

## اثرات سیستم کولینرژیک آمیگدال در کنترل میزان اضطراب رتها در تست ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع

جلال صولتی<sup>۱</sup>، دکتر شهربانو عریان<sup>۲</sup>، دکتر کاظم پریور<sup>۳</sup>، دکتر محمدرضا زرین دست<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی کرج، واحد علوم و تحقیقات، کرج، ایران (مؤلف مسؤول) تلفن: ۰۲۶۱-۴۴۱۸۱۴۳- solati@kiau.ac.ir

۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران، تهران، ایران

۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۴- استاد، گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** اضطراب یک اختلال بسیار شایع می‌باشد که بسیاری از افراد جامعه را مبتلا می‌سازد و با اختلالات فیزیولوژیک و رفتاری همراه است. مطالعات قبلی نشان دهنده نقش نرونها و گیرنده‌های کولینرژیک مغز در واسطه‌گری اضطراب می‌باشد. در تحقیق حاضر اثرات سیستم کولینرژیک آمیگدال بر روی رفتارهای اضطرابی بررسی شده است.

**روش بررسی:** در این پژوهش محل آمیگدال با استفاده از دستگاه استرنوتاکسی بر روی موش‌های مورد بررسی پیدا گردیده و کانول‌های راهنما دقیقاً در همان محل نصب گردید. داروهای مورد نظر با استفاده از کانول تزریقی داخل ناحیه مرکزی آمیگدال تزریق شدند و اثرات گیرنده موسکارینی و نیکوتینی استیل کولین در آمیگدال مرکزی در کنترل اضطراب موشهای صحرایی نر بالغ با استفاده از تست ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع بررسی گردید.

**یافته‌ها:** تزریق دو طرفه فیزوستگمین (دوز ۲ میکروگرم) به آمیگدال مرکزی باعث کاهش درصد زمان سپری شده و درصد دفعات ورود به بازوی باز ( $p < 0.05$ ) می‌شود که نشان دهنده افزایش سطح اضطراب می‌باشد. تزریق دو طرفه آنتاگونیست گیرنده موسکارینی، پیلوکارپین (دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم) اثرات معنی‌داری بر رفتارهای اضطرابی ( $p > 0.05$ ) ندارد. تزریق دو طرفه نیکوتین (دوزهای ۱ و ۲ میکروگرم) به آمیگدال مرکزی باعث کاهش درصد زمان سپری شده و درصد دفعات ورود به بازوی باز ( $p < 0.05$ ) می‌شود که نشان دهنده افزایش سطح اضطراب می‌باشد. تزریق دو طرفه مکامیل آمین (دوزهای ۲۰، ۳۰ و ۵۰ نانو گرم) آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی باعث بروز اثرات ضد اضطرابی معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) می‌شود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج بدست نشان می‌دهد که گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی آمیگدال در کنترل اضطراب نقش دارند

**کلید واژه‌ها:** آمیگدال، نیکوتینی، موسکارینی، اضطراب، موش صحرایی

وصول مقاله: ۸۷/۸/۲۱ اصلاح نهایی: ۸۸/۱/۲۴ پذیرش مقاله: ۸۸/۲/۲

### مقدمه

فشرددگی قفسه سینه، احساس تنگی و فشرددگی در گلو، اشکال در تنفس، پش قلب، گیجی، آشفتگی روانی و عرق کردن همراه است (۱). مطالعات قبلی نشان داده است قسمت‌های مختلف مغز در واسطه‌گری اضطراب نقش دارند که از مهمترین آنها، آمیگدال، هیپوتالاموس،

اضطراب یکی از شایع‌ترین اختلالات روانی است که تعداد زیادی از افراد جوامع مختلف را مبتلا می‌سازد. اضطراب یک احساس ناراحت‌کننده است که خطری نامعلوم و مبهم را تداعی می‌کند. این حالات ذهنی که همه ما بارها تجربه کرده‌ایم با علائم جسمی و بدنی مانند

بطوری که در تزریق محیطی، نیکوتین در دوزهای پائین باعث کاهش اضطراب و در دوزهای بالا باعث افزایش اضطراب می‌شود (۱۷). نروترانسمیترهای متفاوتی مانند نوراپی نفرین، سرتونین، استیل کولین، دوپامین و گابا در اعمال اثرات مختلف نیکوتین نقش دارند (۲۳-۸).

در پژوهش حاضر اثرات گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی آمیگدال مرکزی در واسطه‌گری رفتارهای اضطرابی موشهای صحرایی نر بالغ در تست ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع بررسی گردیده است.

