



Nitric oxide system modulates hyperalgesia and memory impairments following psychophysical stress

Mohammad Shabani¹, Peyman Yaghmaei², Hossein Mohatashamipour², Moazamehosadat Razavinasab³,
Masoud Nazeri^{1*}

1. Kerman Neuroscience Research Center, Neuropharmacology Institute, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

2. Dept. of Biology, Arsanjan Islamic Azad University, Fars, Iran

3. Dept. of Physiology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Received: 10 Apr 2014

Accepted: 15 Jun 2014

Abstract

Introduction: Sub-chronic swim stress is known to induce a prolonged hyperalgesia, which is mediated through NMDA and opioid systems. Nitric oxide is a soluble gas, which acts as a retrograde messenger that modulates the release of mentioned neurotransmitters. It is also involved in nociception and memory. The aim of this study was to evaluate the role of NO pathway in nociception and memory disruption induced by sub-chronic swim stress.

Methods: Three sessions forced swimming stress protocols were applied to rats. Before each swimming session, pretreatment with L-NAME (10 mg/kg, i.p.), L-Arginine (10 mg/kg, i.p.) or saline was made. Passive avoidance learning, nociception and anxiety-like behavior were evaluated 24 hours after last swim stress session.

Results: Results showed that step through latency was decreased after swim stress and it could be inhibited by pretreatment with L-NAME. Swim stress increased anxiety-like behavior in the open field test, which could be inhibited by pretreatment with L-NAME and L-Arginine. Reduced thermal threshold was observed in the nociceptive measurement after swim stress. Pretreatment with L-NAME could reverse this reduced threshold.

Conclusion: The results of this study indicate that sub-chronic swim stress impairs nociception and passive avoidance learning. It seems that NO pathway have a modulatory role in these alterations.

Key words: Nitric Oxide, Hyperalgesia, Psychophysical stress, Memory impairment

* Corresponding author e-mail: m.nazeri1989@gmail.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

سیستم نیتریک اکساید باعث تعدیل پر دردی و اختلال حافظه ناشی از استرس سایکوفیزیک می شود

محمد شعبانی^۱، پیمان یغمائی^۲، حسین محتشمی پور^۲، معظمه السادات رضوی نسب^۲، مسعود ناظری^{۳*}
۱. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۲. گروه بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان
۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان

پذیرش: ۲۵ خرداد ۹۳

دریافت: ۲۱ فروردین ۹۳

چکیده

مقدمه: استرس شنای مزمن به عنوان ایجاد کننده یک هایپرآلژی طولانی مدت شناخته شده است که به وسیله سیستم اویپوئیدی و NMDA میانجیگری می شود. نیتریک اکساید یک محلول گازی است که به عنوان یک پیام رسان برگشتی عمل می کند و تعدیل کننده آزاد سازی نوروترنسمیترهای ذکر شده است. همچنین در روندهای مربوط به حافظه و ادراک درد شرکت دارد. هدف از این مطالعه بررسی نقش سیستم نیتریک اکساید بر اختلالات ادراک درد و حافظه ناشی از استرس مزمن شنا است.

روش ها: در سه جلسه اجباری، استرس شنا به موش ها القا شد. قبل از هر جلسه شنا پیش درمانی با ال-نیم یا ال-آرژینین (هر کدام ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) یا سالین انجام شد. یادگیری اجتنابی غیرفعال، درد و رفتار شبه اضطرابی، ۲۴ ساعت پس از جلسات شنا مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: یک کاهش تأخیر در زمان ورود به اتاق تاریک در آزمون اجتنابی پس از استرس شنا مشاهده شد که با پیش درمانی با ال-نیم مهار شد. استرس شنا باعث افزایش رفتار شبه اضطرابی در open field شد که با پیش درمانی ال-نیم و ال-آرژینین مهار شد. کاهش آستانه درد، بعد از استرس شنا مشاهده شد و پیش درمانی با ال-نیم توانست آستانه درد را برگشت دهد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که استرس شنای مزمن باعث صدمات درد و یادگیری اجتنابی غیرفعال می شود و به نظر می رسد سیستم نیتریک اکساید یک نقش تعدیل کنندگی در این تغییرات داشته باشد.

