

The Modulatory Effects of Salbutamol in the Basolateral Nucleus of the Amygdala on Learning and Memory Impairments Induced by Foot-shock Stress in the Male Rat

Gholam Hossein Meftahi¹, Zahra Bahari² Mohammad Reza Afarinesh³, Boshra Hatf⁴

1. Associate Professor, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran., (Corresponding Author), Email: hossein.meftahi@bmsu.ac.ir, meftahi208@yahoo.com, Tel; 021-87554148, ORCID ID: 0000-0003-0665-186X.

2. Assistant Professor, Department of Physiology and Medical Physics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3205-1235.

3. Assistant Professor, Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. ORCID ID: 0000-0002-5122-9900.

4. Assistant Professor, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0002-2638-3463.

ABSTRACT

Background and Aim: Beta-adrenergic receptors in the basolateral nucleus of the amygdala (BLA) have been associated with stress, learning, and memory. In this study, we tested the effects of intra-BLA microinfusions of the β_2 -adrenergic receptor agonist, salbutamol, on spatial, passive avoidance memory and long-term potentiation (LTP) in the CA1 region of the hippocampus in response to stress.

Materials and Methods: Forty male rats were randomly divided into five groups (n=8/per group): control, sham, stress, salbutamol+control, and salbutamol+stress. Bilateral cannulation was performed in the BLA, by using stereotaxic apparatus. Then, the rats were transferred to the communication box and foot-shock stress induction continued for four consecutive days. Five minutes before stress, salbutamol (4 μ l/side) was injected bilaterally into the BLA. Barnes maze and shuttle box were examined for spatial and passive avoidance memory, respectively. The field potential recording was also used to investigate LTP in the CA1 neurons of the hippocampus.

Results: The results of the passive avoidance test showed that bilateral injection of salbutamol in the BLA five minutes before stress increased step-through latency time significantly compared to the stress group. Barnes maze results showed that intra-BLA microinfusions of salbutamol before stress, reduced the latency time, the number of errors, and the distance traveling to achieve the target hole compared to the stress group. Field potential recording revealed that salbutamol injection before stress decreased the population spike amplitude significantly and caused fEPSP slope 60 minutes after high-frequency stimulation compared to the stress groups.

Conclusion: It seems that the salbutamol in the BLA can improve memory deficits induced by stress.

Keywords: Barnes maze, β_2 -adrenergic receptors, Foot-shock Stress, Passive Avoidance Test, Salbutamol

Received: June 19, 2019

Accepted: July 9, 2019

How to cite the article: Gholam Hossein Meftahi, Zahra Bahari Mohammad Reza Afarinesh, Boshra Hatf. The Modulatory Effects of Salbutamol in the Basolateral Nucleus of the Amygdala on Learning and Memory Impairments Induced by Foot-shock Stress in the Male Rat. SJKU. 2021;26(1):53-71.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

اثرات تعدیلی سالبوتامول در هسته قاعده ای-جانبی آمیگدال بر اختلالات حافظه و یادگیری ناشی از استرس شوک الکتریکی کف پا در موش صحرایی نر

غلام حسین مفتاحی^۱، زهرا بهاری^۲، محمد رضا آفرینش^۳، بشری هاتف^۴

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران. (نویسنده مسئول)، پست الکترونیک: hosseini.meftahi@bmsu.ac.ir و

meftahi208@yahoo.com تلفن: ۰۲۱۸۷۵۵۴۱۴۸، کد ارکید: ۱۸۶۸-۰۶۶۵-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۲. استادیار، گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران. کد ارکید: ۱۲۳۵-۰۳۲۰۵-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۳. استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. کد ارکید: ۹۹۰۰-۵۱۲۲-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۴. استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران. کد ارکید: ۳۴۶۳-۲۶۳۸-۰۰۰۲-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: رسپتورهای بتا-آدرنرژیک در هسته قاعده ای-جانبی آمیگدال در ارتباط با استرس و حافظه و یادگیری می باشند. در مطالعه حاضر اثرات تزریق آگونیست رسپتورهای بتا-۲ آدرنرژیک، سالبوتامول، در هسته قاعده ای-جانبی آمیگدال به دنبال استرس بر حافظه فضایی، احترازی غیرفعال و تقویت طولانی مدت سیناپسی در نورون های CA1 هیپوکمپ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: چهل سر موش صحرایی نر بطور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند ($n=8$ در هر گروه): کنترل، شام، استرس، سالبوتامول+کنترل و سالبوتامول+استرس. در دستگاه استرنوتاکس کانول گذاری بصورت دوطرفه در هسته قاعده ای-جانبی آمیگدال انجام شد. سپس حیوانات در دستگاه جعبه ارتباطی قرار داده شدند و به مدت چهار روز تحت استرس شوک الکتریکی کف پا قرار گرفتند. پنج دقیقه قبل از استرس، سالبوتامول ($4 \mu l/side$) بصورت دوطرفه در ناحیه هسته قاعده ای-جانبی آمیگدال تزریق گردید. ماز بارنز و شاتل باکس به ترتیب برای بررسی رفتارهای حافظه فضایی و احترازی غیرفعال مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی تقویت طولانی مدت در نورون های CA1 هیپوکمپ از ثبت پتانسیل میدانی استفاده گردید.

یافته ها: نتایج حافظه احترازی غیرفعال نشان داد که تزریق دوطرفه سالبوتامول در ناحیه هسته قاعده ای-جانبی آمیگدال پنج دقیقه قبل از استرس افزایش معنی داری را در زمان تاخیر نسبت به گروه استرس نشان داد. تزریق سالبوتامول در هسته قاعده ای-جانبی آمیگدال قبل از استرس زمان رسیدن، مسافت و تعداد خطاها در رسیدن به سوراخ هدف را در تست بارنز بطور معنی داری نسبت به گروه استرس کاهش داد. نتایج ثبت پتانسیل میدانی نشان داد که تزریق سالبوتامول قبل از استرس، کاهش معناداری در دامنه برانگیختگی جمعی و شیب پتانسیل تحریکی پس سیناپسی میدانی در طول ۶۰ دقیقه بعد از تحریک با فرکانس بالا در مقایسه با گروه استرس ایجاد می کند.

نتیجه گیری: بنظر می رسد که سالبوتامول در هسته قاعده ای-جانبی آمیگدال می تواند نقایص حافظه را که به دنبال استرس ایجاد شده بود را بهبود بخشد.

واژه های کلیدی: ماز بارنز، گیرنده های β_2 -آدرنرژیک، استرس شوک کف پا، تست احترازی غیرفعال، سالبوتامول

و وصول مقاله: ۹۸/۱۱/۲۰ اصلاحیه نهایی: ۹۹/۳/۶ پذیرش: ۹۹/۷/۱۲

استرس واکنش جسمانی، روانی و عاطفی در برابر یک محرک بیرونی یا درونی است که می‌تواند موجب سازگاری فرد با تغییرات شود. به عبارت دیگر، استرس مجموعه واکنش‌هایی است که در پاسخ به هر عاملی که موجب به هم خوردن تعادل درونی، هومئوستاز، شود به وجود می‌آید (۱). امروزه مطالعه پیرامون استرس و عوارض ناشی از آن اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است، زیرا استرس‌های حاد و مزمن یکی از مشکلات بهداشت روانی جوامع بشری است (۲). استرس خصیصه بارز، طبیعی و غیرقابل اجتناب زندگی است و باعث هیجان می‌گردد. پاسخ بدن به عوامل استرس‌زای مطلق، سازگاری با طبیعت است و هورمون‌های استرس (گلوکوکورتیکوئیدها و آدرنالین) می‌توانند به سادگی از سد خونی - مغزی عبور کنند و با اتصال به گیرنده‌های نواحی مختلف مغز بر روی یادگیری و حافظه تاثیر بگذارند (۳). استرس حاد موجب بهبود حافظه و استرس مزمن تخریب حافظه می‌شود. استرس تحت مزمن با توجه به زمان و نوع آن رفتار متفاوتی دارد (۴). در دستگاه ارتباطی اعمال استرس شوک الکتریکی کف پا، استرس فیزیکی شوک و استرس روانی ناشی از اعمال شوک به موش‌های دیگر بر روی حیوان اعمال می‌شود (۵). پاسخ‌های استرسی شامل تغییراتی در رفتار، عملکرد سیستم اتونومیک، ترشح چندین هورمون، افزایش میزان مصرف گلوکز مغز، تغییرات متابولیک و تغییرات بافتی در مغز و آدرنال و حتی تغییر در سطح بیان پروتئین‌ها در شرایط استرس مزمن می‌باشد. استرس سبب اختلال در عملکرد سیستم‌های انتقال دهنده عصبی و اختلال در نظم محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA; Hypothalamic-pituitary-adrenal) می‌شود (۶).