### روش بررسی

**حیوانات:** موشهای صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن حدود ۲۰۰-۱۸۰ گرم از مؤسسه سرم سازی رازی تهیه گردیده و سپس در شرایط استاندارد خانه حیوانات تحت شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب و غذای کافی در تمام مدت به اندازه کافی در اختیار جانوران قرار گرفت.

**داروها:** تمامی داروهای مورد استفاده در این تحقیق که عبارت بودند از نیکوتین Nicotine (±)، مکامیل آمین Mecamylmine، فیزوستیگمین Physostigmine و پیلوکارپین Pilocarpine hydrochloride از شرکت سیگما تهیه گردیدند.

فیزوستیگمین، پیلوکارپین و مکامیل آمین در سالین ۰/۹٪ حل گردیده و برای تزریق مورد استفاده قرار می‌گرفتند. نیکوتین نیز در سالین حل می‌گردید و سپس با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال PH آن به ۷/۲ رسانده می‌شد.

### ۲-۳- جراحی

حیوانها توسط تزریق درون صفاقی کتامین ۱۰٪ به میزان (۳ ml/kg) بیهوش شدند. برای جلوگیری از سفتی

هیپوکامپ و سپتوم را می‌توان نام برد (۳-۱). کمپلکس آمیگدال بخشی از دستگاه لیمبیک می‌باشد که در واسطه‌گری ترس و اضطراب دخالت دارد (۲،۱). مطالعات نشان داده‌اند که هسته‌های قاعده‌ای- جانبی آمیگدال نقش مهمی در ایجاد رفتارهای مرتبط با ترس و اضطراب و یادگیری دارد (۴،۳). آشکار شدن نقش آمیگدال قاعده‌ای- جانبی در کنترل ترس و اضطراب نشان دهنده وجود چرخه‌های عصبی مرتبط با رفتارهای اضطرابی در آمیگدال می‌باشد. تحقیقات اخیر نقش دیگر هسته‌های آمیگدال از جمله هسته‌های مرکزی را در کنترل اختلالات اضطراب آشکار ساخته است (۸-۵). گزارشها نشان دهنده حضور سیستم کولینرژیک و گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی در آمیگدال مرکزی می‌باشد (۹). گزارشهای قبلی نقش گیرنده موسکارینی را در کنترل رفتارهای اضطرابی نشان داده است. گیرنده موسکارینی در نواحی مختلف مغز اثرات متفاوتی را بر میزان اضطراب ظاهر می‌کند. فعال شدن گیرنده موسکارینی در ناحیه اینفرا لیمبیک باعث افزایش میزان اضطراب در موشها می‌گردد (۱۰).

اما همین گیرنده در ناحیه هیپوکامپ، زمانی که بوسیله استیل کولین فعال می‌شود باعث کاهش میزان اضطراب جانور می‌گردد (۱۱)، نیکوتین اثرات متفاوتی بر میزان اضطراب دارد. تزریق محیطی و مرکزی نیکوتین در حیوانات آزمایشگاهی در برخی از مطالعات باعث کاهش میزان اضطراب و در بعضی از مطالعات دیگر باعث افزایش میزان اضطراب می‌شود (۱۶-۱۲). اثرات نیکوتین بر اضطراب تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی مانند دوز مورد استفاده، زمان تست اضطراب و محل تزریق قرار می‌گیرد. برخی از تحقیقات نشان دهنده اثرات وابسته به دوز نیکوتین بر روی اضطراب می‌باشد،

راهنا ۲۲ گیج قرار داده و در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر از دارو به مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق می‌شد (۲۴,۲۵).

#### ۲-۵- گروهها

الف) گروه کنترل یا سالین (saline): موشهای این گروه تحت عمل جراحی و کاشت کانولا قرار گرفتند و ۱ میکرولیتر محلول سرم فیزیولوژیک را به عنوان حلال داروها دریافت نمودند.

ب) گروههای تجربی: موشهای این گروه تحت عمل جراحی و کاشت کانولا قرار گرفته و داروهای مورد نظر طی مراحل مختلف آزمایش در آمیگدال مرکزی آنها تزریق می‌شد.

آزمایش ۱- در این مرحله سه گروه از موشها فیزوستگمین مهارکننده استیل کولین استراز (فعال‌کننده گیرنده موسکارینی) را با دوزهای ۱، ۲، ۴ و ۸ میکروگرم بر موش دریافت کردند.

آزمایش ۲- در این آزمایش سه گروه از موشها پیلوکارپین آنتاگونیست گیرنده موسکارینی را با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم دریافت کردند.

آزمایش ۳- در این آزمایش چهار گروه از موشها نیکوتین آگونیست گیرنده نیکوتینی را با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم بر موش دریافت کردند.

