیت حرکتی (نمودار B-1) جانوران نسبت به گروه کنترل شد. لیکن در تغییر در $[F(4,35)=1/17, P > 0/05]$ (نمودار C-1) ایجاد نشد. نتایج نشان می‌دهد که NMDA تزریق شده در این ناحیه مغزی از موش صحرائی موجب کاهش رفتار شبه اضطرابی می‌شود. با این حال افزایش دوز NMDA به $1/2 \mu g/\mu l$ باعث کاهش OAE می‌شود، که بیان‌گر اثر اضطراب‌زایی این دارو در دوز بالاتر است. هم‌چنین نتایج تحلیل واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که تزریق دوزهای به کار رفته $D-AP7$ در ناحیه پری لیمبیک طرف چپ تغییری در هیچ کدام از پارامترهای $[F(3,28)=1/4, P > 0/05 \% OAT]$ (نمودار A-1)، $[F(3,28)=0/9, P > 0/05 \% OAE]$ (نمودار B-1) و فعالیت حرکتی $[F(3,28)=0/7, P > 0/05]$ (نمودار C-1) موش‌های مورد آزمایش نسبت به گروه کنترل ایجاد نمی‌کند. نتایج نشان داد که مهار گیرنده‌های 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 دوزی اثر 0/25 میکروگرم در میکرولیتر $D-AP7$ در پری لیمبیک طرف چپ موجب کاهش پاسخ NMDA روی OAT -] $P < 0/01$ $(3,56)=4/4$ دوز \times دارو F ، $P > 0/05$

اکومینس طرف چپ تغییریمعنی دار در هیچ کدام از پارامترهای $[F(3,28)=2/3, P>0/05\%OAT]$ (نمودار B-2)، $[F(3,28)=1/6, P>0/05\%OAE]$ (نمودار A-2) و فعالیت حرکتی $[F(3,28)=1, P>0/05]$ (نمودار C-2) (موش های مورد آزمایش نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد. نتایج نشان می دهد که مهار گیرنده های D1 در این ناحیه مغزی از موش صحرائی بر رفتار شبه اضطرابی تاثیر معنی دار ندارد. تحلیل واریانس دوطرفه و *Post hoc Tukey* نشان داد که تزریق دوزی اثر $(0/25\mu g/\mu)$ SCH23390 در پوسته اکومینس طرف چپ موجب کاهش پاسخ ایجاد شده توسط دوز مؤثر SKF38393 روی $[P>0/05, F(56,3)=3/8, P<0/05\%OAT]$ (نمودار A-2) می شود، در صورتی که تغییری در $[P>0/05, F(56,3)=1/6, P>0/05\%OAE]$ (نمودار B-2) و فعالیت حرکتی $[F(56,3)=0/5, P>0/05]$ (نمودار C-2) وجود ندارد. نتایج بیان گر اثر مهار تری تزریق SCH23390 بر پاسخ اضطراب زدایی SKF38393 در پوسته اکومینس است.

$F(56,3)=1/5, P>0/05]$ (نمودار A-1) و $[F(3,56)=4/1, P<0/01\%OAE]$ (نمودار B-1) می شود، در صورتی که برهم کنش این داروها تغییری معنی دار در فعالیت حرکتی $[F(3,56)=1/6, P>0/05]$ (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 صحرائی نو
تحلیل واریانس یکطرفه و *Post hoc Tukey* نشان داد که تزریق دوز $3\mu g/\mu l$ از SKF38393 در پوسته اکومینس طرف چپ موجب افزایش معنی دار $[F(3,28)=2/9, P<0/05\%OAT]$ (نمودار A-2) حیوانات نسبت به گروه کنترل شد، در حالی که تغییری معنی دار در $[F(3,28)=1/6, P>0/05\%OAE]$ (نمودار B-2) و فعالیت حرکتی $[F(3,28)=0/6, P>0/05]$ (نمودار C-2) ایجاد نکرد. نتایج نشان داد که تحریک گیرنده های D1 در این ناحیه مغزی از موش صحرائی موجب بروز رفتارهای شبه اضطراب زدا می شود. هم چنین تحلیل واریانس یکطرفه و *Post hoc Tukey* نشان داد که تزریق دوزهای مختلف SCH23390 ($1\mu g/\mu l$ و $0/0,25/5$) در پوسته