واژه های کلیدی: نیتریک اکساید، پر دردی، استرس سایکوفیزیک، اختلالات حافظه

مقدمه

گذاری می کنند [۱۲]. قرار داشتن طولانی مدت در معرض انواع ایجاد کننده استرس، باعث بی دردی در آزمونهای درد می شود [۱۹]. استرس هم می تواند ایجاد کننده بی دردی [۱۹] و هم پر دردی [۳۳، ۴۸] باشد که به شدت و مدت مولد استرس وابسته است. پاسخ های فیزیولوژی به استرس شامل تغییر در ادراک و پاسخ نسبت به درد می باشد. همچنین استرس تعدیل کننده فرآیندهای حافظه و یادگیری می باشد و اثرات متنوعی روی حافظه دارد. بسیاری عوامل می توانند در تغییر یا تضعیف

به خوبی مشخص شده است که استرس، ایجاد کننده انواعی از تغییرات رفتاری و فیزیولوژی است که شخص را قادر به تحمل شرایط محیطی جدید می کند و چندین سیستم هورمونی و نوروترنسمیتری در رویدادهای پردغدغه تأثیر

* نویسنده مسئول مکاتبات: m.nazeri1989@gmail.com

وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

وبگاه مجله:

مطالعات نشان می‌دهد که نیتریک اکساید در تمایز عصبی [۲۸]، تقویت دراز مدت سیناپسی (LTP) [۵۲]، تغییر شکل سیناپسی [۵۱]، و حافظه و یادگیری نقش دارد [۳۴]. از طرفی دیگر شواهدی مبنی بر نقش تخریبی در عملکردهای مغزی توسط افزایش فعالیت سیستم نیتریک اکساید وجود دارد به گونه‌ای که در مطالعه‌ای (۱۹۹۱) Beckman نشان داد که سیستم نیتریک اکساید در عملگرهای مغزی همانند یک شمشیر ۲ لبه عمل می‌کند که هم نقش تسهیلی و هم نقش مهاری برای این سیستم در یک نوع عملکرد می‌تواند مطرح شود [۳]. در سیستم عصبی پستانداران آنزیم نیتریک اکساید سنتاز عصبی در نواحی مختلف سیستم عصبی آمیگدال، هیپوکامپ و بخش پشتی ماده خاکستری دور قنات سیلیوس بیان می‌شود [۵]. نیتریک اکساید نقش‌های متفاوتی را در تعدیل درد در سطوح مختلف سیستم عصبی ایفا می‌کند. در ناحیه منقاری شکمی میانی بصل النخاع (RVM^۱) نقش‌های گوناگونی برای نیتریک اکساید و گیرنده‌های NMDA در نظر گرفته شده است [۲۵]. از جمله بیان شده است که فعال شدن گیرنده‌های NMDA و تولید نیتریک اکساید در ایجاد مکانیسم‌های تسهیل درد که از ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی منشاء می‌گیرند نقش دارد [۲۹]. از طرف دیگر بیان شده است که نیتریک اکساید در ناحیه RVM باعث مهار نزولی درد ناشی از فعالیت گیرنده‌های موسکارینی می‌شود. به این ترتیب به نظر می‌رسد گیرنده‌های NMDA و نیتریک اکساید هم در بروز اثرات پیش برنده درد که از ناحیه RVM منشاء می‌گیرند، موثر باشد [۲۵]. با توجه به عملکرد NO در فرایند‌های مغزی و نقشی که سیستم نیتریک اکساید در ایجاد و یا اختلال حافظه و در تعدیل درد دارد بنابراین در این مطالعه، نقش سیستم نیتریک اکساید بر روی پر دردی و اختلال حافظه ناشی از استرس سایکوفیزیک از طریق تجویز آگونیست و آنتاگونیست این سیستم و با استفاده از ابزارهای ارزیابی درد و حافظه مورد بررسی قرار گرفت.