آزمایش ۴- چهار گروه دیگر مکامیل آمین آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی را با دوزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ نانوگرم بر موش دریافت کردند.

این پژوهش از نوع بنیادی می‌باشد که به روش مشاهده آزمایشگاهی صورت گرفته و در هر گروه تیماری ۷ عدد موش وجود داشت.

#### ۲-۶- تست رفتاری

برای سنجش اضطراب مدل رفتاری Elevated plus-maze مورد استفاده قرار گرفت. این ابزار از

عضلات در هنگام بیهوشی زایلین با کتامین به ترتیب با نسبت ۱ به ۵ قبل از تزریق مخلوط می‌شدند.

بعد از بیهوشی حیوان در دستگاه استریوتاکسی قرار می‌گرفت و با استفاده از اطلس پاکسینوس مشخصات منطقه آمیگدال مرکزی (CeA) مشخص می‌گردید ( $V = -7/2$ ,  $ML = \pm 4/1$ ,  $AP = -2/3$ ) چون این اعداد برای موشهای با برگما -لامبدا ۹ میلی‌متر است با استفاده از تناسب تمام اعداد مربوط به موشهای با فاصله برگما -لامبدا کمتر مشخص می‌شدند. سپس با استفاده از دستگاه استریوتاکسی دو کانول (۲۲ Gauge) به طول ۱۵ میلی‌متر در داخل سوراخهایی که قبلاً توسط مته ۰/۷ ایجاد شده بود قرار می‌گرفتند.

این کانولها یک میلی‌متر بالاتر از منطقه آمیگدال مرکزی قرار می‌گرفتند. کانولها با استفاده از سیمان دندان پزشکی بر سطح جمجمه محکم شده و برای جلوگیری از بسته شدن آنها یک سیم نازک استریل شده در داخل آنها قرار داده می‌شدند. بعد از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی داروها به حیوان ۵ تا ۷ روز استراحت<sup>۱</sup> داده می‌شد تا استرس و تخریب بافتی احتمالی که توسط جراحی صورت گرفته است از بین برود و حیوان به حالت عادی خود برگردد (۲۴,۲۵).

#### ۲-۴- تزریق درون مغزی دارو

برای تزریق دارو از کانول ۲۷ گیج دندانپزشکی به طول ۱۶ میلی‌متر استفاده می‌شد که یک میلی‌متر بزرگتر از کانول راهنا است و دقیقاً به آمیگدال مرکزی رسیده ولی به آن آسیب نمی‌زند. برای تزریق از سرنگ هامیلتون ۲ میکرولیتر استفاده شد و مراحل تزریق به این ترتیب بود که بعد از برداشتن سیم داخل کانول راهنا، سر سوزن ۲۷ گیج دندانپزشکی را در داخل کانول

1. Recovery

۲-۲- تحلیل آماری نتایج حاصل و رسم هیستوگرام‌ها  
سنجش‌های آماری بوسیله نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) صورت گرفته و سطح معنی‌داری داده‌ها در  $p < 0.05$  بررسی گردیده است و با استفاده از نرم افزار Excel، هیستوگرام‌های مربوطه ترسیم گردید.