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 دوره‌های مختلف *NMDA* (0/9، 1/2، 0/9، 0/6، 0/3، 0/1) ، وسط نمودار اثر تزریق دوره‌های مختلف *D-AP7* (0/9، 0/6، 0/3، 0/1) را نشان می‌دهد. و طرفی‌پایین نمودار، اثر تزریق دوز می‌اثر *D-AP7* (0/25) قبل از دوره‌های مختلف *NMDA* (0/9، 0/6، 0/3) را نشان می‌دهد. پارامترهای سنجش شده شامل %OAT، %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 + $P < 0/05$ ، ++ $P < 0/01$ 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.

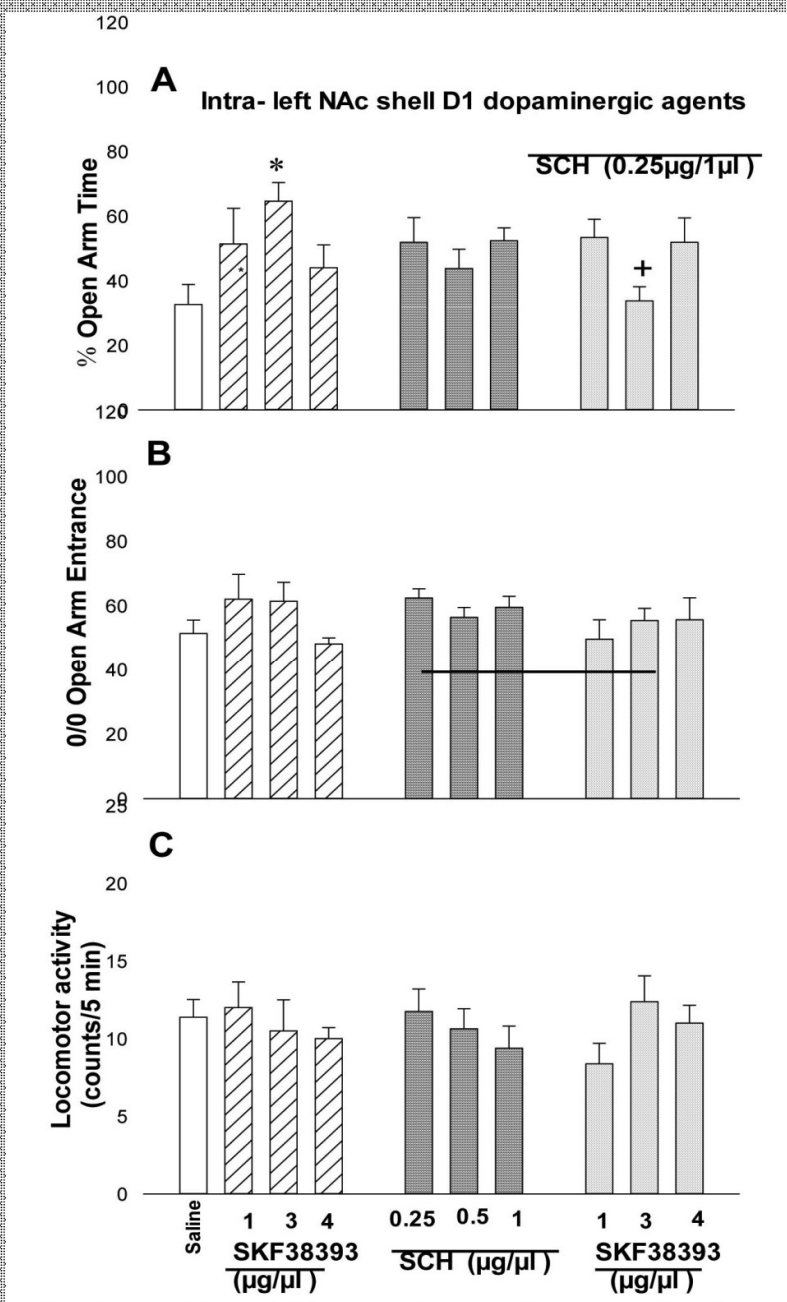
$F(56,3)=2/3$ $P;>0/05$ %OAE] دارو $F(56,3)=4/9$ $P;<0/01$ ،
 $F(56,1)=1/1$ $P;>0/05$ (نمودار B-4 سمت پائین)
 و فعالیت حرکتی $F(56,3)=1/8$ $P;>0/05$] دارو $F(56,3)=0/3$ $P;>0/05$ ،
 $F(56,1)=0/9$ $P>0/05$ (نمودار C-4 - سمت
 پائین) تغییری ایجاد نمی‌کند. نتایج بیان‌گر کاهش
 اضطراب زدایی NMDA در ناحیه پری‌لیمبیک به علت
 مهار گیرنده‌های D1 در پوسته اکومبسن ناشی از تزریق
 SCH23390 است.