حافظه نقش داشته باشند [۱۳]. برای مثال، رویدادهای دارای بار هیجانی به خوبی به یاد آورده می‌شوند که این امر به اثرات تسهیل گر هورمون‌های استرس مانند گلوکوکورتیکوئیدها (کورتیزول در انسان) و کاته کولامین‌ها (آدرنالین و نورآدرنالین) در تثبیت حافظه منسوب بوده است. مطالعات نشان داده است که مدت کوتاهی پس از یادگیری، استرس و هورمون‌های آن، عملکرد حافظه را افزایش می‌دهند [۳۶]. این اثرات، به ویژه برای اطلاعات هیجانی، بیشتر است و در نتیجه فعال سازی آمیگدال برای تأثیر استرس بر تثبیت حافظه، لازم است [۳۵].

طیف وسیعی از استرس‌های فیزیکی باعث بروز تأثیرات ویژه روی واکنش پراکسیداسیون لیپید در مغز می‌گردد [۱۰، ۴۲]. همچنین یافته‌ها نشان می‌دهد که تحریکات پر از استرس منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد. قابل ذکر است که مغز به حضور رادیکال‌های آزاد بسیار حساس است، چرا که مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع که به آسانی پراکسید می‌گردند، در سلول‌های مغزی حضور دارند [۳، ۸]. از طرف دیگر مغز فاقد منابع غنی آنزیم‌های آنتی اکسیدانت محافظت کننده است [۱۶]. بنابراین وقتی فرد در معرض استرس‌های فیزیکی قرار می‌گیرد، تولید رادیکال‌های آزاد منجر به صدمات جبران ناپذیری می‌گردد. بنابراین، یافته‌ها نشان می‌دهد که تحریکات پر از استرس منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد [۱۷].

یکی از شاخص‌ترین رادیکال‌های آزاد در بدن نیتریک اکساید می‌باشد که یک مولکول کوچک ناپایدار و رادیکال آزاد چربی دوست است که به وسیله سلول‌های متفاوت پستانداران ساخته می‌شود و اعمالی از جمله میانجی‌گری عصبی و اثر سیتوتوکسیک در بدن دارد [۱۷]. در واقع نیتریک اکساید نوعی میانجی عصبی می‌باشد که به روش آنزیمی بعد از فعال شدن گیرنده NMDA توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از L-آرژنین ساخته می‌شود و خود باعث افزایش رهایش دوپامین، استیل کولین و گلوتامات می‌شود [۵۳]. این میانجی عصبی در سیستم عصبی مرکزی اعمال متعددی را میانجی‌گری می‌نماید.

1. Rostral Ventromedial Medulla

مواد و روش ها

در این مطالعه از رت های نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. تمامی مراحل مطابق با آئین نامه کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمان صورت گرفت. حیوانات در قفس های انفرادی با دسترسی آزاد به آب و غذا و سیکل نور/خاموشی ۱۲/۱۲ در مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان نگهداری شدند. در روز صفر، حیوانات به محیط آزمایشگاه آورده شده و پس از گذشت یک ساعت و تطبیق با محیط، مقادیر پایه برای گروه درد اندازه گیری شد. سپس حیوانات به قفس های خود برگردانده شده و به حیوانخانه برده شدند. در روز اول، دوم و سوم، حیوانات بر اساس این که در گروه شنا و یا شم هستند، درون استوانه ای از جنس آکریل شفاف با قطر ۶- سانتی متر و ارتفاع ۵۰ سانتی متر که از آب ۲۵ درجه سانتی گراد تا ارتفاع ۴۰ سانتی متری و ۵ سانتی متری (به ترتیب شنا و شم) پر شده بود به مدت ۱۰ دقیقه (روز اول) و ۲۰ دقیقه (روز دوم و سوم) انداخته شدند. تزریق دارو و یا سالیین نیز ۳۰ دقیقه قبل از هر جلسه شنا صورت گرفت. پس از استرس شنا حیوانات خشک شده و به قفس خود برگردانده می شدند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه شنا، حیوانات به محیط آزمایشگاه آورده شده و براساس گروهی که در آن قرار داشتند، آزمون های رفتاری بر روی آن ها صورت گرفت [۵۳].

