

## مقاله پژوهشی

## تعدیل اثرات استرسی مزمن از طریق افزایش فعالیت سیستم آدرنرژیک

معصومه صرفی، محمود الهدادی سلمانی<sup>\*</sup>، تقی لشکریلوکی، ایران گودرزی

دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران

دریافت: ۲۴ مهر ۱۴۰۱

پذیرش: ۲۴ آبان ۱۴۰۱

## چکیده

**زمینه و هدف:** سیستم نورآدرنرژیک در بروز رفتارهای مرتبط با استرس و اضطراب دخیل است. مسیرهای عصبی استرس و سیستم نورآدرنرژیک در هیپوکمپ اثرگذاری دوطرفه بر یکدیگر دارند. لذا در این مطالعه به بررسی اثر فعالسازی سیستم نورآدرنرژیک بر اضطراب و یادگیری در شرایط استرس پرداخته می‌شود.

**روش کار:** به موش‌های نر بالغ با وزن ۲۳۰-۱۸۰ نژاد ویستار، استرس مقیدکننده به‌صورت حاد (۳ روز) یا مزمن (۲۱ روز) داده شد. یوهمبین با دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم (تجویز داخل صفاقی) جهت فعالسازی سیستم نورآدرنرژیک تزریق گردید. پس از ۲۴ ساعت از آخرین جلسه استرس، یادگیری اجتماعی و سپس اضطراب و رفتار جستجوگرانه و تشخیص شیئی جدید در حیوانات بررسی گردید.

**یافته‌ها:** میزان همجواری با موش آشنا (غریبه ۱) نسبت به کنترل در اثر استرس حاد ( $p < 0/01$ ) و مزمن ( $p < 0/001$ ) کاهش و با موش غریبه (غریبه ۲) افزایش یافت. زمان حضور در بازوی باز ماز بعلاوه مرتفع در اثر استرس حاد و مزمن و تجویز یوهمبین نسبت به کنترل کاهش ( $p < 0/001$ ) و در بازوی بسته ( $p < 0/001$ ) افزایش پیدا کرد. میزان بیحرکتی در آزمون زمینه باز در اثر استرس حاد ( $p < 0/01$ ) و مزمن ( $p < 0/001$ ) افزایش یافت، درحالی‌که بدنبال تجویز یوهمبین در گروه استرس مزمن کاهش ( $p < 0/001$ ) یافت. زمان گذرانده شده با شیئی آشنا در اثر استرس مزمن افزایش ( $p < 0/001$ ) و در شرایط استرس حاد و تجویز یوهمبین کاهش ( $p < 0/001$ ) یافت.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که افزایش فعالیت سیستم نورآدرنرژیک باعث تعدیل اثرات استرس مزمن می‌گردد، که حاکی از همکاری احتمالی سیستم گلوکوکورتیکوئیدی و آدرنرژیک می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: استرس، سیستم نورآدرنرژیک، یادگیری و حافظه، اضطراب

## مقدمه

استرس معمولاً به‌عنوان محرکی تعریف می‌شود که تعادل درونی بدن (هم ایستایی<sup>۱</sup> فیزیولوژیکی) را برهم می‌زند. طیف متنوعی از پاسخ‌های رفتاری سازشی بدنبال قرارگیری در معرض انواع محرک‌های استرس‌زا شروع می‌شود. پاسخ‌های نورواندوکرین و خودکار<sup>۲</sup>، آغاز روند سازش‌های رفتاری متناسب با نوع محرک و به منظور حفظ هم ایستایی، افزایش عملکرد مطلوب و تضمین بقا در مواجهه با چالش و تهدید می‌باشند [۱]. محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-فوق کلیه<sup>۳</sup> و سیستم هسته

آبی-نوراپی نفرین<sup>۴</sup> دو شبکه اصلی مغز هستند که به‌طور سیستماتیک مرتبط با استرس می‌باشند. یک محرک استرس‌زا می‌تواند محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-فوق کلیه را فعال کند که در نتیجه باعث افزایش سطح گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود و نیز منجر به افزایش سطوح نوراپی نفرین مرکزی می‌شود. شواهد متعددی وجود دارد که این هورمون‌های استرس در آمیگدال قاعده جانبی<sup>۵</sup> تعامل دارند و سپس به‌طور مشخص بر فرایندهای حافظه در سایر مناطق مغز مثل هیپوکامپ تاثیر می‌گذارند [۲]. به‌عنوان مثال استرس می‌تواند تثبیت حافظه را

<sup>4</sup> Locus coeruleus-norepinephrine<sup>5</sup> Basolateral amygdala<sup>1</sup> Homeostasis<sup>2</sup> Autonomic<sup>3</sup> Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA)

باشد. در این راستا، کولوچی<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که تجویز آمفتامین حافظه استرس خفیف را تقویت می‌نماید درحالی‌که حافظه استرس قوی را مختل می‌کند و این اثرات را از طریق افزایش سطوح مونوآمین‌ها انجام می‌دهد [۹]. بطور مشابهی، فعالسازی سیستم نورآدرنژیک با تجویز یوهمبین توانست اثر تثبیت حافظه ترس شرطی شده را تقویت نماید [۱۰].

همانطور که بیان شد شواهد متعددی وجود دارد که سیستم نورآدرنژیک که توسط استرس فعال می‌شود، بر یادگیری و حافظه و نیز برخی پاسخ‌های رفتاری مرتبط با استرس نقش دارد. اما تحقیق در زمینه اثرات فعالسازی همزمان سیستم نورآدرنژیک بر رفتارهای یادگیری، حافظه و اضطراب و شناخت انجام نشده است. بنابراین در این پژوهش به بررسی نقش فعالیت سیستم نورآدرنژیک در پاسخ استرسی پرداخته می‌شود. پاسخ‌های استرسی از طریق یادگیری و حافظه اجتماعی، اضطراب و شناخت بررسی می‌گردد که هر یک به ترتیب نشانگر فعالیت مراکز هیپوکامپ، آمیگدال و قشر پیش پیشانی به‌عنوان مراکز درگیر در استرس می‌باشند.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

در این تحقیق از موش‌های نر بالغ با وزن ۲۳۰-۱۸۰ از نژاد ویستار استفاده شد. موش‌ها در قفس‌های مخصوص به‌صورت گروهی (۴ عدد در هر قفس) و در شرایط استاندارد آزمایشگاهی ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، رطوبت ۳۰ تا ۴۰ درصد و درجه حرارت  $22 \pm 2$  در شرایط دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می‌شدند و در تمامی مراحل آزمایش، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه دامغان رعایت گردید.

### داروها

داروی یوهمبین<sup>۷</sup> (آنتاگونیست گیرنده  $\alpha 2$  آدرنژیک، شرکت سیگما، آمریکا) با دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم در آب دیونیزه حل شد و روزانه به‌صورت داخل صفاقی تزریق می‌گردید و سپس موش‌ها در مقیدکننده قرار می‌گرفتند.