بحث و نتیجه‌گیری

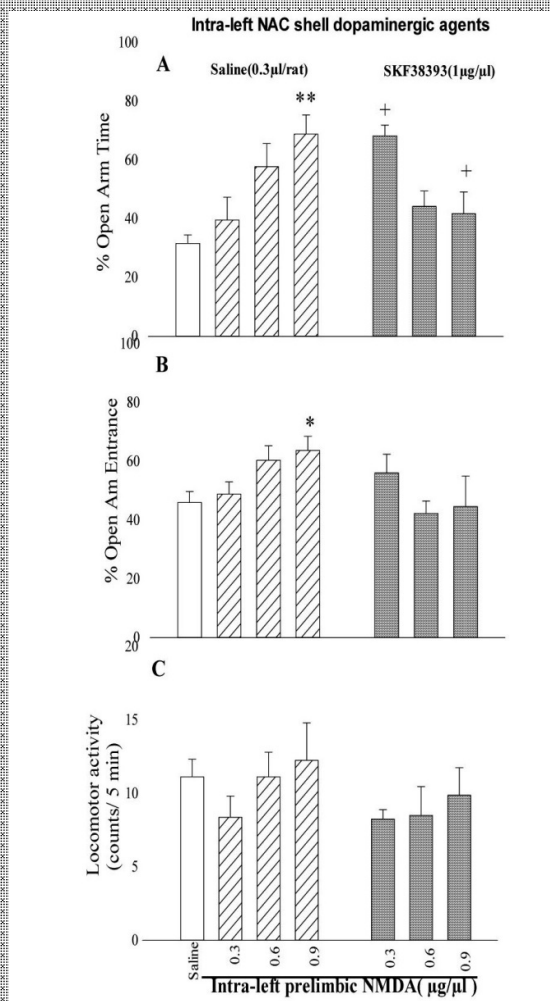
بررسی تاثیر تزریق NMDA در ناحیه پری‌لیمبیک
 طرف چپ، در حضور و غیاب D-AP7 بر رفتارهای شبه
 اضطرابی در موش صحرایی نر
 آیا تحریک گیرنده‌های یونوتروپیک گلوتاماتی در
 ناحیه پری‌لیمبیک می‌تواند با تغییر در رفتارهای شبه
 اضطرابی در جانوران مرتبط باشد؟ نتایج به دست آمده از
 مطالعه حاضر نشان داد که تزریق NMDA 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 زدای 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 صحرایی نر
 تحلیل واریانس دوطرفه و *post hoc Tukey* نشان داد
 که تزریق دوزی اثر $1\mu\text{g}/\mu$ 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% $P;<0/01$]
 $F(56,3)=3/2$ $P;<0/01$ ، دارو $F(56,3)=5/3$ $P;<0/01$ ،
 $F(56,1)=0/2$ $P;>0/05$ (نمودار A-3 سمت پائین)
 می‌شود، در صورتی که برهم‌کنش ذکر شده اثری معنی-
 دار روی OAE% $F(56,3)=4/5$ $P;<0/01$ ، دارو $F(56,3)=0/2$ $P;>0/05$ ،
 $F(56,1)=1/1$ $P;>0/05$ (نمودار B--3 سمت
 پائین) و فعالیت حرکتی $P;>0/05$]
 $F(56,3)=0/5$ $P;>0/05$ ، دارو $F(56,3)=1/4$ $P;>0/05$ ،
 $F(56,1)=0/8$ $P;>0/05$ (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
 پری‌لیمبیک است.