گروه های مورد مطالعه: در این تحقیق، تزریق دوزهای مشخص از L-Arginine و L-NAME (در مطالعه پایلوت ۱۰ میلی گرم / کیلوگرم تعیین شده بود) در بازه های مشخص و زمان های مشخص، در قسمت های مختلف شکل گیری حافظه انجام شد.

موشها در دو گروه اصلی، گروه مورد نظر برای بررسی حافظه احترازی غیر فعال و گروه مورد استفاده جهت ارزیابی فعالیتهای شبه اضطرابی و پاسخهای درد تقسیم شدند. سپس هر یک از گروهها به چهار زیر گروه شامل گروههای ۱- دریافت کننده سالیین به صورت داخل صفاقی ۲- گروه استرس (هم حجم دارو سالیین قبل از هر جلسه شنا دریافت می کردند) ۳- گروه پیش درمانی با ال - نیم (۱۰ میلی گرم / کیلوگرم، داخل صفاقی) و ۴- گروه پیش درمانی با ال - آرژینین (۱۰

میلی گرم / کیلوگرم، داخل صفاقی) تقسیم شدند. برای بررسی نقش سیستم NO در پردردی ناشی از استرس، مشابه گروه بندی که برای حافظه انجام شد، تزریق دارو صورت گرفته و تست های درد، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه شنا صورت گرفت.

داده های بدست آمده از این تحقیق در ابتدا با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov در نرم افزار SPSS.17 نرمالیتی آنها بررسی شد و سپس جهت مقایسه متغیرهای کمی بین گروهها از آزمون ANOVA و در صورت معنی دار شدن از آزمون TUKEY استفاده شد. $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد. داده ها به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شد.

آزمون Shuttle box: جهت بررسی نقش احتمالی سیستم نیتریک اکساید بر روی اختلالات حافظه ناشی از استرس های سایکوفیزیک از آزمون یادگیری احترازی غیر فعال از جعبه دو قسمتی (شاتل باکس) استفاده شد که از دو محفظه تاریک و روشن با اندازه برابر و یک درب گیوتینی قابل کنترل بین آنها تشکیل شده است. در انتهای دوره، حیوان برای سازش و عادت به فضای داخل دستگاه، در بخش روشن قرار میگرفت که رو به سمت مقابل بخش تاریک است، بعد از ۱۰ ثانیه درب بین دو محفظه باز و اجازه داده می شد حیوان آزادانه وارد بخش تاریک گردد. در این مرحله زمان تأخیر در ترک بخش روشن و ورود به قسمت تاریک ثبت می شد. اگر این زمان بیش از ۶۰ ثانیه طول می کشید به علت انگیزه کم حیوان برای ترک بخش روشن و ورود به قسمت تاریک، از مطالعه حذف می گردید. دو ساعت بعد از تجربه سازش مرحله آموزش یا اکتساب انجام می شد. در این مرحله، حیوان به همان صورت قبل، داخل ناحیه روشن قرار داده می شد. در مرحله آموزش شبیه سازش است، به جز اینکه بلافاصله بعد از ورود حیوان به محفظه تاریک درب گیوتینی بسته و شوک الکتریکی (با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۰/۵ میلی آمپر و مدت ۲ ثانیه) به کف دست و پای حیوان داده می شد و پس از ۲۰ ثانیه، حیوان به قفس بازگردانده می شد. بعد از دو دقیقه حیوان مجدداً در بخش روشن قرار گرفته و مرحله آموزش تکرار می گردید و

آزمون open field: جهت سنجش میزان اضطراب ناشی از استرس های سایکوفیزیک و بررسی نقش سیستم نیتریک اکساید بر روی میزان اضطراب از آزمون Open Field استفاده شد. رفتار جستجوگرانه حیوانات توسط یک سیستم ردیاب تصویری (TSE) در یک جعبه به ابعاد ۹۰×۹۰ و بلندی ۴۵ cm بررسی شد. حیوانات در مرکز ناحیه تعریف شده قرار می گرفتند و به مدت ۵ دقیقه رفتار جستجوگرانه شامل فاصله ای که حیوان در جهت افقی در مرکز و محیط طی می کند و مدت زمان ماندن در مرکز و محیط و همچنین فرکانس Grooming و Rearing بررسی شد [۳۹، ۴۰].