به‌طور ویژه برای اطلاعات مربوط به حافظه هیجانی افزایش دهد، ولی حافظه بخاطرآوری را در جوندگان و انسان دچار نقص می‌کند [۳].

در مجموع اثرات استرس بر یادگیری و حافظه پیچیده است. نوع حافظه و فعالیت سیستم‌های پاسخ استرسی نیز در این اثرگذاری دخیل هستند. این حقیقت که پاسخ فیزیولوژیکی استرس زمانی مفید است که در طی دوره یادگیری رخ می‌دهد اما در طی بازیابی، حافظه را مختل می‌کند [۴]، بیانگر آن است که عناصری از پاسخ استرسی می‌توانند شدت و عواقب ناشی از استرس را (وابسته به زمان اعمال)، تعدیل نمایند. سیستم نورآدرنژیک مغز یکی از مهم‌ترین اجزای سیستم استرسی و تعدیل‌کننده استرس است. اثرات تعدیلی نوراپی نفرین در بسیاری از مدارهای مغزی، از طریق مسیرهای مختلف انتقال سیگنال به‌وسیله گیرنده‌های آلفا و بتا آدرنژیک بوجود می‌آید [۱].

مناطق خاص مغزی درگیر در پاسخ استرس شامل آمیگدال، هیپوکامپ و تالاموس، هیپوتالاموس، قشر جلوی مغز و لوکوس سروئوس می‌باشد. تحقیق در مورد جوندگان و انسان نشان داده است که هیپوکامپ بعنوان محل شکل‌گیری حافظه، می‌تواند تحت تاثیر استرس و نیز فعالیت نورآدرنژیک قرار بگیرد [۵]. ازطرفی، استرس باعث فعالسازی سریع و قوی سیستم نورآدرنژیک هسته آبی می‌شود. رفتارهایی که به‌طور خاص در طی موقعیت‌های استرس و ترس رخ می‌دهد همراه با افزایش در فعالسازی سیستم نورآدرنژیک هسته آبی می‌باشد. بعنوان مثال تزریق نوراپی نفرین به هیپوتالاموس گربه‌ها باعث رفتارهای تدافعی و تهاجمی مثل خش‌خش کردن، غرغر کردن و انقباض گوش می‌شود [۶]. به‌دنبال شوک پا در موش صحرایی و استرس مقیدشدن در گربه‌ها، افزایش ضربان قلب و فشارخون که بخش مرکزی پاسخ استرس است به‌طور موازی همراه با فعال شدن هسته آبی و افزایش نوراپی نفرین در پلازما اتفاق می‌افتد [۷]. همچنین مدتهاست که ارتباط بین عملکرد نورآدرنژیک و حافظه مورد توجه است و در این راستا به نظر می‌رسد که نوراپی نفرین در اکتساب و نگهداری آثار حافظه نقش دارد. به‌طوری‌که تخریب دسته نورآدرنژیک پشتی با فیبرهایی که از هسته آبی به قشر مغز ارسال می‌کنند سبب نقص در اکتساب اطلاعات جدید می‌گردد [۸]. این دوگانگی می‌تواند ناشی از مداخله سیستم نورآدرنژیک در اثرات استرس

<sup>6</sup> Colucci

<sup>7</sup> Yohimbine

## الگوی استرس

تحت استرس مزمن قرار گرفتند و سپس آزمون‌های رفتاری انجام شد.

## ماز اجتماعی

این ماز، وسیله‌ای است که اجتماعی بودن و ترجیح برای نو بودن اجتماعی را در مدل‌های جوندگان سالم و دارای نقص در سیستم عصبی مرکزی می‌کند. جوندگان به‌طور طبیعی ترجیح می‌دهند تا بیشترین زمان خود را با جونده دیگر سپری کنند (اجتماعی‌بودن) و یک جونده جدید را بیشتر از جونده آشنا جستجو خواهند کرد (ترجیح برای نو بودن اجتماعی). براین اساس این ماز قادر است جوندگان با نقص در اجتماعی بودن و/یا نبودن اجتماعی را شناسایی کند. ماز اجتماعی یک جعبه با ابعاد  $90 \times 60 \times 40$  می باشد که به سه بخش مساوی تقسیم می‌شود هر بخش به دیگری ورودی دارد و در هر دو بخش طرفی یک عدد قفس میله‌دار برای حیوان غریبه تعبیه شده است تا موش مورد آزمایش بتواند بطور مستقیم با آن تعامل داشته باشد. آزمون در این ماز شامل سه مرحله می‌باشد: ابتدا در مرحله خوگیری<sup>۱۶</sup> که حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در ماز خالی قرار داده می‌شود تا بطور آزادانه در هر سه بخش حرکت کند. بعد از خوگیری، در مرحله بعد، "اجتماعی بودن"<sup>۱۷</sup> آزمون می‌گردد. یک حیوان (غریبه ۱) که موش مورد آزمایش قبلاً با آن مواجه نشده است در قفس میله‌دار سمت راست قرار داده می‌شود و در قفس اتاقک مقابل (سمت چپ) حیوانی وجود ندارد. رفتار تعاملی حیوان مورد آزمایش با حیوان غریبه در این مرحله به مدت ۱۰ دقیقه مورد بررسی قرار می‌گیرد. بلافاصله پس از مرحله اجتماعی بودن، مرحله "نو بودن اجتماعی" نیز به مدت ۱۰ دقیقه انجام خواهد گرفت که طی آن حیوان جدید دیگری (غریبه ۲) در داخل قفس میله‌دار راست و حیوان غریبه ۱ (آشنا) در قفس سمت چپ قرار داده می‌شود. در هر دو آزمایش، زمان تعامل حیوان مورد آزمایش با حیوان داخل قفس هر بخش اندازه‌گیری می‌شود.

## ماز به علاوه‌ای مرتفع

به‌منظور بررسی سنجش اضطراب از این آزمون استفاده می‌شود. این ماز از دو بازوی باز و بسته تشکیل شده است که

حیوانات در گروه استرس حاد، به مدت ۳ روز و هر روز ۶ ساعت در مقیدکننده قرار گرفتند و در گروه استرس مزمن، مدت ۲۱ روز و روزانه ۶ ساعت درون مقیدکننده قرار گرفتند [۱۱]. در هر دو گروه استرس حاد و مزمن، حیوانات پس از گذشت ۲۴ ساعت از آخرین جلسه استرس، تحت آزمون‌های رفتاری قرار گرفتند.

## گروه‌های آزمایش

حیوانات مورد استفاده در این آزمایش به ۶ گروه آزمایشی تقسیم‌بندی شدند که به قرار زیر می‌باشد:

۱- کنترل (CTRL)<sup>۸</sup>: حیوانات به‌صورت دست‌نخورده تحت آزمون‌های رفتاری ماز اجتماعی<sup>۹</sup>، ماز بعلاوه مرتفع<sup>۱۰</sup>، آزمون زمینه باز<sup>۱۱</sup> و آزمون تشخیص شیئی جدید<sup>۱۲</sup> با فاصله ۲۴ ساعت قرار گرفتند.