نواحی مختلفی از مغز در پاسخ به استرس نقش دارند که یکی از مراکز اصلی در گیر در پاسخ به استرس مجموعه آمیگدال به ویژه هسته قاعده‌ای-جانبی آمیگدال (BLA; Basolateral Nucleus of the Amygdala) می‌باشد

(۷). هم‌چنین مطالعات نشان داده‌اند که هیپوکمپ (ناحیه‌ای از مغز که در حافظه و یادگیری نقش دارد) نیز در استرس دچار تغییراتی می‌شود (۸). یکی از مهمترین هورمون‌هایی که در زمان استرس آزاد می‌شود نورآدرنالین است. نشان داده شده است که نورآدرنالینی که در زمان هیجان‌ات ترشح می‌شود در ذخیره حافظه بلند مدت نقش دارد و استرس شدید می‌تواند عملکردهای شناختی را از طریق مکانیسم‌های آدرنژیک مختل کند (۹). ناحیه BLA و هیپوکمپ مقادیر قابل توجهی ورودیه‌های نورآدرنژیک از لوکوس سرولئوس دریافت می‌کنند و میزان نورآدرنژیک در BLA در زمان استرس به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد (۱۰). هسته آمیگدال و هیپوکامپ با یکدیگر در ارتباط بوده و از طریق فعالیت‌های نورونی مستقیم و غیرمستقیم بر جنبه‌های مختلف حافظه و یادگیری تأثیرگذار می‌باشند. به عنوان مثال غیرفعال سازی هسته آمیگدال باعث مهار تحریک حافظه بلند مدت (Long Term Potentiation; LTP) در هیپوکامپ و هم‌چنین از بین رفتن حافظه فضایی می‌گردد (۱۱). هم‌چنین نشان داده‌اند که آمیگدال به ویژه هسته BLA آن در تنظیم، تثبیت و به خاطر آوردن انواع حافظه نقش دارند (۱۲). علاوه بر این اثرات استرس بر کسب و حافظه به ارتباط بین هیپوکمپ و آمیگدال بستگی دارد و نیز مطالعات بر روی انسان نشان داده است که در جریان یادگیری ارتباط بین هیپوکمپ و آمیگدال افزایش می‌یابد (۱۳) و این دو ناحیه می‌توانند مکمل یکدیگر در تشکیل حافظه باشند (۱۴). هم‌چنین نشان داده شده است که BLA در تعدیل پلاستیسیته و القا LTP در هیپوکمپ نقش دارد و سبب افزایش خروجی‌های هیپوکمپ به سایر مناطق مغز می‌شود. برای مثال آسیب به آمیگدال اثرات تحریکی اپی‌نفرین را در افزایش حافظه مهار می‌کند (۱۵). استرس‌های تکراری یا مزمن به هیپوکمپ آسیب وارد کرده و به دنبال آن حافظه دچار آسیب می‌شود. استرس مزمن منجر به کاهش دندریت‌ها و نورون‌ها در هیپوکمپ می‌شود. مطالعات زیادی پیشنهاد

می‌کند که ورودی‌های BLA نقش اصلی را در اعمال هیپوکمپ دارا می‌باشد. برای مثال تحریک الکتریکی BLA، القاء LTP و شکل‌پذیری سیناپسی را در ناحیه CA1 مختل می‌کند (۱۶). اثرات تعدیلی آمیگدال در تثبیت حافظه از طریق فعال شدن گیرنده‌های نورآدرنژیک در BLA ایجاد می‌شود (۱۷). برای مثال، تزریق آنتاگونیست‌های بتا-آدرنژیک در آمیگدال سبب فراموشی شده در صورتی که تزریق آگونیست‌های بتا-آدرنژیک سبب افزایش تثبیت حافظه می‌گردد (۱۸). علاوه بر این مطالعات نشان داده‌اند که تزریق نوراپی نفرین یا آگونیست‌های بتا-آدرنوسپتور در آمیگدال بعد از آموزش سبب افزایش ذخیره حافظه می‌شود، در صورتی که تزریق پروپرانولول، آنتاگونیست بتا-آدرنوسپتور، در آمیگدال بعد از آموزش سبب آسیب به حافظه می‌شود (۱۹).

بنابراین با توجه به تحقیقات قبلی، به نظر می‌رسد که آمیگدال و به ویژه هسته BLA نقش مهمی در بروز پاسخ به استرس داشته باشد. همچنین این ناحیه دارای توزیع گسترده‌ای از گیرنده‌های بتا-آدرنژیک می‌باشد (۱۵). شواهد زیادی احتمال داده‌اند که هسته BLA آمیگدال در یادگیری‌های هیجانی و تعدیل و پردازش فرایند یادگیری حافظه فضایی دخالت دارد (۱۸، ۱۹)، ولی از آنجایی که فعال شدن رسپتورهای β_2 -آدرنژیک در گیر در BLA در پاسخ به استرس به خوبی مشخص نیست لذا در این تحقیق برآن بودیم که با استفاده از سالبوتامول (آگونیست رسپتورهای β_2 -آدرنژیک) در BLA به دنبال استرس میزان دخالت گیرنده‌های موجود در این ناحیه را بر تغییرات رفتاری حافظه فضایی و اجتنابی غیرفعال و تقویت طولانی مدت سیناپسی در نورون‌های CA1 هیپوکمپ مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات:

در این مطالعه تجربی چهل سر موش صحرایی (رت) نر بالغ، نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۲۰ گرم استفاده گردید. حیوانات از دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله خریداری شده و پس از انتقال به اتاق حیوانات در گروه‌های ۲ تا ۴ تایی در قفس‌های پلاستیکی شفاف مخصوص به ابعاد (۱۵ × ۳۰ × ۴۵) در شرایط آزمایشگاهی استاندارد با آب و غذای مناسب و تازه و همچنین دوره ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۴-۲۲°C نگهداری شدند. حیوانات برای سازش با محیط جدید آزمایشگاه یک هفته قبل از شروع آزمایش به محیط آزمایش منتقل شدند. رت‌ها جهت تخصیص به گروه‌های مختلف به طور کاملاً تصادفی انتخاب شدند. کلیه پروتکل‌های مربوط به مطالعات بر روی حیوانات آزمایشگاهی تدوین شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (با کد اخلاق IR.BMSU.REC.1396.814) در این مطالعه مورد توجه قرار گرفته و رعایت شدند.

گروه‌های مورد مطالعه:

در این تحقیق، حیوانات به طور تصادفی ساده به گروه‌های زیرتقسیم می‌شدند: (۱) گروه کنترل (کنترل منفی، $n=8$): بدون دریافت دارو یا سالین، بدون دریافت استرس. (۲) گروه شام (sham)، ($n=8$): حیوانات جراحی می‌شدند، سالین (به عنوان حلال سالبوتامول) در BLA تزریق می‌گردید ولی استرس دریافت نمی‌کردند. (۳) گروه استرس، ($n=8$): این گروه دارو و یا سالین دریافت نمی‌کرد ولی ۴ روز متوالی استرس شوک الکتریکی کف پا اعمال می‌شد. (۴) گروه کنترل سالبوتامول (سیگما آلدیچ) (آگونیست β_2 -آدرنژیک)، ($n=8$): سالبوتامول به صورت دو طرفه در ناحیه BLA حیوان تزریق می‌گردید ولی استرسی دریافت نمی‌کرد. (۵) گروه سالبوتامول با استرس، ($n=8$): سالبوتامول به صورت دو طرفه ۵ دقیقه قبل از استرس شوک الکتریکی کف پا در ناحیه BLA حیوان تزریق می‌گردید.

روش جراحی و تعبیه کانول راهنما:

کانول راهنما تعبیه شده قرار داده و دارو به آهستگی و به مدت دو دقیقه به داخل ناحیه BLA ($0.25 \mu\text{l/side}$) تزریق شد. سپس سرسوزن تزریق به آرامی از داخل کانول راهنما خارج و در سمت مقابل نیز به همین شیوه تزریق انجام شد. ۵ دقیقه پس از تزریق سالیین و یا سالبوتامول به ناحیه BLA حیوانات جهت القاء استرس به دستگاه جعبه ارتباطی (Communication Box) انتقال داده شدند.

روش القاء استرس شوک الکتریکی کف پا توسط دستگاه جعبه ارتباطی :

این دستگاه (شرکت برج صنعت آزما، تهران، ایران) از جنس پلکسی گلاس بوده که کاملاً شفاف است و دارای ۹ قسمت مجزا برای ۹ موش آزمایشگاهی می باشد. هریک از قسمت ها دارای ابعادی در حدود $16 \times 16 \times 50$ سانتی متر هستند، به طوری که حیوان قادر به خروج از آن نمی باشد. کف دستگاه حاوی سیم های استیل ضد زنگ به قطر ۴ میلی متر می باشد، که به فاصله $1/3$ میلی متر از هم قرار گرفته و به دستگاه الکتروشوکی که توسط رایانه کنترل می شود، ارتباط می یابد. در تحقیق حاضر، شوک الکتریکی با فرکانس ۱۰ هرتز، ولتاژ ۴۰ میلی ولت به مدت ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد (۲۱ و ۲۲). به این ترتیب حیواناتی که در این قسمت ها قرار می گرفتند هر روز به طور تصادفی شوک الکتریکی تنظیم شده ای را (که نوعی استرس فیزیکی محسوب می شود) دریافت می کردند. از طرفی غیر قابل گریز بودن محفظه دستگاه را به عنوان جزء روانی استرس می بایست در نظر گرفت. آن دسته از موش هایی که تحت استرس قرار می گرفتند، ۵ دقیقه قبل از آن سالیین یا دارو (سالبوتامول) دریافت می کردند. پس از پایان یافتن استرس یک ساعت فرصت داده می شد تا موش ها آرام شده و از شوک ناشی از استرس خارج شوند. این روش القاء استرس در ۴ روز متوالی انجام شد. اما در هر روز زمان القاء استرس تغییر کرده و به صورت تصادفی در ساعات مختلف اجرا گردید. این کار برای جلوگیری از شرطی شدن حیوانات نسبت به زمان القاء استرس بود.

ابتدا رت ها از حیوانخانه به محل آزمایش انتقال داده شده و جهت بیهوشی حیوانات کلرال هیدرات (سیگما آلدریچ) (350 mg/kg) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. پس از بیهوشی کامل حیوان آن را درون دستگاه استرئوتاکس (Stoelting, Wood Dale, IL) فیکس نمودیم. مختصات استرئوتاکسی ناحیه BLA با توجه به اطلس پاکسینوس و واتسون (۲۰۰۷) بصورت $AP = -2.8 \text{ mm}$ ، $DV = 7.5 \text{ mm}$ و $ML = \pm 4.8 \text{ mm}$ محاسبه شد. سپس به وسیله مته دندانپزشکی سوراخی در محل علامت گذاری شده بر روی جمجمه ایجاد شد که این سوراخ به قطر ۱ میلی متر بوده و تا پرده مننژ ادامه داشت. قبل از گذاشتن کانول راهنما (Alibaba; INTR) پیچ های ریز عینک در حد فاصل ۲ میلیمتری محل قرارگیری کانول بر روی سطح جمجمه جهت محکم نگه داشتن کانول راهنما تعبیه شد. بعد از سوراخ کردن جمجمه کانول راهنما به کمک دستگاه استریوتاکس به آرامی وارد مغز شده سپس به سرعت اطراف کانول و پیچ های عینک با اکریل دندانپزشکی مخلوط شده با منومر پوشیده شده و بعد از سفت شدن سیمان دندانپزشکی به آرامی سوزن دستگاه استریوتاکس را از درون کانول خارج کرده و سیمی از فولاد زنگ نزن که به اندازه ارتفاع کانول ساخته شده بود را درون آن قرار داده و حیوان را از دستگاه خارج نمودیم. بعد از پایان جراحی حیوان در قفس انفرادی قرار داده شد و برای سپری شدن دوره بهبودی ۷ روز به حیوان استراحت داده و بعد از این دوره آزمایشات بر روی آن ها انجام شد. کانول گذاری در ناحیه BLA به صورت دوطرفه انجام شد.