یافته ها

نتایج بررسی یادگیری و حافظه و نقش نیتریک اکساید: در متغیر تعداد شوک، در گروه استرس، افزایش معنی داری در میزان تعداد شوک نسبت به گروه سالین مشاهده شد (شکل ۱ A). تعداد شوک در گروه های دریافت کننده ال - آرژنین و ال - نیم کاهش معنی داری نسبت به گروه استرس نشان داد در حالیکه اختلاف معنی داری نسبت به گروه سالین مشاهده نشد. در متغیر مدت زمان تأخیر در ورود به منطقه تاریک، در گروه استرس و ال - آرژنین کاهش معنی داری نسبت به گروه سالین مشاهده شد (شکل ۱ B) در صورتی که در گروه دریافت کننده ال - نیم افزایش معنی داری در میزان " مدت زمان تأخیر در ورود " نسبت به گروه استرس و دریافت کننده ال - آرژنین مشاهده شد. در بررسی داده های " مدت زمان حضور در قسمت تاریکی " بدست آمده از آزمون shuttle box اختلاف معنی داری در گروه های مورد آزمایش وجود نداشت (شکل ۱ C).

نقش سیستم نیتریک اکساید بر پاسخ به درد

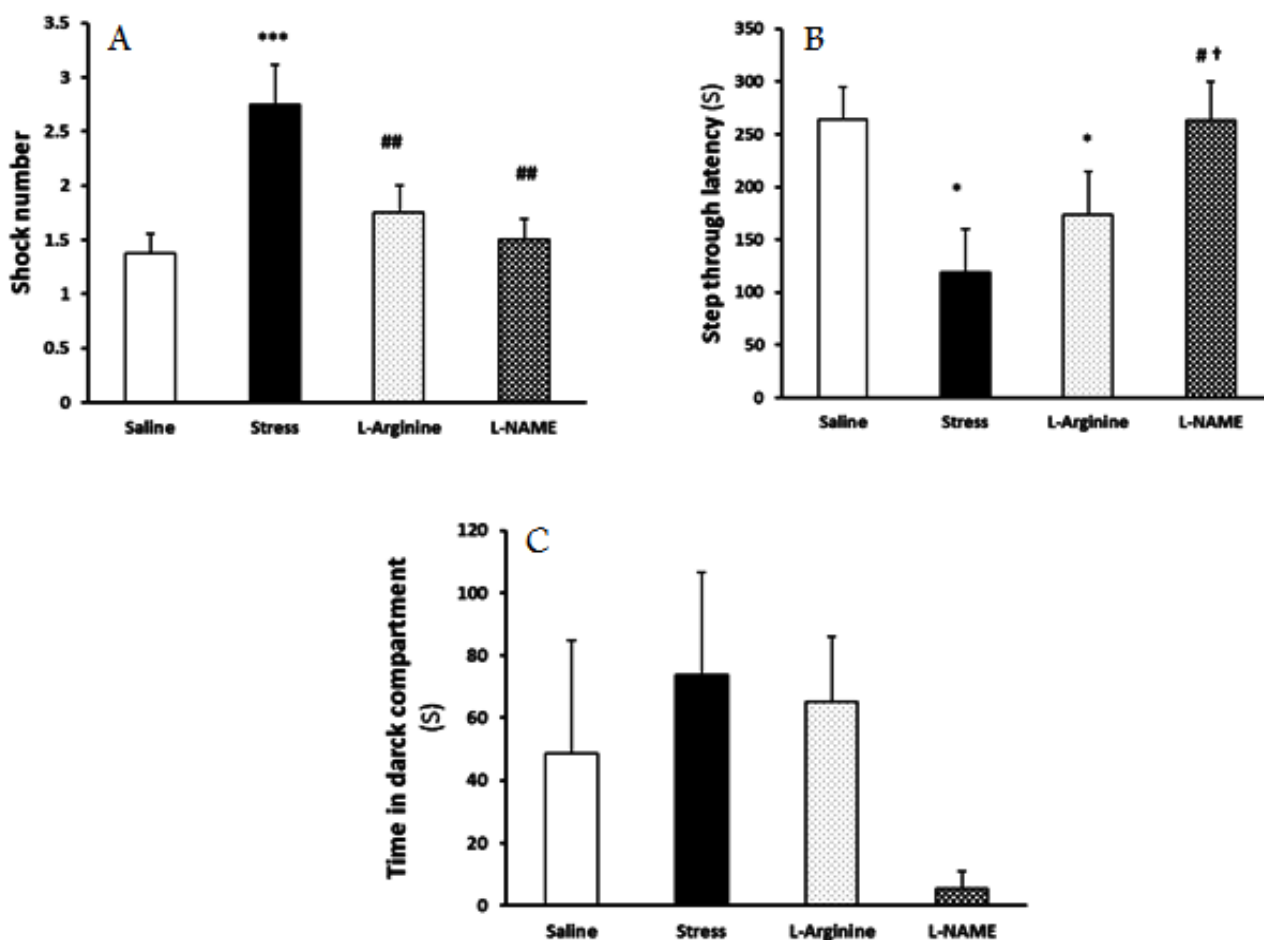
در آزمون پس کشیدن دم: در بررسی تاثیر تزریق آل - آرژنین و ال - نیم بر میزان پردردی ناشی از استرس سایکوفیزیک، با استفاده از آزمون tail flick، اختلاف معنی داری میان گروه های مورد بررسی مشاهده شد. زمان واکنش به درد در گروه استرس کاهش معنی داری در مقایسه با گروه