۲- استرس مزمن (CH.STS)<sup>۱۳</sup>: حیوانات در این گروه، به مدت ۲۱ روز و روزانه ۶ ساعت درون مقیدکننده بودند [۱۱]. پس از گذشت ۲۴ ساعت در روز ۲۲ حیوانات تحت آزمون‌های رفتاری قرار گرفتند.

۳- استرس حاد (A.STS)<sup>۱۴</sup>: حیوانات در این گروه، به مدت ۳ روز و هر روز به مدت ۶ ساعت در مقیدکننده قرار داشتند و نهایتاً پس از گذشت ۲۴ ساعت از آخرین روز استرس، آزمون‌های رفتاری بر روی آن‌ها انجام گردید.

۴- کنترل + نورآدرنژیک فعال (CTRL + Y<sup>۱۵</sup>): این گروه مشابه با گروه کنترل است، با این تفاوت که یوهمبین (آنتاگونیست گیرنده  $\alpha 2$  آدرنژیک) با دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید و پس از آن آزمون‌های رفتاری انجام شد.

۵- استرس مزمن + نورآدرنژیک فعال (CH.STS + Y): این گروه مشابه با گروه استرس مزمن است با این تفاوت که یوهمبین به صورت داخل صفاقی تزریق شد و سپس موش‌ها

<sup>8</sup> Control

<sup>9</sup> Social maze

<sup>10</sup> Elevated plus maze

<sup>11</sup> Open field test

<sup>12</sup> Object recognition test

<sup>13</sup> Chronic stress

<sup>14</sup> Acute stress

<sup>15</sup> Yohimbine

<sup>16</sup> Habituation

<sup>17</sup> Sociability

اجتماعی بودن و نبودن اجتماعی مورد بررسی قرار گرفت.

### بررسی نتایج مربوط به آزمون ماز اجتماعی (اجتماعی بودن)

مقایسه مربوط به نتایج آزمون اجتماعی بودن با آنالیز ANOVA یکطرفه تفاوت معنی داری بین گروه‌های آزمایشی در اتاقک غریبه ۱ [ $F(4, 35) = 5.06, p = 0.003$ ] نشان داد و اختلاف معنی داری بین گروه‌های آزمایشی اتاقک راست (خالی) [ $F(4, 35) = 4.13, p = 0.008$ ] نیز مشاهده گردید. بررسی با آزمون تکمیلی توکی بیانگر کاهش معنی دار زمان حضور در بخش غریبه ۱ ( $n = 8, p < 0.001$ ) و افزایش حضور در اتاقک چپ ( $n = 8, p < 0.01$ ) در گروه استرس حاد نسبت به کنترل می‌باشد. همچنین با آزمون تکمیلی توکی کاهش و افزایش معنی داری بین گروه استرس حاد و مزمن بترتیب در اتاقک غریبه اول و در اتاقک چپ ( $n = 8, p < 0.05$ ) مشاهده گردید. مقایسه عملکرد سایر گروه‌ها با آزمون توکی تفاوت معنی داری را در مرحله اجتماعی بودن نشان نداد (نمودار ۱).

### بررسی نتایج مربوط به آزمون ماز اجتماعی (نو بودن اجتماعی)

مقایسه مربوط به نتایج آزمون نو بودن اجتماعی با آنالیز ANOVA یکطرفه، تفاوت معنی داری بین گروه‌های آزمایشی در اتاقک غریبه ۱ (آشنا) [ $F(4, 34) = 8.77, p = 0.000$ ] و بین گروه‌های آزمایشی در اتاقک غریبه ۲ (غریبه) [ $F(4, 33) = 12.04, p = 0.000$ ] نشان داد. بررسی با آزمون تکمیلی توکی بیانگر افزایش زمان حضور در اتاقک آشنا ( $n = 8, p < 0.001$ ) و کاهش حضور در اتاقک غریبه ( $n = 8, p < 0.001$ ) در گروه استرس مزمن نسبت به کنترل می‌باشد. همچنین نتایج آزمون تکمیلی توکی افزایش زمان حضور در اتاقک آشنا ( $n = 8, p < 0.01$ ) و کاهش حضور در اتاقک غریبه ( $n = 8, p < 0.01$ ) در گروه استرس حاد نسبت به کنترل را نیز نشان داد. آزمون تکمیلی توکی در گروه استرس مزمن + یوهیمین نیز افزایش معنی داری در زمان حضور در اتاقک آشنا ( $n = 8, p < 0.05$ ) و کاهش معنی داری در زمان حضور در اتاقک غریبه ( $n = 8, p < 0.01$ ) نسبت به گروه کنترل + یوهیمین نشان داد (نمودار ۲).

به صورت بعلاوه نسبت به هم قرار گرفته‌اند و ۵۰ سانتیمتر از سطح زمین ارتفاع دارد. حیوان در مرکز ماز و رو به بازوی باز قرار گرفته و زمان حضور حیوان در بازوی باز یا بسته به مدت ۵ دقیقه ارزیابی می‌شود. هر چه مدت زمان حضور حیوان در بازوی بسته بیشتر باشد، نشان می‌دهد که حیوان اضطراب بیشتری دارد.

### آزمون زمینه باز

این وسیله جهت ارزیابی رفتار جستجوگرانه موش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این آزمایش موش در جعبه ای با ۱۶ مربع فرضی در کف جعبه قرار می‌گیرد. ۱۲ مربع در محیط جعبه و ۴ مربع در مرکز قرار دارد. رفتار حیوان به مدت ۵ دقیقه بررسی شده و متغیر زمان بیحرکتی به منظور بررسی رفتار اکتشافی اندازه گیری می‌شود.

### آزمون تشخیص شیئی جدید

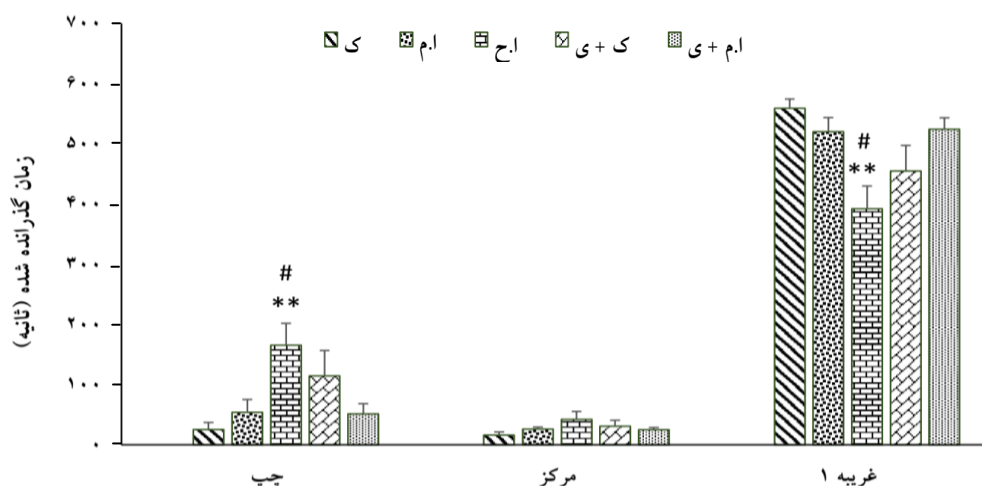
یک سنجش رفتاری رایج برای بررسی جنبه‌های مختلف یادگیری و حافظه در موش است که هیپوکامپ و قشر پیش پیشانی را درگیر می‌کند. موش‌ها تمایل بیشتری برای ارتباط با شیئی جدید نسبت به شیئی آشنا دارند. موش ابتدا برای مرحله خوگیری در دستگاه قرار می‌گیرد تا با محیط آشنا شود و سپس در مرحله بعد دو شیئی یکسان در باکس قرار می‌گیرد که موش باید آن‌ها را کشف و شناسایی کند. سپس موش را از دستگاه خارج کرده و مجدداً بعد از ده دقیقه موش به دستگاه که اکنون به جای شیئی آشنای سمت راست یک شیئی جدید است بازگردانده می‌شود. مدت زمان سپری شده با شیئی جدید ثبت و بررسی می‌گردد.