روش تزریق دارو در BLA :

تزریق سالیین یا سالبوتامول ($4 \mu\text{g/rat}$) (۲۰) به داخل ناحیه BLA از طریق سرسوزن تزریق Gage ۳۰ که توسط یک رابط پلی اتیلنی به سرنگ هاملتون وصل شده بود، صورت گرفت. طول سرسوزن تزریق یک میلیمتر بلندتر از کانول راهنما انتخاب شد. در ابتدا لوله پلی اتیلنی و سرسوزن تزریق با سالیین و یا سالبوتامول پر شد. سپس سرسوزن تزریق در

روش ارزیابی حافظه فضایی به وسیله ماز بارنز:

ماز بارنز روشی است جهت اندازه گیری حافظه فضایی در موش های کوچک آزمایشگاهی و موش صحرایی. این ماز از یک صفحه‌ی مدور از جنس پلاکسی گلاس شیری رنگ ساخته شده که ۹۲ سانتیمتر قطر دارد. در اطراف این ماز به فاصله‌ی ۲ سانتیمتر از لبه‌ی ماز ۱۲ سوراخ به قطر ۸ سانتیمتر تعبیه شده است. فاصله‌ی سوراخ‌ها از هم ۵ سانتیمتر است. در زیر یکی از این سوراخ‌ها (سوراخ هدف) یک اتاقک از جنس پلاکسی گلاس تیره به ابعاد 20×20 سانتیمتر قرار دارد که می‌تواند از یک سوراخ به سوراخ دیگر جابه‌جا شود. این ماز بر روی یک پایه به ارتفاع ۱۰۰ سانتیمتر قرار دارد و یک لامپ ۵۰۰ وات (کم مصرف) در ارتفاع ۱۰۰ سانتیمتر بالای آن تعبیه شده است. برای آموزش حیوانات، هر حیوان در روز صفر به مدت ۳ دقیقه بر روی ماز قرار می‌گرفت. در این حالت لامپ خاموش بود و اتاقک نیز در زیر هیچ سوراخی قرار نداشت (روز آشنایی). ۲۰ دقیقه پس از آشنایی، ابتدا اتاقک در محل خود قرار می‌گرفت، حیوان به ماز برگردانده می‌شد و در زیر یک محفظه از جنس پلاکسی گلاس به ابعاد 15×15 سانتیمتر قرار می‌گرفت. ۱۰ ثانیه بعد لامپ روشن شده و محفظه برداشته می‌شد. به حیوان ۹۰ ثانیه وقت داده میشد تا سوراخ هدف را پیدا کند. اگر سوراخ هدف را پیدا نمی‌کرد با دست آن را به سمت سوراخ هدف هدایت می‌کردیم. پس از یافتن سوراخ هدف، لامپ خاموش شده و یک صفحه‌ی نیز بر روی سوراخی که حیوان در آن قرار داشت گذاشته میشد و ۶۰ ثانیه حیوان در همان حالت باقی می‌ماند. این روش ۴ بار در هر روز برای هر حیوان انجام می‌شود که برای هر حیوان ۴ روز (روز اول تا چهارم استرس شوک الکتریکی کف پا) پشت سرهم تکرار میشد و در روز پنجم (۲۴ ساعت پس از ۴ روز استرس شوک الکتریکی کف پا) روز آزمون حافظه بود. پس از هر آزمایش، تمام سطح ماز با محلول الکل ۷۰٪ تمیز می‌شد تا اثرات بویایی در سطح ماز باقی نماند. برای هر حیوان هم اتاقک مقصد پیش از شروع آزمایش با محلول

فوق شسته میشد. پارامترهای مورد بررسی جهت سنجش حافظه فضایی شامل تعداد سوراخ‌های خطا، مسافت طی شده توسط حیوان و زمان رسیدن به سوراخ هدف بود. تست یادگیری احترازی غیرفعال (Passive-avoidance test):

برای انجام این تست از دستگاه شاتل باکس (Shuttle box) (شرکت برج صنعت آزما، تهران، ایران) تشکیل شده از دو محفظه تاریک و روشن مجزا، همراه با یک درب گیوتینی قابل کنترل بین دو محفظه استفاده شد.

مرحله سازش پذیری (Adaptation trial)

در این مرحله حیوان به طوری که رو به درب گیوتینی باشد، درون محفظه روشن قرار داده شد و پس از ۱۰ ثانیه به آرامی درب میانی باز و مدت زمان تاخیر (Step through latency; STL) برای ورود حیوان به بخش تاریک ثبت شد. در صورتی که این زمان بیش از ۳۰۰ ثانیه بود به دلیل عدم تمایل حیوان به بخش تاریک حیوان از مطالعه خارج می‌شد.

مرحله آموزش (Training trial):

دو ساعت پس از مرحله سازش پذیری، حیوان همچون مرحله قبل درون محفظه روشن قرار گرفت، با این تفاوت که به محض ورود حیوان به محفظه تاریک درب بسته شده و به کف دست و پای حیوان شوک الکتریکی با شدت ۰/۵ میلی آمپر و فرکانس ۵۰ هرتز به مدت ۲ ثانیه اعمال شد و پس از ۲۰ ثانیه حیوان را از دستگاه خارج کردیم و ۲ دقیقه بعد مجدداً این مرحله تکرار شد. در صورت امتناع حیوان از ورود به بخش تاریک در دفعات دوم و سوم آموزش، به آرامی حیوان را با دست به محفظه تاریک هدایت شده و شوک اعمال گردید. مرحله آموزش حداکثر چهار مرتبه تکرار شد (۲۸). این مرحله در روز اول استرس انجام گردید.

مرحله یادآوری (Retention trial)

مرحله یادآوری در روزهای ۱ و ۴ پس از آموزش انجام گرفت که به ترتیب معادل روزهای ۲ و ۲۴ ساعت پس از

اعمال گردید. برای رسیدن به ثبت مطلوب و پایدار از ناحیه CA1 گاهی ضرورت داشت جای الکتروود تحریک و ثبت چندین بار عوض شود تا بهترین نقاط تحریک و ثبت حاصل گردد. برای به حداقل رساندن آسیب به بافت مغز الکتروودها با سرعت کم جابه جا شد. پس از پیدا کردن جای مناسب و تعیین دقیق محل ثبت و تحریک، تحریکات حداقل به مدت ۲۰ دقیقه تا زمانی که پاسخ پایدار شود اعمال گردید. منظور از پایدار بودن پاسخ یعنی میزان تغییر شیب fEPSP کمتر از ۱۰ درصد باشد. پس از تأیید پاسخ برانگیختگی مناسب، با استفاده از میانگین ۱۰ برانگیختگی جمعی (Population Spike; PS) القا شده با جریان‌های مختلف ($100-1200 \mu A$) منحنی ورودی/خروجی (Input/Output curve; I/Q) رسم شد. جریان مورد نیاز برای رسیدن به ۵۰-۴۰٪ حداکثر پاسخ PS و پتانسیل تحریکی پس سیناپسی میدانی (field Excitatory Post I/O Synaptic Potential; fEPSP) بوسیله منحنی I/O محاسبه شد و از آن برای اخذ ثبت پایه (Baseline) و القای پتانسیل طولانی مدت (LTP) استفاده شد. ثبت پایه پاسخ متعاقب تک پالس‌ها حداقل در بازه زمانی به مدت ۲۰ دقیقه قبل از القای LTP انجام شد (۱۰۰ پاسخ). جهت القای LTP تحریکات با الگوی کزاز یا تحریکات با فرکانس بالا (HFS; High Frequency Stimulation) (۱۰ دوره ۲۰ پالس به طول $200 \mu s$ و فرکانس $400 Hz$ و فاصله بین هر دو دوره ۲ ثانیه در نظر گرفته شد) به ناحیه مسیر شافرجانبی اعمال شد. در طول ثبت پس از القای LTP از ناحیه CA1 جریان مورد استفاده ۱/۵ برابر جریان مورد استفاده در القای LTP محاسبه و اعمال شد. میانگین ۷۲ پاسخ در طول ۱۲ دقیقه (۱-۱۲، ۱۳-۲۴، ۲۵-۳۶، ۳۷-۴۸ و ۴۹-۶۰ دقیقه) در مدت زمان ۶۰ دقیقه پس از القای LTP (۳۶۰ پاسخ در ۶۰ دقیقه) ثبت شد. برای هر موش، میانگین شیب fEPSP و بزرگی PS قبل از القای LTP به ۱۰۰٪ استاندارد سازی شد (میانگین ثبت پایه). سپس پارامترهای

روز ۴ استرس شوک الکتریکی کف پا بودند. بدین صورت که همچون مراحل قبل حیوان در محفظه روشن قرار داده شد و مدت زمان تاخیر (STL) جهت ورود به محفظه تاریک ثبت شد. حداکثر زمان سنجش جهت ورود به بخش تاریک ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

ثبت الکتروفیزیولوژی:

در این مطالعه از تکنیک ثبت پتانسیل میدانی (field potential recording) (شرکت پرتو دانش، تهران، ایران) استفاده شد. مسیر شافر جانبی (schaffer collateral) تحریک و از stratum radiatum ناحیه CA1 ثبت صورت گرفت. در اجرای این تکنیک از الکتروود از جنس استیل ضد زنگ (stainless steel) با روکش تفلن (PFA-Coated Stainless Steel, Diameter: 0.005 inch; A-M system, USA) به قطر ۱۰۰-۲۰۰ میکرومتر استفاده شد. ۲۴ ساعت پس از ۴ روز شوک الکتریکی کف پا، حیوان توسط کلرال هیدرات بیهوش و در دستگاه استرئوتاکیس قرار داده شد. الکتروود تحریک در مسیر شافر جانبی با مختصات استرئوتاکیسی $AP = -3/1 mm$ ، $ML = 3/1 mm$ و $DV = -2/3 - 5/5 mm$ میلیمتر و یک جفت الکتروود بعنوان الکتروود ثبت در ناحیه CA1 هیپوکمپ با مختصات استرئوتاکیسی $AP = -2/8 mm$ ، $ML = 3/1 mm$ و $DV = -2/3 - 5/5 mm$ میلیمتر قرار داده شدند. جهت اطمینان از صحت محل قرارگیری الکتروود، بطور همزمان اعمال تحریک مسیر شافر جانبی سمت راست و مشاهده پاسخ نورون‌های CA1 در همان سمت صورت گرفت. الکتروود رفرانس را نیز به یک پیچ عینک متصل کرده و پیچ را درون استخوان پس سری جمجمه قرار دادیم. با تحریک مسیر انشعابات شافر جانبی، پتانسیل‌های برانگیخته میدانی از ناحیه استراتوم رادیاتوم CA1 ثبت گردید. دستور تحریک پالس آزمون (موج مربعی مونوفاز یک با شدت زمان ۲۰۰ میکروثانیه و تواتر ۰/۱ هرتز) بعد از تعریف در نرم افزار، به قسمت Data Acquisition ارسال و بعد از گذشتن از ایزولاتور، توسط الکتروود دو قطبی به مسیر شافر کولترال

محاسبه در هر بازه زمانی پس از القای LTP، بوسیله ثبت پایه استاندارد سازی شدند.