اگر دوباره وارد ناحیه تاریک می شد، شوک می گرفت و تعداد دفعات دریافت شوک ثبت می شد. به منظور آزمون به خاطر آوری، در ۲۴ ساعت و ۷ روز پس از آموزش، پاسخهای احترازی غیر فعال مجدداً اندازه گیری می شد. در این مرحله به حیوان شوک داده نمی شد و ماکزیمم زمان برای ورود به منطقه تاریک سیصد ثانیه بود. مدت زمان تأخیر در ورود مجدد به محفظه تاریک (STL) و مدت زمان ماندن در ناحیه تاریک اندازه گیری شد [۳۸، ۴۴].

آزمون Tail flick: آزمون Tail Flick یکی از آزمونهای استاندارد برای اندازه گیری میزان بی دردی^۲ می باشد. در این آزمون نور حرارتی با شدت ۵ به قسمت انتهایی دم حیوان توسط دستگاه Tail Flick (LE7406) تابانده شد و زمان تأخیری پس کشیدن دم^۳ از زمان شروع تاباندن حرارت تا برداشتن دم بر حسب ثانیه اندازه گیری شد. جهت جلوگیری از آسیب بافتی حداکثر زمان تاباندن نور به دم ۱۰ ثانیه در نظر گرفته شد. برای هر حیوان زمان تأخیری پس کشیدن دم ۳ بار اندازه گیری می شود و میانگین ۳ بار اندازه گیری به عنوان زمان تأخیری گزارش شد و بین هر بار اندازه گیری فاصله زمانی ۵ دقیقه در نظر گرفته شده است [۲۰، ۴۱].

آزمون Hot plate: ابزار دیگری که جهت سنجش حساسیت نسبت به درد مورد استفاده قرار گرفت، دستگاه Hot plate (LE7106) بود، دستگاهی که شامل یک صفحه به قطر ۱۹ cm و دیواره ای از جنس پلکسی گلاس به ارتفاع ۳۰ cm است. این دستگاه که از طریق مقاومت الکتریکی داغ می شود متصل به زمان سنج و ترموستات است. درجه گرمای صفحه ۵۲ درجه سانتی گراد تنظیم شد. زمان پاسخ به درد حرارتی از زمان شروع آزمون تا زمانی که حیوان شروع به لیسیدن^۴ پاهای جلویی یا پرش^۵ می کرد، محاسبه شد. حداکثر زمان واکنش حیوان در برابر درد حرارتی ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد [۴۳].