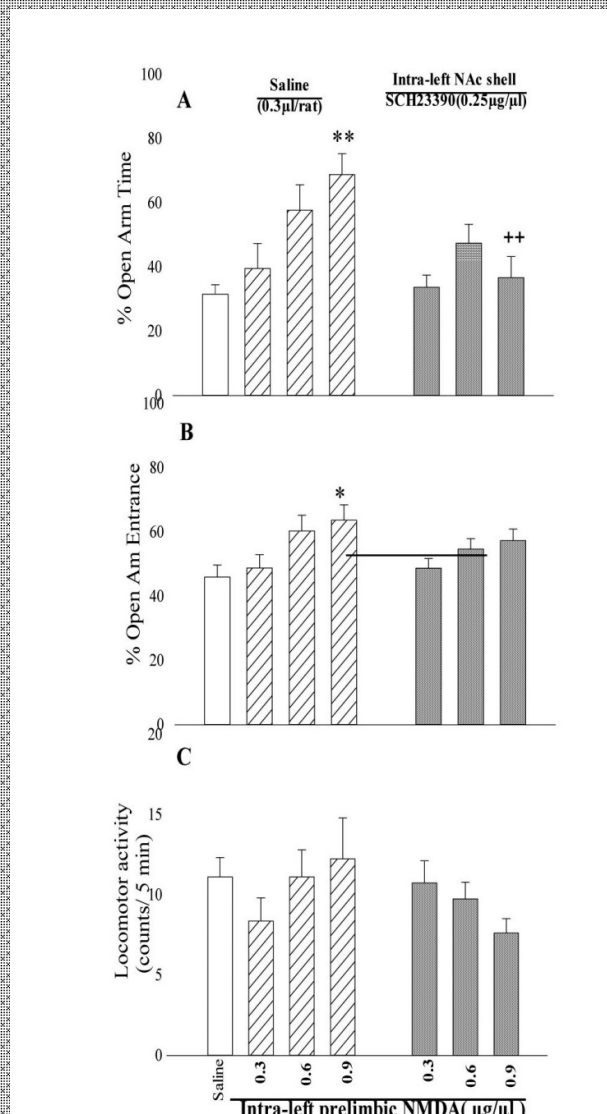
4- بررسی برهم‌کنش تزریق SCH23390 در پوسته
 اکومبسن طرف چپ بر اثرات تزریق NMDA در ناحیه
 پری‌لیمبیک طرف چپ روی رفتارهای شبه اضطرابی در
 موش بزرگ آزمایشگاهی
 تحلیل واریانس دوطرفه و *post hoc Tukey* نشان
 داد که تزریق دوزی اثر $25\mu\text{g}/\mu$ SCH23390 در
 پوسته اکومبسن طرف چپ موجب کاهش پاسخ دوز
 بالای NMDA در ناحیه پری‌لیمبیک روی OAT%]
 $F(56,3)=4/4$ $P;<0/01$ ، دارو $F(56,3)=4/3$ $P;<0/01$ ،
 $F(56,1)=4/3$ $P;<0/05$ (نمودار A-4 - سمت
 پائین) می‌شود، در صورتی که این برهم‌کنش روی