روش تجزیه و تحلیل داده ها:

در این تحقیق، برای بررسی وجود تفاوت معنی دار بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way Analysis of Variance: ANOVA) و Post-hoc (Tukey)، با استفاده از دو نرم افزار Prism Pad Graph و SPSS استفاده شد. برای تست بارنزا از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way repeated Analysis of Variance: ANOVA) measure استفاده شد. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار میانگین برای هر گروه در نظر گرفته شد و در تمامی مراحل $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

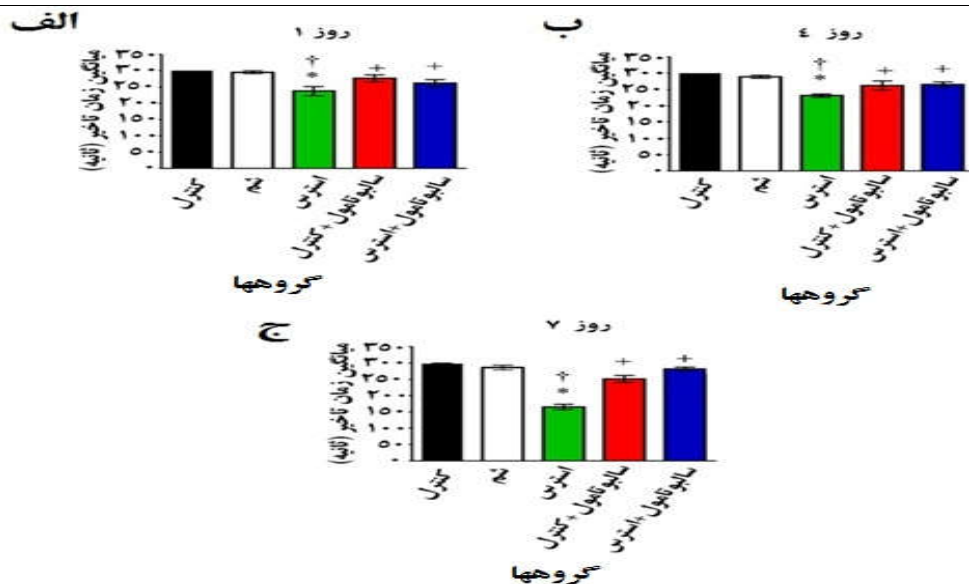
اثرات تزریق داروهای β_2 -آدرنوسپتور در BLA بر تست احترازی غیرفعال:

تزریق سالبوتامول به صورت دوطرفه در BLA پنج دقیقه قبل از استرس و هم چنین در شرایط بدون استرس انجام شد. نتایج نشان داد استرس شوک الکتریکی کف پا باعث اختلال در به خاطر آوری و حافظه احترازی غیرفعال شد، به طوری که ۲۴ ساعت بعد از یادگیری (روز اول بعد از استرس شوک الکتریکی کف پا) میانگین زمان تاخیر (STL) در گروه استرس کاهش یافت ($n=8$ ، $237/166 \pm 14/11$)، که به طور معنی داری ($P < 0/05$) نسبت به گروه کنترل ($n=7$ ؛ $P \leq 0/01$ ؛ $300/0 \pm 0$) و گروه شم ($n=7$ ؛ $P \leq 0/01$ ؛ $295/166 \pm 1/8$) کمتر بود (شکل ۱-الف).

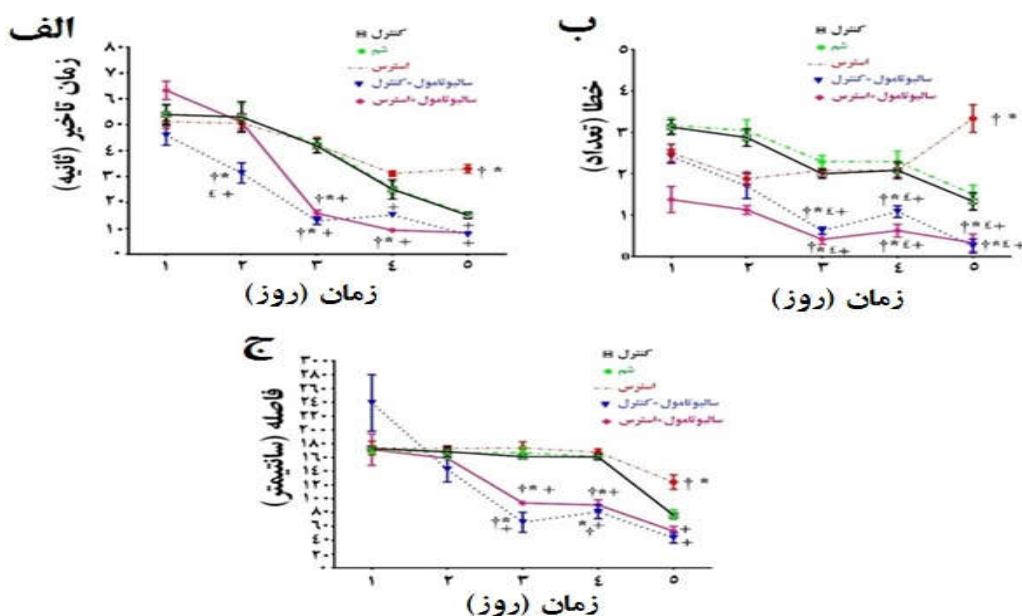
در روز چهارم آموزش (روز چهارم استرس)، زمان تاخیر در حیواناتی که تحت استرس ($231/50 \pm 5/35$) قرار گرفته

بودند در مقایسه با گروه کنترل ($300/0 \pm 0$) و شم ($289/50 \pm 4/09$) کاهش معنی داری ($P < 0/05$) را نشان دادند (شکل ۱-ب). علاوه بر این، هفت روز پس از اولین استرس (روز هفتم بعد از اولین روز استرس) زمان تاخیر به صورت معنی داری ($P < 0/05$) در رت های استرس دیده ($287/747 \pm 8/50$)، نسبت به گروه های کنترل ($297/66 \pm 2/33$) و شم ($286/9 \pm 7/36$) کاهش یافت (شکل ۱-ج). به عبارت دیگر، زمان تاخیر در رت هایی که در روزهای ۱، ۴ و ۷ بعد از استرس تحت آزمایش قرار گرفتند، نسبت به گروه های کنترل و شم به طور معنی داری ($p < 0/01$) کاهش یافته بود.

نتایج حافظه احترازی غیرفعال در شاتل باکس نشان داد که در حیوانات گروه کنترل سالبوتامول به صورت معنی داری ($P < 0/05$) میانگین زمان تاخیر در مقایسه با گروه استرس بیشتر بود (گروه کنترل سالبوتامول، $276/36 \pm 10/65$ ، $251/32 \pm 10/54$ ، $262/36 \pm 14/33$ و ۷ پس از آموزش). تزریق دو طرفه ی سالبوتامول در ناحیه BLA ۵ دقیقه قبل از استرس ($n=8$) در رت ها (گروه سالبوتامول و استرس) افزایش معنی داری ($p < 0/01$) در میانگین زمان تاخیر نسبت به گروه استرس در روز اول نشان داد. از طرفی نتایج نشان داد که ۴ روز پس از استرس و ۷ روز پس از اولین روز استرس تزریق سالبوتامول در BLA تغییر معنی داری ($P < 0/05$) در مدت زمان تاخیر نسبت به گروه کنترل و شم ایجاد نکرد ولی نسبت به گروه استرس این زمان افزایشی معنی داری ($P < 0/05$) داشت (گروه سالبوتامول و استرس: $261/22 \pm 11/36$ ، $265/35 \pm 8/12$ ، $281/65 \pm 6/32$ به ترتیب در روزهای ۱، ۴ و ۷ پس از آموزش).



شکل ۱. اثرات تزریق دو طرفه سالبوتامول در ناحیه قاعده ای-جانبی آمیگدال در شرایط با و بدون استرس در تست احترازی غیر فعال بر حافظه . الف) یک روز پس از مرحله آموزش تست ب) چهار روز پس از مرحله آموزش تست ج) هفت روز پس از مرحله آموزش. * بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل. + بیانگر اختلاف معنی دار با گروه شم. + بیانگر اختلاف معنی دار با گروه استرس.



شکل ۲. اثرات تزریق دو طرفه سالبوتامول در ناحیه قاعده ای-جانبی آمیگدال در شرایط استرس و بدون استرس در تست بارنز. الف) زمان رسیدن به سوراخ هدف، ب) تعداد خطاهای رخ داده در یافتن سوراخ هدف و ج) مسافت طی شده برای رسیدن به سوراخ هدف. * بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل. + بیانگر اختلاف معنی دار با گروه شم. + بیانگر اختلاف معنی دار با گروه استرس. E بیانگر اختلاف معنی دار با گروه سالبوتامول+استرس.