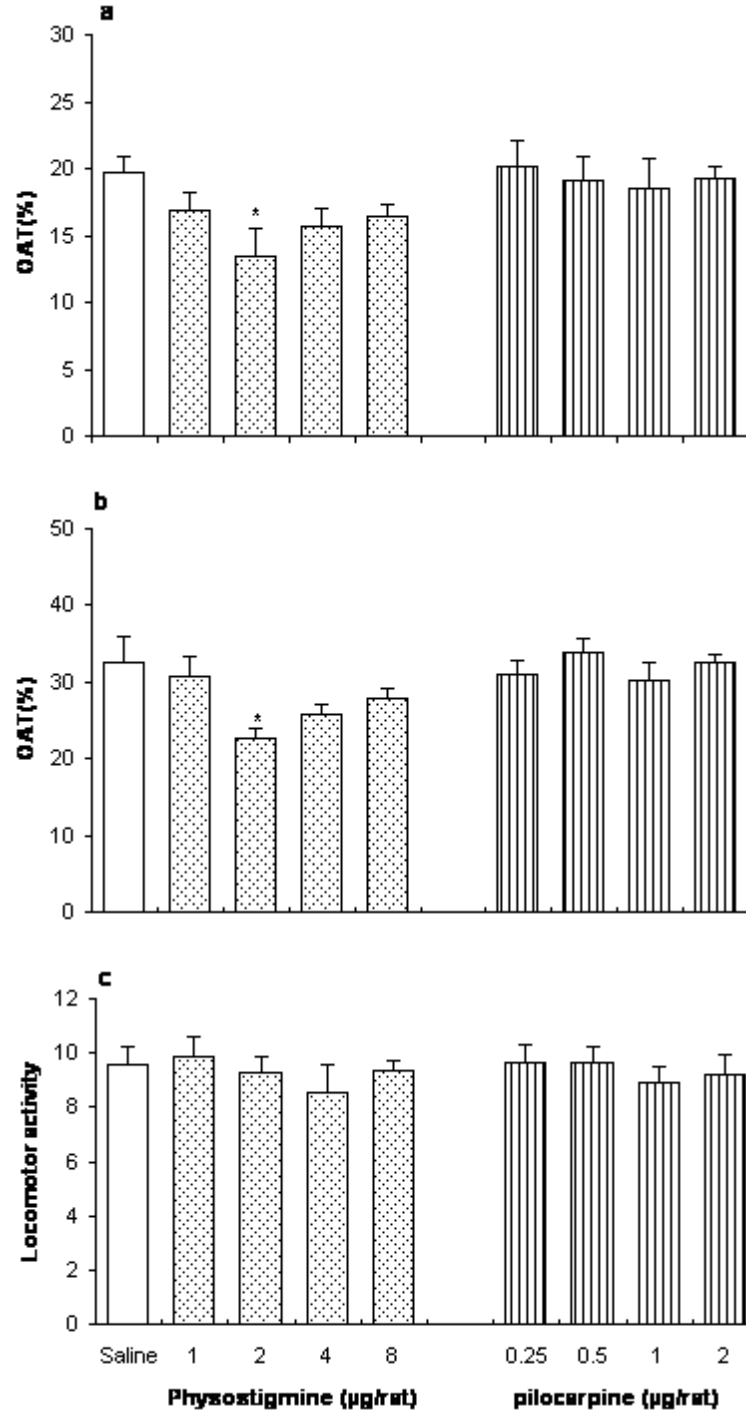
### یافته‌ها

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تزریق دو طرفه فیزوستگمین درون آمیگدال مرکزی در دوز ۲ میکروگرم بر موش باعث کاهش معنی‌دار در زمان سپری شده در بازوی باز، تعداد دفعات ورود به بازوی باز می‌شود ولی اثر معنی‌داری در میزان فعالیت‌های حرکتی موشها نداشته است (نمودار ۱). تزریق دو طرفه پیلوکارپین درون آمیگدال مرکزی تأثیر معنی‌داری بر زمان سپری شده در بازوی باز، تعداد دفعات ورود به بازوی باز و میزان فعالیت‌های حرکتی موشها نداشته است (نمودار ۱). آزمایشات انجام گرفته نشان داد که تزریق دو طرفه درون آمیگدال مرکزی نیکوتین، آگونیست گیرنده نیکوتینی استیل کولین با دوزهای ۱ و ۲ میکروگرم بر موش باعث کاهش معنی‌داری در درصد زمان سپری شده در بازوهای باز و درصد دفعات ورود به بازوهای باز نسبت به گروه کنترل می‌شود. هیچکدام از دوزهای نیکوتین تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت‌های حرکتی بوجود نمی‌آورند (نمودار ۲). تزریق دو طرفه درون آمیگدال مکامیل آمین، آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی با دوزهای ۲۰، ۳۰ و ۵۰ نانو گرم بر موش درصد زمان سپری شده در بازوی باز و درصد دفعات ورود به بازوهای باز را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد

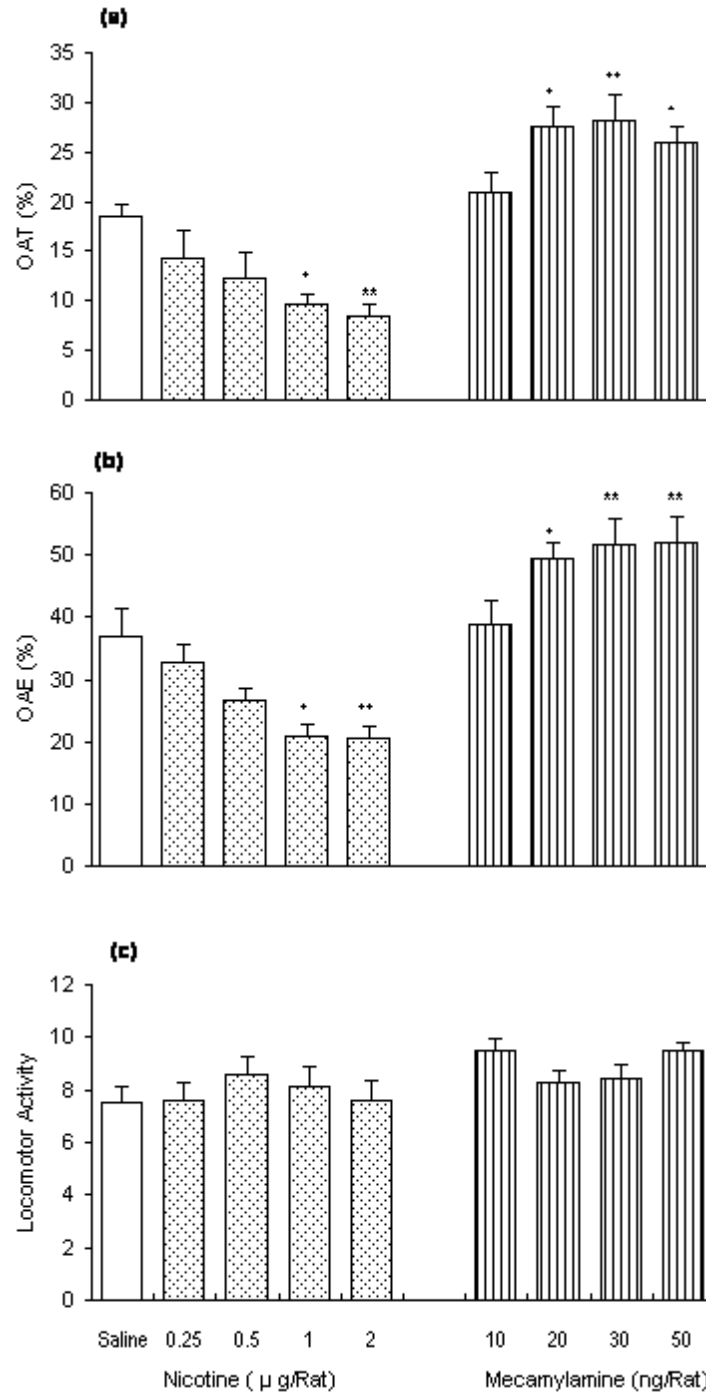
جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت مثبت (+) است. ابعاد راهروی باز و بسته  $50 \times 10$  cm بوده و دو طرف و انتهای راهروی بسته دیواره‌ای به بلندی ۴۰ cm داشته و برای جلوگیری از افتادن موش صحرایی (رت) در دو طرف و انتهای راهروی باز لبه‌ای به ارتفاع ۱ سانتیمتر از جنس شیشه نصب گردیده است. چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد  $10 \times 10$  سانتیمتر منتهی می‌شوند. maze توسط پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰ cm از سطح زمین قرار می‌گیرد. موش‌ها درون محدوده مرکزی maze (ماز) قرار داده می‌شوند، به طوری که رو به یک راهروی باز قرار می‌گیرند. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ وات که در ارتفاع ۱۲۰ سانتیمتری از مرکز maze قرار دارد، تأمین می‌شود. در مدت ۵ دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف maze حرکت می‌کند، برای هر حیوان پس از شمارش دفعات ورود به بازوهای باز و بسته و اندازه‌گیری زمان حضور حیوان در بازوهای باز و بسته با استفاده از کورنومتر، درصد ورود به راهروی باز<sup>۱</sup> (OAE%) و درصد زمان گذرانده شده در راهروی باز (OAT%)<sup>۲</sup> محاسبه گردید. میزان فعالیت‌های حرکتی<sup>۳</sup> نیز که عبارت بود از تعداد کل دفعات ورود به بازوی باز و بسته ماز، بواسطه مشاهده مستقیم اندازه‌گیری شد. منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می‌گیرد. زمان گذرانده شده در هر راهرو نیز بر همین اساس محاسبه شده است (۲۵،۲۶) تمام اندازه‌گیریها در محیطی بسیار آرام با نور ثابت (لامپ ۱۰۰ وات به ارتفاع ۱/۵ متر بالای ماز) و در ساعت ۳ بعدازظهر صورت گرفت (۲۴).

1. % Open Arm Entries  
2. % Open Arm Time  
3. Locomotor activity

ولی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت‌های ندارد (نمودار ۲).