### تحلیل آماری

سنجش‌های آماری به وسیله نرم افزار SPSS V. 23 و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلی توکی صورت گرفته و سطح معنی داری داده‌ها  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

عملکرد حیوانات گروه‌های مختلف به منظور بررسی اثر استرس در شرایط فعالیت سیستم نورآدرنژیک در دو مرحله



**نمودار ۱-** اثر استرس حاد و مزمن و فعالسازی سیستم نورآدرنژیک بر اجتماعی بودن. استرس حاد زمان مجاورت با حیوان غریبه ۱ (اتاقک راست) را کاهش و اتاقک چپ (خالی) را افزایش دادند. استرس مزمن و فعالسازی سیستم نورآدرنژیک در شرایط حیوان دست نخورده و استرس دیده نسبت به گروه مرتبط تغییری ایجاد نکرد. ک، کنترل (n = ۸)؛ ا.م، استرس مزمن (n = ۸)؛ ا.ح، استرس حاد (n = ۸)؛ ک + ی، کنترل + یوهیمین (n = ۸)؛ ا.م + ی، استرس مزمن + یوهیمین (n = ۸). نتایج بصورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار در نظر گرفته شده است. \*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل با  $p < 0.01$ ؛ #: تفاوت معنی دار با گروه استرس مزمن با  $p < 0.05$ .

### بررسی نتایج مربوط به آزمون ماز بعلاوه مرتفع

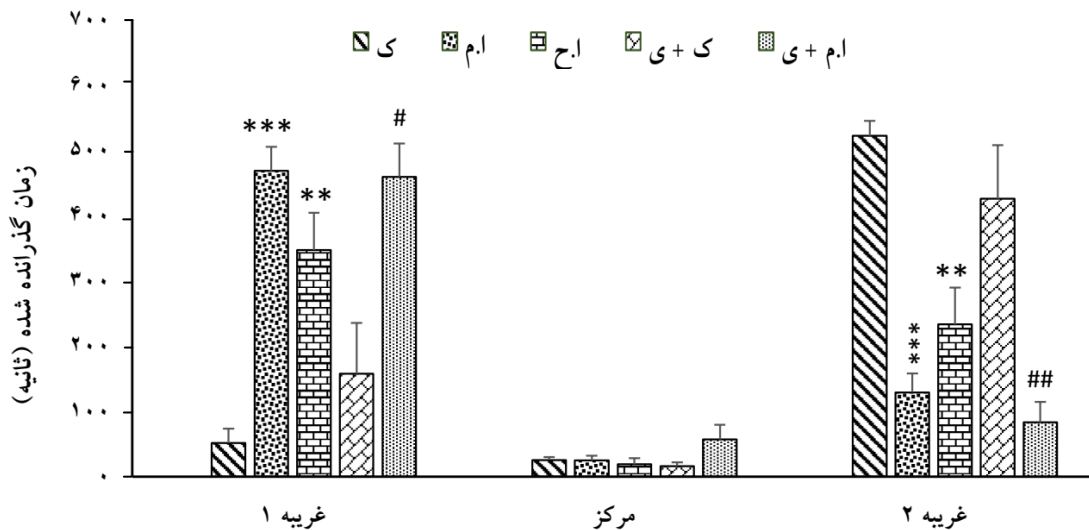
مدت زمان حضور در بازوهای باز و بسته به منظور بررسی میزان اضطراب در تمام گروه‌های آزمایشی بررسی و ثبت گردید. مقایسه نتایج گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی در مدت زمان حضور در بازوی باز [F(۴, ۳۵) = ۱۰/۱۶,  $p = 0.000$ ] و بازوی بسته [F(۴, ۳۵) = ۱۴/۰۳,  $p = 0.000$ ] نشان داد. با استفاده از نتایج آزمون توکی کاهش معنی‌داری در زمان صرف شده در بازوی باز (n = ۸,  $p < 0.001$ ) و افزایش معنی‌داری در بازوی بسته (n = ۸,  $p < 0.001$ ) در گروه استرس مزمن نسبت به کنترل مشاهده گردید. گروه استرس حاد نیز کاهش معنی‌داری در زمان صرف شده در بازوی باز (n = ۸,  $p < 0.001$ ) و افزایش معنی‌داری در بازوی بسته (n = ۸,  $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل نشان داد. همچنین با توجه به نتایج آزمون توکی موش‌های گروه کنترل که یوهیمین دریافت کردند کاهش معنی‌داری در زمان صرف شده در بازوی باز (n = ۸,  $p < 0.001$ ) و افزایش معنی‌داری در بازوی بسته (n = ۸,  $p < 0.001$ ) نسبت به کنترل داشتند (نمودار ۳).

### بررسی نتایج مربوط به مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون زمینه باز

یکی از مهمترین متغیرهای قابل بررسی و مقایسه رفتار جانوری، میزان حرکت جستجوگرانه یا معکوس آن یعنی بیحرکتی می‌باشد. میزان بیحرکتی با استفاده از آنالیز آماری ANOVA یکطرفه، تفاوت معنی‌داری [F(۴, ۳۵) = ۲۵/۹۹,  $p = 0.000$ ] بین گروه‌های آزمایشی نشان داد. با آزمون تکمیلی توکی افزایش معنی‌دار زمان بیحرکتی در گروه استرس مزمن (n = ۸,  $p < 0.001$ ) و استرس حاد (n = ۸,  $p < 0.01$ ) نسبت به کنترل مشاهده گردید. همچنین این آزمون افزایش معنی‌داری در گروه کنترل + یوهیمین (n = ۸,  $p < 0.05$ ) نسبت به کنترل نشان داد. در گروه استرس مزمن + یوهیمین نیز کاهش معنی‌داری نسبت به گروه استرس مزمن مشاهده گردید (n = ۸,  $p < 0.001$ ) (نمودار ۴).