نمودار 2- اثر تزریق *SCH23390*، *SKF38393* و بوهم 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 ، 4 و $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$)، وسط نمودار اثر تزریق دوزهای مختلف *SCH23390* (0.25 ، 0.5 و $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) و طرف پایین نمودار، اثر تزریق دوزهای مختلف *SKF38393* (1 ، 3 ، 4 و $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) را نشان می‌دهد. پارامترهای سنجش شده شامل *%OAT*، *%OAE* و *Locomotor 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 گروه‌هایی که فقط *SKF38393* دریافت کردند).



نمودار 3- اثر برهم کنش تزریق *NMDA* در ناحیه پری لیمبیک با *SKF38393* در پوسته اکومینس بر رفتار شبه اضطرابی در موش بزوفک آزمایشگاهی. سمت بالانمودار با اثر تزریق دوزهای مختلف *NMDA* (0/0.3/6 و 0/9 µg/µl) در ناحیه پری لیمبیک ، و طرف بایتنمودار، اثر برهم کنش تزریق دوزی اثر *SKF38393* (1 µg/µl) در پوسته اکومینس قبل از دوزهای مختلف *NMDA* در ناحیه پری لیمبیک را نشان می دهد. پارامترهای سنجش شده شامل *Locomotor activity* و %OAE و %OAT 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 گروههایی که فقط *NMDA* دریافت کردند).



نمودار 4- اثر برهم کنش تزریق NMDA در ناحیه پری لیمبیک با SCH23390 در پوسته اکومینس بر رفتار شبه اضطرابی در موش بزرگ آزمایشگاهی سمت بالانمودار اثر تزریق دوزهای مختلف NMDA (0، 0.3، 0.6، 0.9 µg/µl) در ناحیه پری لیمبیک، و طرفیانشمودار اثر تزریق دوزی اثر SCH23390 (0.25 µg/µl) در پوسته اکومینس 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 سالیین و P<0/01++ در مقایسه با گروههایی که فقط NMDA در یافت 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 همیانتاگونوست 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 صحرايي

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). فعال‌سازی 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 بی‌اثر *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 بی‌اثر *SKF38393* در پوسته

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 *1(DSKF-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 اکومینس، به ترتیب موجب کاهش و عدم تغییر در رفتارهای شبه اضطرابی می شود. 3- تزریق دوز بی اثر SKF38393 در پوسته اکومینس موجب تقویت اثر دوز پایین NMDA در پری لیمبیک شده، در صورتیکه پاسخ دوز بالای آن را مهار می کند.

تشکر و قدردانی

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

اکومینس با دوزهای بیشتر و کمتر NMDA در ناحیه پری- لیمبیک ممکن است مرتبط با میان کنش اثر وابسته به دوز این داروها در این دو ناحیه مغزی باشد. همچنین تزریق دوز بی اثر SCH23390 در پوسته اکومینس 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

1. 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
2. Andersen, P.H. (1990). Dopamine receptor subtypes: beyond the D1/D2 classification. *Trends Pharmacol Sci*, 11(6); 231-6.
3. Andersen, P.H., Jansen, J.A. (1990). Dopamine receptor agonists: selectivity and dopamine D1 receptor efficacy. *Eur J Pharmacol*, 188(6); 335-47.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Cortese, B.M., Phan, K.L. (2005). The role of glutamate in anxiety and related disorders. *CNS Spectr*, 10(10); 820-30.
8. 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.
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.
10. 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.
11. Garpenstrand, H. (2001). Human fear conditioning is related to dopaminergic and serotonergic biological markers. *Behav Neurosci*, 115(2); 358-64.
12. Gingrich, J.A., Caron, M.G. (1993). Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu Rev Neurosci*, 16; 299-321.
13. 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.
14. 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.
15. 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); 1115-37.
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.