نمودار ۱: اثرات تزریق دو طرفه فیزوستگمین (دوزهای ۱، ۲، ۴ و ۸ میکروگرم) و پیلوکارپین (دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم) در مقایسه با گروه‌های کنترل که یک میکرولیتر سالین دریافت کرده‌اند، بر روی درصد زمان سپری شده در بازوی باز (a)، درصد دفعات ورود به بازوی باز (b) و میزان فعالیت‌های حرکتی (c) در تست ماز بعلاوه‌ای مرتفع. هر ستون نشان دهنده Mean ± S.E.M می‌باشد. \*p<0.05



نمودار ۲: اثرات تزریق دو طرفه نیکوتین (دوزهای ۰/۲۵، ۱۰/۵ و ۲ میکروگرم) و مکامیل آمین (دوزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ نانوگرم) در مقایسه با گروه‌های کنترل که یک میکرولیتر سالین دریافت کرده‌اند، بر روی درصد زمان سپری شده در بازوی باز (a)، درصد دفعات ورود به بازوی باز (b) و میزان فعالیت‌های حرکتی (c) در تست ماز بعلاوه‌ای مرتفع. هر ستون نشان دهنده Mean ± S.E.M می‌باشد. \* $p < 0.05$  و \*\* $p < 0.01$

## بحث

گرفت که مهارگیرنده موسکارینی آمیگدال مرکزی تغییر در رفتارهای اضطرابی ایجاد نمی‌کند.

نتایج بدست آمده از این پژوهش آشکار ساخت که نیکوتین، آگونیست گیرنده نیکوتینی استیل کولین درصد زمان سپری شده در بازوهای باز و دفعات ورود به بازوی باز را در تست ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (EPM) کاهش می‌دهد ولی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت‌های حرکتی ندارد. از طرف دیگر مکامل آمین آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی درصد زمان سپری شده در بازوهای باز و دفعات ورود به بازوهای باز را افزایش می‌دهد، بدون اینکه میزان فعالیت‌های حرکتی را تغییر دهد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فعال شدن گیرنده نیکوتینی در آمیگدال مرکزی باعث ایجاد پاسخ‌های اضطرابی در موش صحرایی می‌شود.

اثرات نیکوتین بر اضطراب تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی مانند دوز مورد استفاده، زمان تست اضطراب و محل تزریق قرار می‌گیرد (۱۷،۳۰).

یافته‌های File و همکارانش در سال ۲۰۰۰ و Edward و همکارانش در سال ۲۰۰۷ اثرات ضد اضطرابی نیکوتین را آشکار ساخته است (۱۷،۳۱)، در حالی که مطالعات Jonkman و همکارانش در سال ۲۰۰۵، Martín-García و همکارانش در سال ۲۰۰۵، زرین دست و همکارانش در سال ۲۰۰۸ و Irvine و همکارانش در ۲۰۰۱، نشان داده است که نیکوتین باعث افزایش اضطراب می‌گردد (۱۶،۲۶،۳۲،۳۳).

تحقیقاتی که بر روی نواحی مختلف در دستگاه لیمبیک صورت گرفته، نشان دهنده نقش سیستم کولینرژیک این نواحی در کنترل رفتارهای اضطرابی می‌باشد (۱۷،۳۴). مطالعات زرین دست و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نشان دهنده نقش نیکوتین و سیستم

مطالعات قبلی نشان داده است که کمپلکس آمیگدال در کنترل رفتارهای هیجانی مانند ترس و اضطراب نقش مهمی دارد (۱،۲). آمیگدال بازولترال نقش مهمی در ترس و یادگیری ترس دارد (۳،۵،۷،۲۷). موریرا و همکارانش گزارش کرده‌اند که آمیگدال بازولترال در ارزیابی تحریک‌های مرتبط با ترس نقش دارد و آمیگدال مرکزی در رفتارهای مرتبط با ترس و اضطراب جانور در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع نقش دارد (۲۸). سیستم کولینرژیک در آمیگدال حضور داشته و در جنبه‌های مختلف رفتار جانوران نقش دارد. اخیراً نشان داده شده است که سیستم کولینرژیک آمیگدال در رفتار ترجیح مکان ایجاد شده بوسیله مورفین در موشها اثر دارد (۳۲). مطالعات انسانی و جانوری زیادی نشان داده است که سیستم کولینرژیک و گیرنده نیکوتینی در رفتارهای اضطرابی در نواحی مختلف مغز نقش دارند (۳۳،۳۴).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد فیزوستگمین با دوز ۲ میکروگرم بر موش باعث کاهش زمان سپری شده در بازوی باز و کاهش دفعات ورود جانور به بازوی باز می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تزریق فیزوستگمین به آمیگدال مرکزی باعث بروز رفتارهای اضطرابی در جانور می‌گردد. فیزوستگمین با مهار آنزیم استیل کولین استراز باعث افزایش سطح استیل کولین در مغز می‌شود (۲۹). فیزوستگمین همچنین باعث افزایش تحریک گیرنده موسکارینی می‌گردد. پیلوکارپین آنتاگونیست گیرنده موسکارینی اثر معنی‌داری بر زمان سپری شده در بازوی باز و دفعات ورود بر بازوهای باز نداشته است، بنابراین می‌توان نتیجه

### نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که فعالیت سیستم کولینرژیک آمیگدال مرکزی ممکن است در کنترل رفتارهای اضطرابی نقش داشته باشد. با توجه به اینکه مهارگیرنده موسکارینی اثری بر رفتارهای اضطرابی ندارد می‌توان گفت که استیل کولین در آمیگدال مرکزی از طریق گیرنده نیکوتینی باعث بروز رفتارهای اضطرابی می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

از گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران و گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج جهت همکاری‌های بعمل آمده در طی اجرای پژوهش کمال تقدیر و تشکر بعمل می‌آید.

گابارژیک هسته مرکزی آمیگدال در واسطه‌گری اضطراب می‌باشد (۲۶).

مطالعات انجام گرفته بر روی گیرنده‌های نیکوتینی در هیپوکامپ پشتی، مکانیسم عمل این گیرنده‌ها را در افزایش اضطراب آشکار ساخته است. در هیپوکامپ، نیکوتین باعث افزایش رهایی سرتونین می‌شود و با فعال کردن گیرنده‌های سرتونینی خصوصاً گیرنده 5HT1A اثرات خود را بر میزان اضطراب اعمال می‌کند (۱۷ و ۲۰).

نیکوتین در آمیگدال مرکزی نیز باعث افزایش اضطراب می‌گردد و یکی از مکانیسم‌های احتمالی آن می‌تواند افزایش رهایی سرتونین باشد، زیرا مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سیستم سرتونرژیک در آمیگدال حضور داشته و فعال شدن گیرنده 5HT1A در آمیگدال نیز باعث افزایش اضطراب می‌شود (۳۵).

### References

1. Bueno CH, Zangrossi H, Jr., Viana MB. The inactivation of the basolateral nucleus of the rat amygdala has an anxiolytic effect in the elevated T-maze and light/dark transition tests. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 1697-1701.
2. LeDoux J. The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cell Mol Neurobiol* 2003;23:727-738.
3. Davis M, Shi C. The extended amygdala: are the central nucleus of the amygdala and the bed nucleus of the stria terminalis differentially involved in fear versus anxiety? *Ann N Y Acad Sci* 1999; 877: 281-91.
4. LeDoux J. The amygdala and emotion: a view through fear. In: Aggleton JP ed, *The Amygdala*. New York: Oxford Univ 2000: 289-310.
5. Alheid G, De Olmos JS, Beltramino CA. Amygdala and extended amygdala. In: Paxinos G ed, *The Rat Nervous System*. New York, Academic, 1995: 485-578.
6. Davis M. The role of the amygdala in conditioned and unconditioned fear and anxiety. In: Aggleton JP (ed), *The Amygdala*, Vol 2. New York: Oxford University press; 2000: 213-287.
7. Wilensky AE, Schafe GE, Kristensen MP, LeDoux JE. Rethinking the fear circuit: the central nucleus of the amygdala is required for the acquisition, consolidation, and expression of Pavlovian fear conditioning. *J Neurosci* 2006; 26: 12387-12396.
8. Liebsch G, Landgraf R, Gerstberger R, et al. Chronic infusion of a CRH receptor antisense oligodeoxynucleotide into the central nucleus of the amygdala reduced anxiety-related behavior in socially defeated rats. *Regulatory peptides* 1995; 59: 229-239.
9. Sanford LD, Yang L, Tang X, et al. Cholinergic regulation of the central nucleus of the amygdala in rats: effects of local microinjections of cholinomimetics and cholinergic antagonists on arousal and sleep. *Neuroscience* 2006; 141: 2167-2176.
10. Wall PM, Flinn J, Messier C. Infralimbic muscarinic M1 receptors modulate anxiety-like behaviour and spontaneous working memory in mice. *Psychopharmacology* 2001; 155: 58-68.