### بررسی نتایج مربوط به آزمون تشخیص شیئی جدید

عملکرد حیوانات گروه‌های مختلف در دو موقعیت آشنایی با شیئی آشنا و شیئی جدید مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه



**نمودار ۲-** اثر استرس حاد و مزمن و فعالسازی سیستم نورآدرنرژیک بر یادگیری (نو بودن) اجتماعی. استرس حاد و مزمن زمان مجاورت با حیوان غربیه ۱ (آشنا) را افزایش و غربیه ۲ (غربیه) را کاهش دادند. فعالسازی سیستم نورآدرنرژیک در شرایط حیوان دست نخورده و استرس دیده نسبت به گروه مرتبط تغییری ایجاد نکرد. ک، کنترل ( $n = 8$ )؛ ا.م، استرس مزمن ( $n = 8$ )؛ ا.ح، استرس حاد ( $n = 8$ )؛ ک + ی، کنترل + یوهیمین ( $n = 8$ )؛ ا.م + ی، استرس مزمن + یوهیمین ( $n = 8$ ). نتایج بصورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار در نظر گرفته شده است.  $p < 0.01$ : \*\* و  $p < 0.001$ : \*\*\*؛ تفاوت معنی دار با گروه کنترل؛ #:  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$ : ##؛ تفاوت معنی دار با گروه کنترل + یوهیمین.

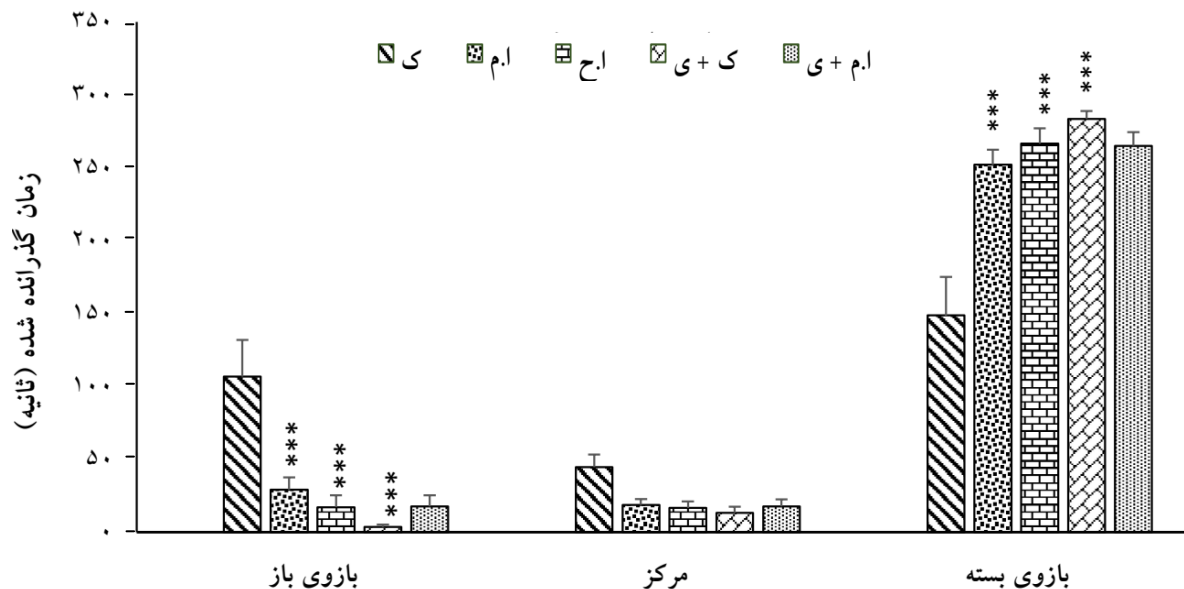
نورآدرنرژیک است. نتایج این مطالعه نشان داد که استرس حاد و مزمن موجب کاهش حضور در بازوی باز و افزایش حضور در بازوی بسته ماز بعلاوه مرتفع و نیز افزایش زمان همجواری با موش آشنا در ماز اجتماعی و شیء آشنا در آزمون شیء جدید می‌گردد. همچنین مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون زمینه باز افزایش یافت. از طرفی، افزایش فعالیت سیستم نورآدرنرژیک از طریق تزریق یوهیمین (آنتاگونیست گیرنده آدرنرژیک) به‌تنهایی باعث افزایش زمان بی‌حرکتی در آزمون زمینه باز گردید، در حالی که در شرایط استرس مزمن، میزان بی‌حرکتی را کاهش داد. از طرف دیگر، زمان گذرانده شده با شیء جدید که در شرایط استرس مزمن کاهش یافته بود، در شرایط فعالسازی سیستم نورآدرنرژیک کاهش بیشتری یافت.

مطابق با مطالعه قبلی، استرس باعث افزایش بیحرکتی و رفتارهای اضطرابی در حیوان می‌گردد [۱۲]. در مطالعه حاضر نیز استرس میزان همجواری با موش غربیه و شیء جدید در آزمون ماز اجتماعی و آزمون تشخیص شیء جدید را کاهش داد که به معنی افزایش اضطراب و کاهش یادگیری و تعامل اجتماعی است. افزایش بیحرکتی ناشی از استرس در آزمون زمینه باز و کاهش حضور در بازوی باز ماز بعلاوه مرتفع نیز تاییدکننده اضطراب است.

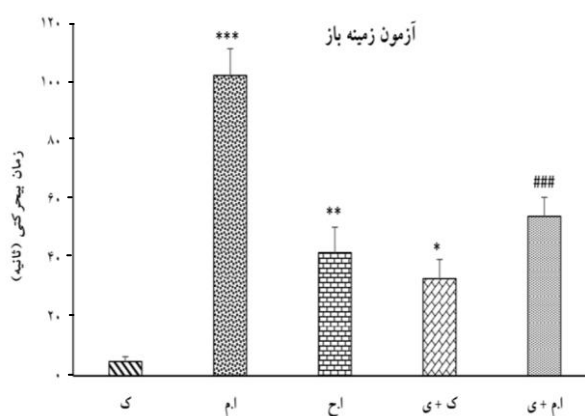
مربوط به نتایج آزمون تشخیص شیء جدید با آنالیز ANOVA تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی در هردو وضعیت شیء آشنا [ $F(4, 35) = 24/45, p = 0.000$ ] و شیء جدید [ $F(4, 35) = 65/27, p = 0.000$ ] نشان داد. نتایج آزمون تکمیلی توکی در زمان گذرانده شده در مجاورت شیء جدید، کاهش معنی‌داری در تمامی گروه‌ها ( $n = 8, p < 0.001$ ) نسبت به کنترل نشان داد. در موقعیت آشنایی با شیء جدید، کاهش معنی‌داری در گروه استرس مزمن + یوهیمین ( $n = 8, p < 0.05$ ) و گروه استرس حاد ( $n = 8, p < 0.001$ ) نسبت به گروه استرس مزمن مشاهده گردید. همچنین در موقعیت شیء آشنا، گروه استرس مزمن افزایش معنی‌داری نشان داد. در این آزمون در موقعیت آشنایی با شیء آشنا، کاهش معنی‌داری در نتایج دو گروه استرس حاد و استرس مزمن + یوهیمین ( $n = 8, p < 0.001$ ) در مقایسه با گروه استرس مزمن مشاهده گردید (نمودار ۵).