اثرات تزریق آگونیست β_2 -آدرنوسپتور در BLA بر حافظه فضایی:

نتایج زمان رسیدن به سوراخ هدف در اثر تزریق دو طرفه آگونیست β_2 -آدرنوسپتور در ناحیه BLA در تست ماز بارنز:

نتایج نشان دادند که در طول دوره پنج روزه تست بارنز، متعاقب مراحل آموزش و یادگیری تست زمان رسیدن به سوراخ هدف در همه گروه‌ها روند کاهشی داشتند. از سوی دیگر این زمان در روز پنجم در همه گروه‌ها نسبت به زمان ثبت شده در روز اول تست به طور معنی داری ($P < 0.05$) کاهش یافته بود. ولی همان گونه که در شکل ۲-الف نشان داده شده است، در روز پنجم تست بارنز حیواناتی که چهار روز متوالی استرس دریافت کردند (گروه استرس، 1.63 ± 0.33)، برای رسیدن به سوراخ هدف در مقایسه با گروه کنترل (1.26 ± 0.15) و گروه شم ($1.76 \pm 0.66/15$) به طور معنی داری ($P < 0.01$) زمان طولانی تری را سپری کردند. در گروهی از حیوانات که تزریق دو طرفه سالیوتامول در BLA پنج دقیقه قبل از استرس انجام شده بود، زمان رسیدن به سوراخ هدف به طور معنی داری ($P < 0.05$) نسبت به گروه استرس کوتاه تر بود. ولی همان گونه که در شکل ۲-الف دیده می شود زمان رسیدن به سوراخ هدف در بین گروه های کنترل سالیوتامول ($1.67 \pm 0.33/8$) و سالیوتامول استرس ($1.56 \pm 0.50/7$)، تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) مشاهده نشد.

نتایج تعداد خطاهای رخ داده در یافتن سوراخ هدف در اثر تزریق دو طرفه آگونیست β_2 -آدرنوسپتور در ناحیه BLA در تست ماز بارنز:

تعداد خطاهایی که حیوانات در مدت یکسان برای رسیدن به سوراخ هدف در صفحه بارنز در جریان پنج روز، مرتکب شدند در تمام گروه ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در طول این دوره ی پنج روزه با افزایش جلسات آموزش تعداد خطا ها در تمام گروه ها، به جز گروه استرس کاهش یافت. در حالی که در گروه های شم و کنترل

تغییری معناداری مشاهده نشد. هم چنان که در شکل ۲-ب نشان داده شده است، رت هایی که به صورت دو طرفه در BLA سالیوتامول را پنج دقیقه قبل از استرس دریافت کرده بودند و گروه های تیمار شده با دارو به تنهایی، کاهش معناداری ($P < 0.05$) را در تعداد خطاها در رسیدن به سوراخ هدف نسبت به گروه استرس نشان دادند، ولی بین گروه های کنترل سالیوتامول و سالیوتامول با استرس، اختلاف معنی داری دیده نشد (گروه کنترل: 1.21 ± 0.33 ، گروه شم: 1.22 ± 0.15 ، گروه استرس: 1.33 ± 0.33 ، گروه کنترل سالیوتامول: 1.17 ± 0.25 ، گروه سالیوتامول استرس: 1.21 ± 0.33).

نتایج مسافت طی شده برای رسیدن به سوراخ هدف در اثر تزریق دو طرفه سالیوتامول در ناحیه BLA در تست ماز بارنز:

نتایج نشان داد که مسافت سپری شده به تدریج در طی پنج روز کاهش یافت. ولی هم چنان که در شکل ۲-ج نشان داده شده است رت ها با تیمار به وسیله سالیوتامول از طریق تزریق دوسویه در BLA پنج دقیقه قبل از استرس به صورت معنی داری ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه استرس مسافت کمتری را طی کردند (گروه کنترل 66.33 ± 7.6 cm، گروه شم 90.2 ± 7.33 cm، گروه استرس 27.4 ± 4.33 cm، گروه کنترل سالیوتامول $3.0 \pm 3.33/43$ cm، گروه سالیوتامول و استرس: $86.2 \pm 5.33/52$ cm). نتایج ثبت پتانسیل میدانی در ناحیه CA1 هیپوکمپ در اثر تزریق دو طرفه سالیوتامول در ناحیه BLA:

۲۴ ساعت پس از ۴ روز شوک الکتریکی کف پا آزمایش ثبت پتانسیل میدانی انجام شد. جهت انجام پتانسیل ثبت میدانی از طریق الکترودهای قرار گرفته شده در مسیر شافر جانبی، پالس های تحریکی اعمال و پاسخ های EPSP برانگیخته شده در مدت زمان ۶۰ دقیقه از طریق الکترودهای تعبیه شده در سلول های ناحیه CA1 در موش ها ثبت و سه پارامتر دامنه PS (Population Spike Amplitude)،

شیب fEPSP و زمان تاخیر شروع پاسخ (Spike onset latency) مورد بررسی قرار گرفت.

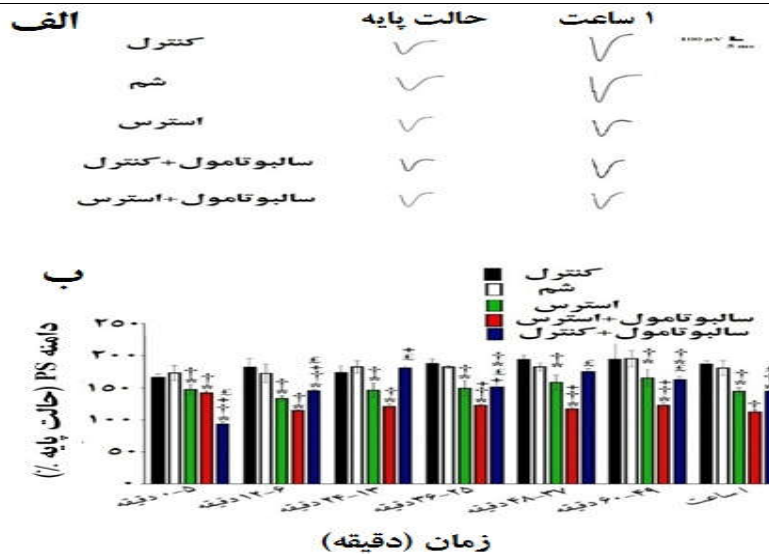
این پارامترها برای ۶۰ دقیقه و در فواصل زمانی: ۰ تا ۵، ۶ تا ۱۲، ۱۳ تا ۲۴، ۲۵ تا ۳۶، ۳۷ تا ۴۸ و ۴۹ تا ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تتانیک در نورون های CA1 مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳-الف). نتایج حاصل، نشان داد که در طی ۶۰ دقیقه بعد از HFS، دامنه PS در همه گروه ها نسبت به حالت پایه (Baseline) افزایش معنی داری ($P < 0.05$) یافت (گروه کنترل: $n=7$ ، $186/24 \pm 5/64\%$ در مقایسه با حالت پایه، گروه شم: $n=7$ ، $180/152 \pm 11/24\%$ در مقایسه با حالت پایه، گروه استرس: $n=7$ ، $144/06 \pm 6/45\%$ در مقایسه با حالت پایه). از طرفی دامنه PS در گروه استرس، در مقایسه با گروه کنترل و شم افزایش کمتری داشت و به عبارت دیگر دامنه PS در گروه کنترل و شم در مقایسه با حالت پایه در مدت ۶۰ دقیقه بعد از HFS افزایش معنی داری ($P < 0.05$) نسبت به گروه استرس از خود نشان داد، در حالی که میزان این تغییر، در گروه استرس به نسبت حالت پایه کمتر بود. نتایج نشان داد که تزریق سالبوتامول پنج دقیقه قبل از القای استرس، کاهش معنی داری ($P < 0.05$) را در دامنه PS، در طول ۶۰ دقیقه بعد از HFS در مقایسه با گروه های کنترل، شم و استرس ایجاد کرد (گروه سالبوتامول و استرس: $n=8$ ، $P < 0.05$ ، $112/46 \pm 7/21$ ، گروه کنترل سالبوتامول: $n=10$ ، $p < 0.05$ ، $144/62 \pm 2/51\%$).

علاوه براین، تزریق سالبوتامول به تنهایی و بدون القای استرس کاهش معنی داری ($P < 0.05$) را در دامنه PS در مقایسه با گروه های کنترل و شم ایجاد کرد، ولی در مقایسه با گروه استرس به تنهایی کاهش معنی داری ($P < 0.05$) را نشان نداد. هر چند در گروه کنترل سالبوتامول نسبت به گروه سالبوتامول و استرس دامنه PS افزایش معنی داری ($P < 0.05$) نشان داد (شکل ۳-ب).

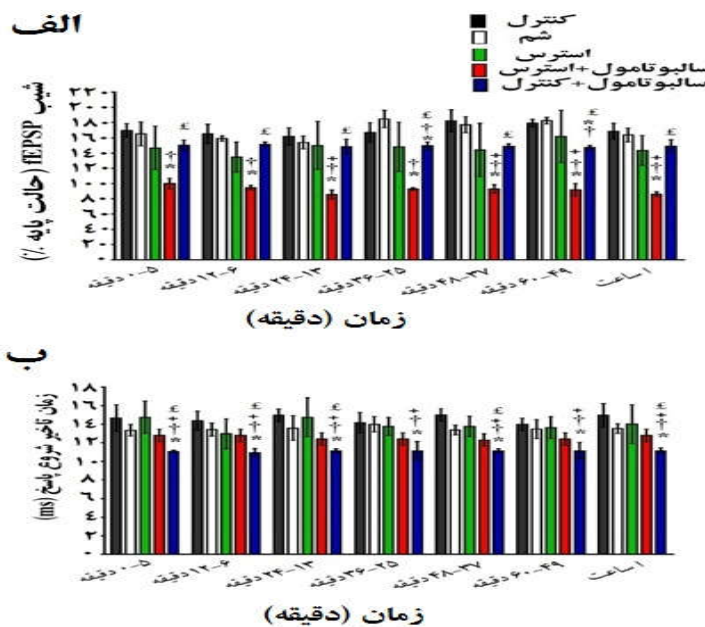
میانگین شیب fEPSP بلافاصله بعد از اعمال HFS در همه گروه ها در مقایسه با حالت پایه در مدت ۶۰ دقیقه، مورد

بررسی قرار گرفت. میانگین شیب محاسبه شده بین گروه کنترل با شم و استرس به تنهایی، تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) را نشان نداد. در حالی که تزریق دو طرفه ی سالبوتامول در BLA، قبل از القا استرس کاهش معنی داری ($P < 0.05$) در شیب fEPSP در طول ۶۰ دقیقه در قیاس با حالت پایه، نسبت به گروه های کنترل، شم، استرس داشت. هم چنان که در شکل ۴-الف مشخص است، گروه تیمار شده با سالبوتامول بدون استرس تغییر معنی داری ($P < 0.05$) در شیب fEPSP نسبت به گروه کنترل و شم و استرس نداشت ولی نسبت به گروه سالبوتامول+استرس این شیب به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش یافته بود.