11. File SE, Gonzalez LE, Andrews N. Endogenous acetylcholine in the dorsal hippocampus reduces anxiety through actions on nicotinic and muscarinic1 receptors. *Behavioral neuroscience* 1998; 112: 352-359.
12. Brioni JD, O'Neill AB, Kim DJ, Decker MW. Nicotinic receptor agonists exhibit anxiolytic-like effects on the elevated plus-maze test. *Eur J Pharmacol* 1993; 238: 1-8.
13. Cao W, Burkholder T, Wilkins L, Collins AC. A genetic comparison of behavioral actions of ethanol and nicotine in the mirrored chamber. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 1993; 45: 803-809.
14. Costall B, Kelly ME, Naylor RJ, Onaivi ES. The actions of nicotine and cocaine in a mouse model of anxiety. *Pharmacol, biochem and behavior* 1989;33:197-203
15. File SE, Kenny PJ, Ouagazzal AM. Bimodal modulation by nicotine of anxiety in the social interaction test: role of the dorsal hippocampus. *Behavioral neuroscience* 1998;112:1423-1429
16. Irvine EE, Cheeta S, File SE. Tolerance to nicotine's effects in the elevated plus-maze and increased anxiety during withdrawal. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 2001; 68: 319-325.
17. File SE, Kenny PJ, Cheeta S. The role of the dorsal hippocampal serotonergic and cholinergic systems in the modulation of anxiety. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 2000; 66: 65-72.
18. Balfour DJK. The neurochemical mechanisms underlying nicotine tolerance and dependence. In: Pratt JA ed, *The Biological Bases of drug Tolerance and Dependence*. New York: Academic Press; 1991: 121-33.
19. Fuxe K, Andersson K., Harfstrand A., Eneroth P., Mora M., Agnati L. F.. Effects of nicotine on synaptic transmission in the brain. In: Wonnacott S, Russell M.A.H., Stolerman I.P., ed, *Nicotine Psychopharmacology: Molecular, Cellular and Behavioural Aspects*. Oxford: Oxford Univ 1990: 194-225.
20. Kenny PJ, Cheeta S, File SE. Anxiogenic effects of nicotine in the dorsal hippocampus are mediated by 5-HT1A and not by muscarinic M1 receptors. *Neuropharmacology* 2000; 39: 300-307.
21. O'Neill AB, Brioni JD. Benzodiazepine receptor mediation of the anxiolytic-like effect of (-)-nicotine in mice. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 1994; 49: 755-757.
22. Summers KL, Giacobini E. Effects of local and repeated systemic administration of (-) nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine, and serotonin in rat cortex. *Neurochemical research* 1995; 20: 753-759.
23. Zarrindast MR, Homayoun H, Babaie A, Etmnani A, Gharib B. Involvement of adrenergic and cholinergic systems in nicotine-induced anxiogenesis in mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 407: 145-158.
24. Rezayat M, Roohbakhsh A, Zarrindast MR, Massoudi R, Djahanguiri B. Cholecystokinin and GABA interaction in the dorsal hippocampus of rats in the elevated plus-maze test of anxiety. *Physiology & behavior* 2005; 84: 775-782.
25. Zarrindast MR, Torabi M, Rostami P, Fazli-Tabaei S. The effects of histaminergic agents in the dorsal hippocampus of rats in the elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 2006; 85: 500-506.
26. Zarrindast M, Solati J, Oryan S, Parivar K. Effect of Intra-Amygdala Injection of Nicotine and GABA Receptor Agents on Anxiety-Like Behaviour in Rats. *Pharmacology* 2008; 82: 276-284.
27. Walker DL, Toufexis DJ, Davis M. Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. *European journal of pharmacology* 2003; 463: 199-216.
28. Moreira CM, Masson S, Carvalho MC, Brandao ML. Exploratory behaviour of rats in the elevated plus-maze is differentially sensitive to inactivation of the basolateral and central amygdaloid nuclei. *Brain research bulletin* 2007; 71: 466-474.
29. Rupniak NM, Tye SJ, Brazell C, et al. Reversal of cognitive impairment by heptyl physostigmine, a long-lasting cholinesterase inhibitor, in primates. *Journal of the neurological sciences* 1992; 107: 246-249.
30. Irvine EE, Cheeta S, File SE. Time-course of changes in the social interaction test of anxiety following acute and chronic administration of nicotine. *Behav Pharmacol* 1999; 10: 691-697.

31. Levin ED, Bencan Z, Cerutti DT. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. *Physiology & behavior* 2007; 90: 54-58.
32. Jonkman S, Henry B, Semenova S, Markou A. Mild anxiogenic effects of nicotine withdrawal in mice. *European journal of pharmacology* 2005; 516: 40-45.
33. Martin-Garcia E, Pallares M. Intrahippocampal nicotine and neurosteroids effects on the anxiety-like behaviour in voluntary and chronic alcohol-drinking rats. *Behav Brain Res* 2005; 164: 117-127.
34. Picciotto MR, Brunzell DH, Caldarone BJ. Effect of nicotine and nicotinic receptors on anxiety and depression. *Neuroreport* 2002; 13: 1097-1106.
35. Gonzalez LE, Andrews N, File SE. 5-HT1A and benzodiazepine receptors in the basolateral amygdala modulate anxiety in the social interaction test, but not in the elevated plus-maze. *Brain Res* 1996; 732: 145-153.