## بحث

هدف از این تحقیق بررسی اثر استرس بر یادگیری و حافظه و اضطراب و نقش فعالسازی همزمان سیستم

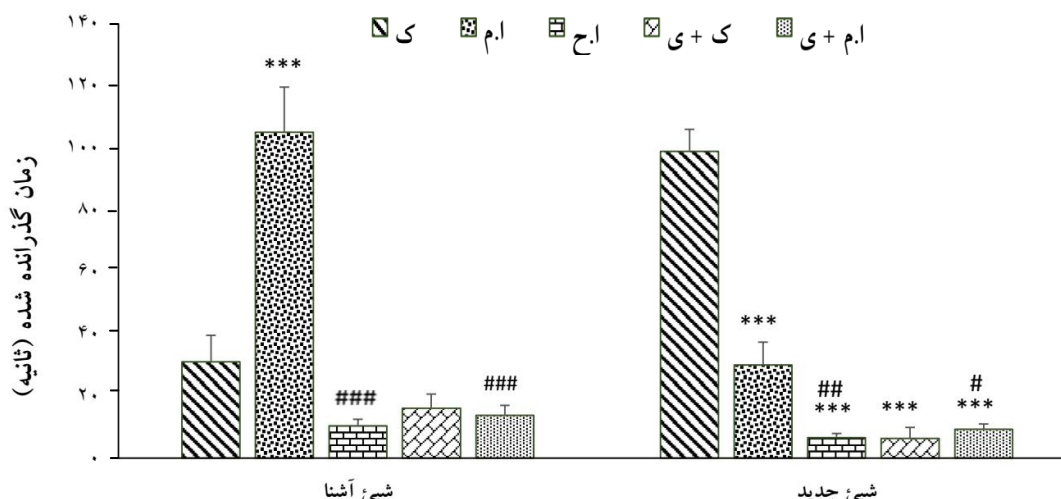


**نمودار ۳-** اثر استرس حاد و مزمن و فعالسازی سیستم نورآدرنژیک بر رفتار اضطرابی در ماز بعلاوه مرتفع. استرس حاد و مزمن و فعالسازی سیستم نورآدرنژیک زمان حضور در بازوی باز ماز بعلاوه مرتفع را کاهش و زمان حضور در بازوی بسته را افزایش دادند. زمان حضور در مرکز ماز در گروه های مختلف تفاوتی نداشت. ک، کنترل (n = ۸)؛ ا.م، استرس مزمن (n = ۸)؛ ا.ج، استرس حاد (n = ۸)؛ ک + ی، کنترل + یوهیمین (n = ۸)؛ ا.م + ی، استرس مزمن + یوهیمین (n = ۸). نتایج بصورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار در نظر گرفته شده است. \*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل با  $p < 0.01$ .



**نمودار ۴-** اثر استرس حاد و مزمن و فعالسازی سیستم نورآدرنژیک بر رفتار اضطرابی در آزمون زمینه باز. استرس حاد و مزمن و فعالسازی سیستم نورآدرنژیک، زمان بیحرکتی در آزمون زمینه باز را افزایش دادند. فعالسازی سیستم نورآدرنژیک میزان بیحرکتی در حیوانات استرس دیده مزمن را کاهش داد. ک، کنترل (n = ۸)؛ ا.م، استرس مزمن (n = ۸)؛ ا.ج، استرس حاد (n = ۸)؛ ک + ی، کنترل + یوهیمین (n = ۸)؛ ا.م + ی، استرس مزمن + یوهیمین (n = ۸). نتایج بصورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار در نظر گرفته شده است. \*:  $p < 0.05$  و \*\*:  $p < 0.01$  و \*\*\*:  $p < 0.001$  تفاوت معنی دار با گروه استرس مزمن با  $p < 0.01$ .

استرس حاد و مزمن می توانند اثرات متفاوتی در آزمون های مختلف از خود نشان دهند. کاتر و همکاران نشان دادند که استرس مزمن شرایطی مشابه افسردگی به صورت کاهش تمایل به فعالیت از خود بروز میدهد که با استفاده از داروهای ضد افسردگی درمان میشود، درحالی که این شرایط در استرس حاد دیده نمی شود [۱۳]. البته در مطالعه ازبکی و همکاران (۲۰۱۶)، تفاوتی بین اثرات استرس حاد و مزمن در یادگیری و بازخوانی حافظه دیده نمی شود [۱۴]. در مطالعه حاضر، اثرات استرس حاد و مزمن در آزمون زمینه باز و آزمون تشخیص شیئی جدید متفاوت و نشان دهنده افزایش اثر استرس مزمن در میزان بیحرکتی آزمون زمینه باز بود که می تواند نشانگر تجمع اثر تکرار روزانه استرس بوده باشد. میزان مجاورت با شیئی آشنا در آزمون تشخیص شیئی جدید در اثر استرس مزمن افزایش یافت، درحالی که اثر استرس حاد کاهشی بود. این تفاوت در اثر استرس حاد و استرس مزمن در مطالعه بهرام زاده و همکاران (۲۰۱۹) نیز به صورت اثر کاهشی استرس حاد بر مجاورت با حیوان آشنا و عدم معنی داری همین متغیر در اثر استرس مزمن مشاهده شده است [۱۲].



**نمودار ۵-** اثر استرس حاد و مزمن و فعالسازی سیستم نورآدرنژیک بر تشخیص شیء جدید در آزمون تشخیص شیء جدید. استرس مزمن میزان همجواری با شیء آشنا را افزایش و همجواری با شیء جدید را کاهش داد. استرس حاد و فعالسازی سیستم نورآدرنژیک زمان همجواری با شیء آشنا و جدید را کاهش دادند. فعالسازی سیستم نورآدرنژیک زمان همجواری با شیء آشنا و جدید را در حیوان استرس دیده مزمن کاهش داد. ک، کنترل (n = ۸)؛ ا.م، استرس مزمن (n = ۸)، ا.ح، استرس حاد (n = ۸)؛ ک + ی، کنترل + یوهیمبین (n = ۸)؛ ا.م + ی، استرس مزمن + یوهیمبین (n = ۸). نتایج بصورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار در نظر گرفته شده است. \*\*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل با  $p < 0.001$ ؛ #  $p < 0.05$ ؛ ##  $p < 0.01$ ؛ ###  $p < 0.001$  تفاوت معنی دار با گروه استرس مزمن.