در نهایت، زمان تاخیر شروع پاسخ (spike onset latency) بین گروه های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در شکل ۴-ب مشاهده می شود زمان تاخیر شروع پاسخ در گروه کنترل نسبت به استرس به تنهایی و شم تغییر معنی داری ($p < 0.05$) را نشان نداد. تزریق دوطرفه سالبوتامول در BLA در شرایط استرس (گروه سالبوتامول+استرس) نیز تغییر معنی داری ($P < 0.05$) را در زمان تاخیر شروع پاسخ نسبت به گروه های کنترل، شم و استرس به تنهایی نشان نداد. در حالی که زمان تاخیر شروع پاسخ در گروه سالبوتامول+کنترل در مقایسه با سایر گروه ها کاهش معنی داری ($p < 0.05$) یافته بود.



شکل ۳. اثر تزریق دو طرفه سالیوتامول در ناحیه قاعده ای-جانبی آمیگدال بر ویژگی های ثبت نورون های CA1 هیپوکمپ. الف) مقایسه نمونه ثبت پتانسیل میدانی در حالت پایه (baseline) و ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تنانیک بین گروه های کنترل، شم، استرس، سالیوتامول + کنترل و سالیوتامول + استرس ب) دامنه PS به عنوان میانگین اختلاف ولتاژ با حالت پایه. * بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل. + بیانگر اختلاف معنی دار با گروه شم. E بیانگر اختلاف معنی دار با گروه استرس. S بیانگر اختلاف معنی دار با گروه سالیوتامول + استرس.



شکل ۴. اثر تزریق دو طرفه سالیوتامول در ناحیه قاعده ای-جانبی آمیگدال بر روی پایداری پاسخ نورون های CA1 هیپوکمپ در طول زمان ثبت ۶۰ دقیقه ای تقویت طولانی مدت سیناپسی (LTP). الف) تغییرات شیب پتانسیل پس سیناپسی تحریکی (fEPSP) و ب) زمان تاخیر در شروع پاسخ. * بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل. + بیانگر اختلاف معنی دار با گروه شم. E بیانگر اختلاف معنی دار با گروه استرس. S بیانگر اختلاف معنی دار با گروه سالیوتامول + استرس.

بحث

در تحقیق حاضر نقش گیرنده‌های β_2 -آدرنژیک در BLA بر تقویت طولانی مدت سیناپسی (LTP) در نورون‌های CA1 هیپوکمپ، حافظه هیجانی و حافظه فضایی به دنبال استرس شوک الکتریکی کف پا مورد بررسی قرار گرفت. به عبارت دیگر هدف از مطالعه حاضر این بود که آیا فعالیت گیرنده‌های β_2 -آدرنژیک در BLA می‌تواند حافظه هیجانی و فضایی و نیز تقویت طولانی مدت سیناپسی را در نورون‌های هر می CA1 هیپوکمپ در پاسخ به استرس غیرقابل اجتناب تغییر دهد؟ همان گونه که در بالا ذکر شد، از سالبوتامول به عنوان آگونیست اختصاصی β_2 -آدرنژیک استفاده شد.

نتایج حاصل از مطالعات رفتاری با استفاده از تست شاتل باکس برای بررسی حافظه احترازی غیرفعال نشان داد که در روز ۱ و ۴ القای استرس و نیز روز ۷ بعد از اولین استرس، حافظه احترازی غیرفعال دچار آسیب می‌شود. نتایج حافظه احترازی غیرفعال نشان داد که در حیوانات گروه کنترل سالبوتامول، STL به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه استرس افزایش یافته بود. نتایج حافظه احترازی غیرفعال نشان داد پیش درمانی با سالبوتامول قبل از اعمال استرس موجب بهبود حافظه احترازی غیرفعال در روز اول شد اما در روز ۴ و ۷ پس از استرس STL در مقایسه با گروه شم و استرس افزایش نیافت، لذا موجب بهبود حافظه نشد. نتایج بررسی حافظه فضایی در تست بارنز نشان داد که پیش درمانی با سالبوتامول قبل از اعمال استرس زمان رسیدن به سوراخ هدف، تعداد خطاها و مسافت طی شده در رسیدن به سوراخ هدف را نسبت به گروه استرس کاهش داد. عبارتی تزریق سالبوتامول (آگونیست β_2 -آدرنوسپتور) در ناحیه BLA از تخریب حافظه فضایی و احترازی غیرفعال متعاقب استرس جلوگیری کرده است.

استرس مزمن نواحی مختلف مغزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد و هم‌چنین توانایی فضایی هیپوکمپ بر اساس ساختارهای مغز در جریان آموزش‌های رفتاری تغییر

می‌کند. مطالعات مختلفی اثرات استرس مزمن را بر اعمال وابسته به هیپوکمپ مورد ارزیابی قرار داده‌اند. برای مثال تخریب حافظه فضایی بر اثر استرس در ماز آبی موريس نشان داده شده است (۲۳). یافته‌های به دست آمده از مطالعات رفتاری در انسان و حیوانات نشان داده است که به طور کلی انواع حافظه به دنبال استرس مزمن دچار آسیب می‌شود. هم‌چنین مطالعات بر روی حیوانات نشان می‌دهد که متعاقب استرس مزمن شکل پذیری سیناپسی و خواص نورونی هیپوکمپ با تغییر مواجه می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که استرس مزمن مورفولوژی نورونی را تغییر می‌دهد و موجب سرکوب نوروزن شده و حجم هیپوکمپ را کاهش می‌دهد. به دنبال بروز استرس محور HPA سطح گلوکوکورتیکوئیدها را افزایش می‌دهد که به عنوان یکی از واسطه‌های اثرات استرس بر هیپوکمپ به شمار می‌رود که اعمال هیپوکمپ را در حد گسترده‌ای تغییر می‌دهد. سطح پایین گلوکوکورتیکوئیدها یادگیری فضایی را افزایش می‌دهد، در حالی که سطوح بالاتر موجب آسیب حافظه می‌گردد (۲۴). مطالعات یادگیری حاصل از ماز آبی فعالیت آدرنژیک را به عنوان میانجی احتمالی در تثبیت حافظه مطرح کرده است و نشان داده‌اند که تزریق پروپرانولول (آنتاگونیست β -آدرنژیک) در BLA منجر به فراموشی در تست ماز آبی می‌شود (۲۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استرس مزمن سبب کاهش حافظه فضایی می‌شود. هم‌راستا با نتایج ما، در سایر مطالعات در رت‌هایی که تحت تاثیر استرس مزمن قرار گرفته بودند یادگیری و انواع حافظه فضایی کاهش یافته بود. نشان داده شده است که تزریق نوراپی نفرین و آگونیست بتا-آدرنژیک در درون هسته‌های قاعده‌ای-جانبی آمیگدال حافظه احترازی غیرفعال و حافظه فضایی ماز آبی را افزایش می‌دهد. هم‌چنین تخریب نورون‌های نورآدرنژیک آمیگدال حافظه را کاهش می‌دهد (۲۶). آمیگدال یک بخش کلیدی و محوری در تعدیل جنبه‌های مختلف پاسخ‌های استرسی در حافظه و یادگیری فضایی و هیجانی

برای رویدادهای یادآوری هیجانی می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که فعالیت‌های نورآدرنالین در BLA، در حافظه و یادگیری حداقل در بخشی می‌تواند از طریق گیرنده‌های β_2 -آدرنرژیک اعمال شود.

هاتفیلد و مک‌گاف در سال ۱۹۹۹ نشان داده‌اند که تزریق بعد از آموزش نوراپی‌نفرین به BLA، یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی موریس را افزایش می‌دهد، در حالی که تزریق پروپانولول به درون BLA منجر به اختلال در حافظه در این تست می‌شود (۲۷). همچنین فری و مک‌گاف در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که تجویز کلنوترول (Clenbuterol) که آگونیست آدرنوسپتور می‌باشد به BLA سبب افزایش حافظه احترازی می‌شود (۲۸). مطالعات نشان داده‌اند که اپی‌نفرین بر روی تثبیت حافظه از طریق فعالیت نورآدرنرژیک در آمیگدال تأثیر می‌گذارد. برای مثال مک‌گاف و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داد که تزریق نوراپی‌نفرین در BLA سبب افزایش و تثبیت یادگیری اعمالی می‌شود که در اثر محرک‌های آزار دهنده ایجاد می‌شود (۲۹). همچنین مهار گیرنده‌های نوراپی‌نفرین در آمیگدال با تجویز پروپانولول یا کاهش میزان نوراپی‌نفرین در آمیگدال از طریق تزریق نوروتوکسین

DSP-(N-2-chloroethyl-N-ethyl-bromobenzylamine)

اثر افزایشی اپی‌نفرین در ایجاد حافظه را مهار می‌کند (۳۰). به علاوه گودی و همکارانش در ۲۰۱۶ نشان دادند که تزریق پروپانولول به طور مستقیم در BLA سبب مهار افزایش ترس در حافظه عاداتی (memory habit) می‌شود. آن‌ها پیشنهاد کردند که اثرات وابسته به قوه حافظه (mnemonic) محرک‌های هیجانی احتمالاً به هر دو سیستم نورآدرنرژیک و نقش تنظیمی BLA بستگی دارد. به عبارت دیگر، آن‌ها نشان دادند که فعالیت نورآدرنرژیک به ویژه در ناحیه BLA، برای برانگیختگی هیجانی نیاز است تا از این طریق ناحیه پشتی-جانبی استریاتوم (dorsolateral striatum; DLS) که وابسته به حافظه عاداتی است را تحت تأثیر قرار دهد (۳۱). علاوه

براین، مطالعات نشان داده‌اند که وقتی فعالیت β -آدرنرژیک به وسیله تزریق سیستمیک و منظم پروپانولول مهار می‌شود، اثر افزایش هیجانی انگیزشی همانند اثر حافظه در آمیگدال کاسته می‌شود.