افزایش پیدا نکرد. نتیجه مذکور بر خلاف نتایج قبلی است که افزایش فعالیت سیستم نورآدرنژیک با یوهیمبین توانست حافظه تشخیص شیء و مکان یابی شیء در آزمون تشخیص شیء جدید را تقویت نماید [۱۶]. این اختلاف مشاهده می تواند با نوع بیمار یوهیمبین در این مطالعه مرتبط باشد که به صورت پیش درمان داده شده است. درحالی که به طور کلی نشان داده شده است که انواع محرک های جدید، هسته آبی را در چندین گونه جانوری فعال می کند [۷] و این فعالیت می تواند بر اثرات استرس بر مغز و رفتار اثرگذار باشد و این اثرات گاهی به صورت تشدید تاثیر استرس و گاهی نیز به شکل بهبود اثرات ناشی از استرس خود را نشان می دهد. بعنوان مثال، چارنی<sup>۲۱</sup> (۲۰۰۳) نشان داد که آگونیست گیرنده آلفا ۲ آدرنژیک (clonidine) در کاهش علائم بیماران مبتلا به اختلال اضطرابی موثر است درحالی که آنتاگونیست این گیرنده (یوهیمبین) علائم را تشدید می کند [۱۷]. همچنین نشان داده شده است که اثرات مزمن استرس با تجویز آگونیست موسکارینی کولینرژیک و از طریق افزایش نورآدرنالین باعث بهبودی این اثرات شده است [۱۸]. این مشاهدات نشان دهنده اثرگذاری فعالیت سیستم

محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال توسط تعدادی از ورودی های عصبی و خونی (هومورال)<sup>۱۸</sup> به هیپوتالاموس تنظیم می شود و سیستم نورآدرنژیک به عنوان یکی از مهم ترین سیستم های تنظیمی برای محور استرس هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال، عمدتاً از طریق اثر بر نورون های فاکتور رهاکننده کورتیکوتروپین<sup>۱۹</sup> در هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس، عمل می کند [۱۵]. آوران های نورآدرنژیک به هسته پاراونتریکولار، عمدتاً از هسته مدولاری منشأ می گیرند و از طریق دسته نورآدرنژیک شکمی<sup>۲۰</sup> به این هسته می رسند. اگر چه افزایش فعالیت سیستم نورآدرنژیک ناشی از تزریق یوهیمبین در این مطالعه بر حیوانات گروه کنترل و نیز استرس دیده اثری نداشت، در آزمون زمینه باز باعث افزایش بیحرکتی در حیوانات دست نخورده (گروه کنترل) گردید، درحالی که میزان بیحرکتی را در شرایط استرس مزمن کاهش داد. بطور مشابهی، میزان مجاورت با شیء آشنا در آزمون تشخیص شیء جدید در حیوانات استرس دیده تحت تیمار یوهیمبین کاهش یافت، درحالی که زمان مجاورت با شیء جدید نیز در این شرایط

<sup>18</sup> Humoral

<sup>19</sup> CRF (corticotrophin-releasing hormone)

<sup>20</sup> VNAB (ventral noradrenergic bundle)

<sup>21</sup> Charney

تعیین کننده پاسخ حیوان تحت استرس باشد. از طرفی، فعالسازی سیستم نورآدرنرژیک باعث اثرات مشابه استرس حاد در حیوان دست نخورده می شود و به کاهش اثرات رفتاری در شرایط استرس مزمن می انجامد. لذا این تحقیق می تواند مبنایی برای مطالعات آینده در مورد نقش احتمالی ایجاد هیجان در افراد افسرده و دارای شرایط استرس مزمن در راستای کاهش شدت پاسخ های رفتاری در انسان و حیوان گردد.

## سیاسگزاری

محققین از حمایت مالی دانشگاه دامغان در انجام این پژوهش بعنوان بخشی از رساله دکتری خانم معصومه صرفی با شناسه اخلاق IR.DU.REC.1401.009 قدردانی می نمایند.

## ملاحظات مالی

این طرح پژوهشی بخشی از پایان نامه دانشجویی (کورش غلامی احمدآبادی) و با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به انجام رسیده است.

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## نقش نویسندگان

م.ص: انجام کار عملی آزمایشگاهی؛ م.ا.س: طراحی پروژه و نگارش مقاله؛ ت.ل: کمک به آنالیز داده؛ ا.گ: کمک به آنالیز داده ها.

## فهرست منابع

- [1] Morilak DA, Barrera G, Echevarria DJ, Garcia AS, Hernandez A, Ma S, Petre CO, Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29 (2005) 1214-1224.
- [2] Roozendaal B, Okuda S, Van der Zee EA, McGaugh JL, Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci* 103 (2006) 6741-6746.

نورآدرنرژیک در شرایط بیماری و تاییدکننده نتایج این مطالعه می باشد.

دستکاری گیرنده آلفا ۲ آدرنرژیک با استراتژی های بیولوژی مولکولی نتایج بحث برانگیزی به همراه داشت: موشی که این گیرنده در آن حذف شده بود رفتارهای شبه اضطرابی در ماز علاوهای مرتفع و در جعبه تاریک-روشن نشان داد [۱۹]. علاوه بر این، حذف گیرنده آلفا آدرنرژیک موش در آزمون شنای اجباری باعث ایجاد رفتارهای شبه افسردگی گردید [۲۰]. مطالعات نشان داده است که سیگنالینگ آدرنرژیک و گلوکوکورتیکوئیدی در مغز به طور نزدیکی در هم تنیده شده است [۲۱]. به طور خاص تثبیت حافظه به فعال شدن همزمان مسیرهای وابسته به نوراپی نفرین و گلوکوکورتیکوئید، هر دو هورمون استرس، نیاز دارد [۲۲]. بررسی ها در سال های اخیر نشان داده است که نورآدرنالین نقش مهمی در تنظیم چندین جنبه رفتار اجتماعی از جمله اضطراب اجتماعی [۲۳]، پرخاشگری [۲۴] و حافظه اجتماعی دارد [۲۵]. این تعامل احتمالی شاید بتواند توضیحی در مورد اثرات تعاملی سیستم نورآدرنرژیک و اثرات استرس ارایه نماید که می تواند موضوع مراحل بعدی تحقیق حاضر باشد. لذا فهم مدار استرس در مغز و رابطه آن با ترس، اضطراب و یادگیری و از طرفی تعامل آن با سیستم نورآدرنرژیک نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه دارد و نتایج مطالعات مورد اشاره می تواند کمک ارزشمندی در زمینه درمان بیماری های مرتبط با ترس و اضطراب باشد.

## نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اثرات استرس حاد و مزمن در شرایط یادگیری اجتماعی همسو و در شرایط شناخت شیئی جدید ناهمسو می باشد. بنابراین نوع استرس و رفتار می تواند

- [3] Diamond DM, Campbell AM, Park CR, Woodson JC, Conrad CD, Bachstetter AD, Mervis RF, Influence of predator stress on the consolidation versus retrieval of long-term spatial memory and hippocampal spinogenesis. *Hippocampus* 16 (2006) 571-576.
- [4] Vogel S, Schwabe L, Learning and memory under stress: implications for the classroom. *NPJ Sci Learn* 1 (2016) 16011.
- [5] Kim JJ, Song EY, Kosten TA, Stress effects in the hippocampus: synaptic plasticity and memory. *Stress* 9 (2006) 1-11.
- [6] Barrett JA, Shaikh MB, Edinger H, Siegel A, The effects of intrahypothalamic injections of

- norepinephrine upon affective defense behavior in the cat. **Brain Res** 426 (1987) 381-384.
- [7] Grant SJ, Huang YH, Redmond DE, Jr., Benzodiazepines attenuate single unit activity in the locus coeruleus. **Life Sci** 27 (1980) 2231-2236.
- [8] Robbins T, Everett B, Cole B, Archer T, Mohammed A, Functional hypotheses of the coeruleocortical noradrenergic projection: A review of recent experimentation and theory. **Physiol Psychol** 13 (1985) 127-150.
- [9] Colucci P, Santori A, Romanelli L, Zwergel C, Mai A, Scaccianoce S, Campolongo P, Amphetamine modulation of long-term object recognition memory in rats: influence of stress. **Front Pharmacol** 12 (2021) 644521.
- [10] Sperl MFJ, Panitz C, Skoluda N, Nater UM, Pizzagalli DA, Hermann C, Mueller EM, Alpha-2 adrenoceptor antagonist yohimbine potentiates consolidation of conditioned fear. **Int J Neuropsychopharmacol** 25 (2022) 759-773.
- [11] Wright RL, Lightner EN, Harman JS, Meijer OC, Conrad CD, Attenuating corticosterone levels on the day of memory assessment prevents chronic stress-induced impairments in spatial memory. **Eur J Neurosci** 24 (2006) 595-605.
- [12] Bahramzadeh Zoeram S, Elahdadi Salmani M, Lashkarbolouki T, Goudarzi I, Hippocampal orexin receptor blocking prevented the stress induced social learning and memory deficits. **Neurobiol Learn Mem** 157 (2019) 12-23.
- [13] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ, Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. **Neurosci Biobehav Rev** 5 (1981) 247-251.
- [14] Ozbaki J, Goudarzi I, Salmani ME, Rashidy-Pour A, Acute stress does not affect the impairing effect of chronic stress on memory retrieval. **Iran J Basic Med Sci** 19 (2016) 763-771.
- [15] Itoi K, Jiang YQ, Iwasaki Y, Watson SJ, Regulatory mechanisms of corticotropin-releasing hormone and vasopressin gene expression in the hypothalamus. **J Neuroendocrinol** 16 (2004) 348-355.
- [16] Song Q, Bolsius YG, Ronzoni G, Henckens M, Roozendaal B, Noradrenergic enhancement of object recognition and object location memory in mice. **Stress** 24 (2021) 181-188.
- [17] Charney DS, Neuroanatomical circuits modulating fear and anxiety behaviors. **Acta Psychiatr Scand Suppl** (2003) 38-50.
- [18] Srikumar BN, Raju TR, Shankaranarayana Rao BS, The involvement of cholinergic and noradrenergic systems in behavioral recovery following oxotremorine treatment to chronically stressed rats. **Neuroscience** 143 (2006) 679-688.
- [19] Lähdesmäki J, Sallinen J, MacDonald E, Kobilka B, Fagerholm V, Scheinin M, Behavioral and neurochemical characterization of  $\alpha 2A$ -adrenergic receptor knockout mice. **Neuroscience** 113 (2002) 289-299.
- [20] Schramm NL, McDonald MP, Limbird LE, The alpha(2a)-adrenergic receptor plays a protective role in mouse behavioral models of depression and anxiety. **J Neurosci** 21 (2001) 4875-4882.
- [21] McEwen BS, Sapolsky RM, Stress and cognitive function. **Curr Opin Neurobiol** 5 (1995) 205-216.
- [22] Roozendaal B, Nguyen BT, Power AE, McGaugh JL, Basolateral amygdala noradrenergic influence enables enhancement of memory consolidation induced by hippocampal glucocorticoid receptor activation. **Proc Natl Acad Sci** 96 (1999) 11642-11647.
- [23] Marcin MS, Nemeroff CB, The neurobiology of social anxiety disorder: the relevance of fear and anxiety. **Acta Psychiatr Scand Suppl** (2003) 51-64.
- [24] Haller J, Makara GB, Kruk MR, Catecholaminergic involvement in the control of aggression: hormones, the peripheral sympathetic, and central noradrenergic systems. **Neurosci Biobehav Rev** 22 (1998) 85-97.
- [25] Shang Y, Dluzen DE, Nisoxetine infusion into the olfactory bulb enhances the capacity for male rats to identify conspecifics. **Neuroscience** 104 (2001) 957-964.

## Research paper

## Modulating the effects of chronic stress through increasing the activity of the adrenergic system

Masoumeh Sarfi<sup>1</sup>, Mahmoud Elahdadi Salmani<sup>1\*</sup>, Taghi Lashkarbolouki<sup>1</sup>, Iran Goudarzi<sup>1</sup>*School of biology, Damghan University, Damghan, Iran*

Received: 16 October 2022

Accepted: 15 November 2022

## Abstract

**Background and aims:** Noradrenergic system is involved in stress and anxiety related behaviors. The neural pathways of stress and the noradrenergic system in the hippocampus have a reciprocal effect on each other. Therefore, in this study, the effect of noradrenergic activity on anxiety and learning under stress conditions is investigated.

**Methods:** Adult male Wistar rats weighing 180-230 were given acute (3 days) or chronic (21 days) restrained stress. Yohimbine was injected with a dose of 2 mg/kg (intraperitoneally) to activate the noradrenergic system. After 24 hours from the last stress session, social learning and then anxiety and exploratory behavior and new object recognition were investigated in animals.

**Results:** The amount of association with a familiar rat (stranger 1) decreased due to acute ( $p < 0.01$ ) and chronic ( $p < 0.001$ ) stress and increased with a stranger rat (stranger 2). The time in the open arm of the elevated plus maze decreased ( $p < 0.001$ ) due to acute and chronic stress, and animals receiving yohimbine, while the time increased ( $p < 0.001$ ) in the closed arm. The duration of immobility in the open field test increased due to acute ( $p < 0.01$ ) and chronic ( $p < 0.001$ ) stresses, while it decreased after yohimbine administration in the chronic ( $p < 0.001$ ) stress group. The time spent with the familiar object was increased ( $p < 0.001$ ) by chronic stress and decreased ( $p < 0.001$ ) by acute stress and yohimbine administration.

**Conclusion:** This study showed that increasing the activity of the noradrenergic system moderates the effects of chronic stress, which indicates the possible cooperation of the glucocorticoid and adrenergic systems.

**Keywords:** Stress, Anxiety, Noradrenergic system, Learning and memory

Please cite this article as follows:

Sarfi M, Elahdadi Salmani M, Lashkarbolouki T, Goudarzi I, Modulating the effects of chronic stress through increasing the activity of the adrenergic system. *Iran J Physiol Pharmacol* 6 (2022) 229-239.

\*Corresponding authors: elahdadi@du.ac.ir; elahdadi@gmail.com (ORCID ID 0000-0001-5237-3958)