آبراهام و همکاران در سال ۲۰۰۸ با بررسی آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های β -آدرنوسپتورها نوع ۱ و ۲ بر انتقال سیناپسی در BLA نشان دادند که xamoterolol (آگونیست اختصاصی β_1 -آدرنوسپتور) سبب تسهیل پتانسیل میدانی سیناپسی تحریکی در BLA می‌شود ولی در حضور بتاکسالول (betaxolol) (آنتاگونیست اختصاصی β_1 -آدرنوسپتور) این اثرات تسهیل سیناپسی کاهش می‌یابد. همچنین سالمترو (salmeterol) (آگونیست اختصاصی β_2 -آدرنوسپتور) نیز سبب تسهیل پتانسیل میدانی سیناپسی تحریکی در BLA می‌شود ولی در حضور ICI 118,551 (آنتاگونیست اختصاصی β_2 -آدرنوسپتور) این اثرات تسهیل سیناپسی کاهش می‌یابد. بنابراین آن‌ها پیشنهاد کردند که بتا-آدرنوسپتورها سبب تسهیل انتقال سیناپسی در BLA از طریق هر دو نوع رسپتورهای بتا ۱ و ۲ می‌شوند (۳۲). همچنین هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، سایر مطالعات نیز بر دخالت و اهمیت فعالیت نورآدرنرژیک در کمپلکس آمیگدال و BLA بر تثبیت حافظه تأکید دارند. علاوه بر این مطالعاتی تأثیر فعالیت نورآدرنرژیک‌ها در BLA و اهمیت آن‌ها در بازیابی و یادآوری اطلاعات را نشان داده‌اند. در مطالعه‌ای کرو و شاو در سال ۱۹۹۷ نشان دادند، آگونیست‌های α و β -آدرنرژیک را بلافاصله بعد از آموزش به کار بردند. آن‌ها نشان دادند که نورآدرنالین، نقش اصلی را در تثبیت حافظه دارد و انواع گیرنده β_2 عامل اصلی فاز میانی در تشکیل حافظه است. به علاوه آن‌ها سالیوتامول را بلافاصله بعد از نوروتوکسین DSP-4 که نوعی نورآدرنرژیک بود، به کار بردند تا اثرات آن را بر حافظه مورد سنجش قرار دهند. نورآدرنالین و سالیوتامول هر دو در بهبود حافظه‌ای که به وسیله DSP-4 ایجاد شده بود موثر بودند و در تثبیت حافظه قدرت تقویت کمی

ارسال واحدهای تحریک شده را به بخش پایینی BLA افزایش دهد تا پاسخ‌های رفتاری مشاهده گردد (۳۴). مکانیسم احتمالی دیگر این است که مهار BLA می‌تواند موجب عدم بازداری (disinhibition) هسته‌های مرکزی آمیگدال (CeA) شود، چراکه BLA اثر مهار می‌کند بر روی ناحیه CeA دارد (۳۵). عدم بازداری CeA می‌تواند موجب فعالیت نواحی پایینی مغز که درگیر پاسخ‌های رفتاری هستند شود. CeA فیرهای تحریکی را به بسیاری از نواحی مغزی که به شدت در ایجاد پاسخ‌ها و رفتارهای وابسته به استرس دخالت دارند، ارسال می‌کند. از جمله مهمترین این نواحی نورون‌های هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین CRH; Corticotropin-releasing (hormone) است که ورودی‌هایی به لوکوس سرولئوس می‌فرستد و همچنین هسته‌های پاراونتریکولار هیپوتالاموس (PVN; Paraventricular nucleus) (۳۶) می‌باشد. بوفالاری و گریس (۲۰۰۷) نشان دادند که تزریق سیستمیک پروپانولول موجب کاهش فعالیت خود به خودی (spontaneous activity) نورون‌های BLA می‌شود (۳۷). این مطالعات و اطلاعات نشان می‌دهد که BLA از طریق ارسال پیام‌هایی به هیپوکمپ ممکن است در تعدیل اثرات استرس بر اعمال هیپوکمپ و افزایش خروجی هیپوکمپ به دیگر نواحی مغزی نقش داشته باشد. از نظر آناتومیک BLA به صورت غیرمستقیم فیرهایی را از طریق کورتکس انتورینال به هیپوکمپ و به صورت مستقیم فیرهایی را از بخش‌های ماگنوسلولار (paraventricular) و (magnocellular) و پاراونتریکولار (paraventricular) به CA1 و سوییپکولوم می‌فرستد که می‌تواند بر روی اعمال هیپوکمپ اثر بگذارد. مطالعات هماهنگی و همزمانی را بین ریتم تا در آمیگدال و هیپوکمپ طی بازیابی ترس شرطی (conditioned fear) را نشان داده‌اند (۳۸). هم چنین، نوراپی نفرین سبب افزایش تحریک پذیری سلولی، پلاستیسیته و انتقال سیناپسی در شکج دندانده ای رت‌ها می‌شود. فعال شدن گیرنده های β -

داشتند. آن‌ها بیان کردند که نقش کلی نورآدرنالین در تثبیت حافظه است، در حالی که گیرنده β_2 در فاز تشکیل حافظه دخالت دارد (۳۳).

در بخش دیگری از مطالعه حاضر، اثرات تزریق آگونیست β_2 -آدرنوسپتور در BLA در شرایط بدون استرس و تحت شرایط استرس بر ویژگی‌های LTP نورون‌های هرمی CA1 هیپوکمپ در شرایط *in vivo* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استرس سبب آسیب به LTP در نورون های CA1 هیپوکمپ در رت‌ها می‌شود. از طرفی نتایج ثبت پتانسیل میدانی نشان داد که تزریق سالبوتامول پنج دقیقه قبل از القای استرس، کاهش معناداری را در دامنه PS و شیب fEPSP در طول ۶۰ دقیقه بعد از HFS در مقایسه با گروه های کنترل، شام و استرس ایجاد کرد.

بنابراین نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده اثر بازدارنده نورآدرنالین، از طریق گیرنده های β_2 -آدرنژیک در BLA بر LTP در نورون های CA1 هیپوکمپ به دنبال استرس شوک الکتریکی کف پا است که به طور متناقض و برخلاف اثرات تسهیل کنندگی سالبوتامول بر رفتارهای حافظه فضایی و هیجانی دیده شده است. به عبارت دیگر نتایج ما نشان داد که عملکرد سالبوتامول در BLA از طریق رسپتورهای β_2 در شرایط با و بدون استرس بر LTP در نورون‌های CA1 به صورت مهار می‌شود.

گزارش شده است که بعد از استرس مزمن، اولاً ساختار ناحیه‌ی CA1 بعد از استرس مزمن تغییر می‌کند و کاهشی کلی در حجم منطقه جلویی-پشتی CA1 به وجود می‌آید. همچنین تغییراتی در طول بخش پایانه دندردیتی سلول‌های هرمی در ناحیه CA1 ایجاد می‌شود. نشان داده شده است که نوراپی نفرین در BLA می‌تواند اثرات مهار می‌شود از طریق مکانیسم های مختلفی اعمال کند. یک مکانیسم احتمالی این است که نوراپی نفرین یک اثر مهار می‌کند بر روی اکثریت نورون های BLA دارد که می‌تواند منجر به افزایش نسبت سیگنال به نویز (signal-to-noise) واحدهایی که تحریک شده اند داشته باشد و این می‌تواند

آدرنرژیک می تواند موجب تسهیل انتقال سیناپسی شود، که این ویژگی می تواند از طریق مکانیسم هایی صورت گیرد که سبب افزایش میزان cAMP درون سلولی و سنتز پروتئین جدید گردد و در نتیجه باعث کسب، تثبیت و حفظ حافظه می شود. به عبارت دیگر، گیرنده های β -آدرنرژیک در غشا نورونی به آدنیلات سیکلاز (AC) از طریق Gs پروتئین متصل می گردد. با این اتصال AC تشکیل cAMP را افزایش می دهد، که آن نیز باعث فعال شدن پروتئین کیناز A (PKA) و در نتیجه فسفریله شدن بسیاری از سوبسترهای سیناپسی و پروتئین های داخل سلولی از جمله CREB (response element binding protein) می شود. احتمال آن وجود دارد که گیرنده های β -آدرنرژیک در غشا نورونی، این مسیر سیگنالینگ عمومی را طی کرده و از این طریق تشکیل حافظه و پلاستیسی سیناپسی را تنظیم می کنند (۳۹). در واقع مطالعاتی نشان داده اند که تحریک گیرنده های β -آدرنرژیک سبب افزایش گیرنده NMDA می شوند که آن نیز انتقال سیناپسی و پلاستیسیته را در BLA افزایش می دهد و تشکیل ترس شرطی را تسهیل می کند (۳۸).

همان گونه که در بالا ذکر شد، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق دو سوبه آگونیست اختصاصی گیرنده های β_2 -آدرنرژیک (سالبوتامول) به BLA قبل از القا استرس نتوانست از آسیب LTP در نورون های CA1 هیپوکمپ به دنبال استرس شوک الکتریکی کف پا جلوگیری کند. نشان داده شده است که فعالیت گیرنده های β_2 -آدرنرژیک در BLA بر تثبیت حافظه بر اساس یک منحنی U شکل معکوس می باشد. بدین صورت که فعالیت بسیار کم و یا خیلی زیاد گیرنده β -آدرنرژیک تثبیت حافظه را در مقایسه با فعالیت متوسط این گیرنده ها آسیب می رساند. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نیز نشان می دهد که ممکن است که یک ارتباط U شکل معکوسی بین فعالیت گیرنده های β_2 -آدرنرژیک در BLA و LTP در نورون های CA1 با تکرار استرس وجود داشته باشد. بدین صورت

که استرس شوک الکتریکی کف پا به طور مکرر در هیپوکمپ موجب آسیب حافظه شده که از طریق تحریک فارماکولوژیکی گیرنده ای β_2 -آدرنرژیک (سالبوتامول) در BLA این آسیب بیشتر می شود. علاوه بر این بیشتر شدن فعالیت گیرنده های β_2 -آدرنرژیک در BLA شکل گیری حافظه در هیپوکمپ را کاهش می دهد. در توضیح نتایج اخیر، باید گفت که افزایش بیش از حد فعالیت گیرنده های β_2 -آدرنرژیک در BLA، احتمالاً موجب افزایش آسیب حافظه در هیپوکمپ شده است. به عبارت دیگر، فعالیت متوسط گیرنده های β_2 -آدرنرژیک در BLA برای تشکیل حافظه در هیپوکمپ مفید است. به هر حال مطالعات بیشتری با استفاده از سایر داروهای انتخابی و دوزهای متفاوت عوامل فارماکولوژیکی و آنتاگونیست β_2 -آدرنرژیک نیاز است تا اثرات این رستهورها در BLA و سایر نواحی مغزی را بر انواع حافظه مشخص کرد.

نتیجه گیری

یافته های مطالعه حاضر تاییدی بر نقش گیرنده های β_2 -آدرنرژیک در BLA است که می توانند در حافظه فضایی و احترازی غیرفعال تاثیرگذار باشند. هم چنین، به نظر می رسد که β -آدرنوسپتورها در BLA میزان LTP را در ناحیه CA1 هیپوکمپ در حالت های طبیعی و استرس میانجی گری می کنند و افزایش بیش از حد فعالیت این رستهورها در BLA می تواند ویژگی های LTP در ناحیه CA1 هیپوکمپ را تحت تاثیر قرار دهد. لذا نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گیرنده های β_2 -آدرنرژیک در BLA یک بخش محوری در سیستم تنظیم حافظه هستند که می تواند عمل خود را از طریق ارتباط متقابل با هیپوکمپ انجام دهد. به عبارتی در مطالعه حاضر تزریق سالبوتامول در BLA قبل از استرس نتوانست اختلال در حافظه احترازی غیرفعال و فضایی ایجاد شده ناشی از استرس را بهبود بخشد که این اثرات به نظر می رسد مستقل از اثرات آن در ایجاد LTP در نورون های CA1 هیپوکمپ باشد.

اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (با کد اخلاق IR.BMSU.REC.1396.814 در این مطالعه مورد توجه قرار گرفته و رعایت شدند. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاهها تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بدینوسیله تشکر و سپاس خود را از حمایت مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله اعلام می‌دارند. کلیه پروتکل‌های مربوط به مطالعات بر روی حیوانات آزمایشگاهی تدوین شده توسط کمیته

منابع

1. Chovatiya R, Medzhitov R. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. *Mol Cell*. 2014;54(2):281-8.
2. Godoy LD, Rossignoli MT, Delfino-Pereira P, Garcia-Cairasco N, de Lima Umeoka EH. A Comprehensive Overview on Stress Neurobiology: Basic Concepts and Clinical Implications. *Front Behav Neurosci*. 2018;12:1-23.
3. McIntyre CK, Roozendaal B. Adrenal stress hormones and enhanced memory. *Neural Plasticity and Memory: From Genes to Brain Imaging* (Bermudez-Rattoni, F. Ed.). CRC Press Boca Raton. 2007:267-8.
4. Ranjbar H, Aghaei I, Moosazadeh M, Shabani M. Angiotensin II type 1 receptor blocker losartan attenuates locomotor, anxiety-like behavior, and passive avoidance learning deficits in a sub-chronic stress model. *Iran J Basic Med Sci*. 2018;21(8):856.
5. Nazeri M, Shabani M, Ravandi SG, Aghaei I, Nozari M, Mazhari S. Psychological or physical prenatal stress differentially affects cognition behaviors. *Physiol Beh*. 2015;142:155-60.
6. McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, et al. Mechanisms of stress in the brain. *Nat Neurosci*. 2015;18(10):1353.
7. Ressler KJ. Amygdala activity, fear, and anxiety: modulation by stress. *Biol Psychiatry*. 2010;67(12):1117-9.
8. Wingenfeld K, Wolf OT. Stress, memory, and the hippocampus. *Front Neurol Neurosci*. 2014;34:109-20.
9. Arnsten AF. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10:410-422.
10. Hansen N. The longevity of hippocampus-dependent memory is orchestrated by the locus coeruleus-noradrenergic system. *Neural Plast*. 2017;2727602:1-10.
11. McCall JG, Siuda ER, Bhatti DL, Lawson LA, McElligott ZA, Stuber GD, et al. Locus coeruleus to basolateral amygdala noradrenergic projections promote anxiety-like behavior. *Elife*. 2017;6:e18247.
12. Nathan SV, Griffith QK, McReynolds JR, Hahn EL, Roozendaal B. Basolateral amygdala interacts with other brain regions in regulating glucocorticoid effects on different memory functions. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1032(1):179-82.
13. de Voogd LD, Klumpers F, Fernández G, Hermans EJ. Intrinsic functional connectivity between amygdala and hippocampus during rest predicts enhanced memory under stress. *Psychoneuroendocrinol*. 2017;75:192-202.
14. Yang Y, Wang JZ. From Structure to Behavior in Basolateral Amygdala-Hippocampus Circuits. *Front Neural Circuits*. 2017;11:86.
15. Roozendaal B, McGaugh JL. Memory modulation. *Behav Neurosci*. 2011;125:797-824.
16. Vouimba RM, Richter-Levin G. Physiological dissociation in hippocampal subregions in response to amygdala stimulation. *Cereb Cortex*. 2005;15:1815-1821.

17. LaLumiere RT, Buen TV, McGaugh JL. Post-training intra-basolateral amygdala infusions of norepinephrine enhance consolidation of memory for contextual fear conditioning. *Neurosci.* 2003;23:6754-6758.
18. Tully K, Bolshakov VY. Emotional enhancement of memory: how norepinephrine enables synaptic plasticity. *Mol Brain*. 2010;3:1-9.
- Tully, K., Bolshakov, V.Y. Emotional enhancement of memory: how norepinephrine enables synaptic plasticity. *Mol Brain* 3, 15 (2010).
19. Ferry B, McGaugh JL. Involvement of basolateral amygdala $\alpha 2$ -adrenoceptors in modulating consolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem.* 2008;154:238-243.
20. Valizadegan F, Oryan S, Nasehi M, Zarrindast MR. Interaction between Morphine and Noradrenergic System of Basolateral Amygdala on Anxiety and Memory in the Elevated Plusmaze Test Based on a Test-retest Paradigm. *Arch Iran Med.* 2013;16(5):281-287.
21. Ehteram BZ, Sahraei H, Meftahi GH, Khosravi M. Effect of intermittent feeding on gonadal function in male and female NMRI mice during chronic stress. *Braz Arch Biol Technol.* 2017;60:e170607.
22. Hassantash M, Sahraei H, Bahari Z, Meftahi GH, Vesali R. The role of dopamine D2 receptors in the amygdala in metabolic and behavioral responses to stress in male Swiss-Webster mice. *Front Biology.* 2017;12(4):298-310.
23. Mereu G, Fà M, Ferraro L, Cagiano R, Antonelli T, Tattoli M, et al. Prenatal exposure to a cannabinoid agonist produces memory deficits linked to dysfunction in hippocampal long-term potentiation and glutamate release. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(8):4915-20.
24. Conrad CD, Magariños AM, LeDoux JE, McEwen BS. Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy. *Behav Neurosci.* 1999;113(5):902-913.
25. Kim EJ, Pellman B, Kim JJ. Stress effects on the hippocampus: a critical review. *Learn Mem.* 2015;22(9):411-6.
26. Lindau M, Almkvist O, Mohammed AH. Effects of stress on learning and memory. In *Stress: Concepts, cognition, emotion, and behavior.* Academic Press. 2016;153-160
27. Hatfield T, McGaugh JL. Norepinephrine infused into the basolateral amygdala posttraining enhances retention in a spatial water maze task. *Neurobiol Learn Mem.* 1999;71(2):232-9.
28. Ferry B, McGaugh JL. Clenbuterol administration into the basolateral amygdala post-training enhances retention in an inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem.* 1999;72(1):8-12.
29. McGaugh JL, McIntyre CK, Power AE. Amygdala modulation of memory consolidation: interaction with other brain systems. *Neurobiol Learn Mem.* 2002;78(3):539-52.
30. Quirarte GL, Roozendaal B, McGaugh JL. Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(25):14048-53.
31. Goode TD, Leong KC, Goodman J, Maren S, Packard MG. Enhancement of striatum-dependent memory by conditioned fear is mediated by beta-adrenergic receptors in the basolateral amygdala. *Neurobiol Stress.* 2016;3:74-82.
32. Abraham PA, Xing G, Zhang L, Eric ZY, Post R, Gamble EH, et al. $\beta 1$ - and $\beta 2$ -adrenoceptor induced synaptic facilitation in rat basolateral amygdala. *Brain Res.* 2008;1209:65-73.
33. Crowe SF, Shaw S. Salbutamol overcomes the effect of the noradrenergic neurotoxin DSP-4 on memory function in the day-old chick. *Behav Pharmacol.* 1997;8(2-3):216-22.
34. Devilbiss DM, Waterhouse BD. The effects of tonic locus ceruleus output on sensory-evoked responses of ventral posterior medial thalamic and barrel field cortical neurons in the awake rat. *J Neurosci.* 2004;24(48):10773-85.
35. Rosenkranz JA, Buffalari DM, Grace AA. Opposing influence of basolateral amygdala and footshock stimulation on neurons of the central amygdala. *Biol Psychiatry.* 2006;59:801-811.
36. Pitts MW, Todorovic C, Blank T, Takahashi LK. The central nucleus of the amygdala and corticotropin-releasing factor: insights into contextual fear memory. *J Neurosci.* 2009;29(22):7379-88.

37. Buffalari DM, Grace AA. Noradrenergic modulation of basolateral amygdala neuronal activity: opposing influences of α -2 and β receptor activation. *J Neurosci*. 2007;27(45):12358-66.
38. Seidenbecher T, Laxmi TR, Stork O, Pape HC. Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval. *Science*. 2003;301(5634):846-50.
39. Qu LL, Guo NN, Li BM. β_1 - and β_2 -Adrenoceptors in basolateral nucleus of amygdala and their roles in consolidation of fear memory in rats. *Hippocampus*. 2008;18(11):1131-9.