1. Step through latency
2. Analgesia
3. Tail Flick Latency
4. Licking
5. Jumping



شکل ۱- نتایج آزمون Shuttle box (n=8). (A) تعداد شوک (Shock number) (B) مدت تأخیر در ورود (Step through latency). (C) مدت زمان حضور در قسمت تاریکی (Time in dark compartment). *: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001 مقایسه شده با گروه سالین # : P<0.05; ##: P<0.01 مقایسه شده با گروه استرس

آرژنین نسبت به گروه استرس مشاهده نشد (شکل ۳).

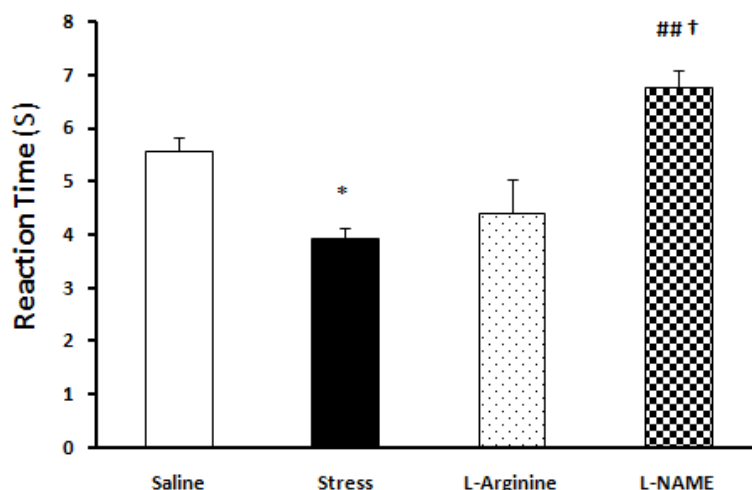
نتایج آزمون Open field (بررسی رفتار

جستجوگرانه و سنجش اضطراب): در بعضی از متغیرهای مورد بررسی در آزمون pen field، مانند: میزان بلند شدن روی دو پا، متوسط سرعت حرکت و میزان مدت زمان بی حرکت بودن، هیچ گونه تفاوت معنی داری میان گروه های مورد مطالعه مشاهده نشد (شکل ۴ A, B and D). اما در سایر متغیرها تفاوت های معنی داری میان گروه های مورد بررسی وجود داشت. گروه استرس در متغیرهای مسافت کل پیموده شده (۴ C) و میزان رفتار وسواسی (۴ G) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان می دهد اما در هر دوی این متغیرها در گروه دریافت کننده ال - نیم کاهش معنی داری نسبت به گروه استرس مشاهده شد. در متغیر "مدت زمان متحرک بودن" در گروه استرس، کاهش معنی داری نسبت به

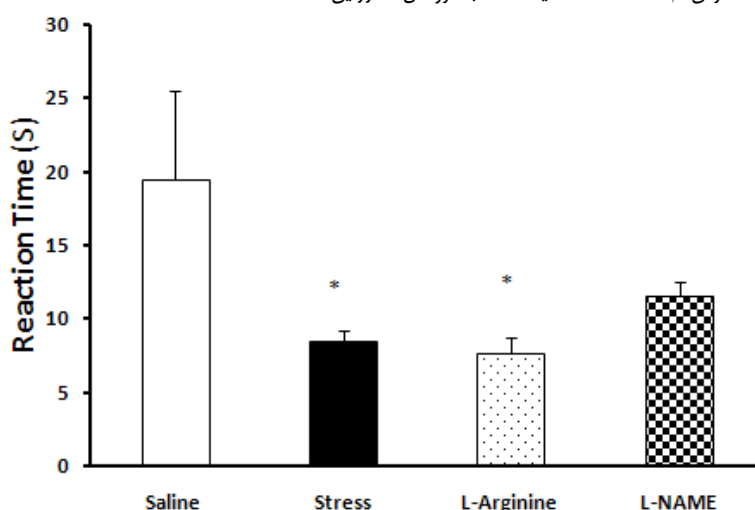
سالین نشان داد، اما در گروه ال - آرژنین اختلاف معنی داری با گروه های سالین و استرس مشاهده نشد در حالیکه گروه دریافت کننده ال - نیم افزایش معنی داری در مدت زمان پاسخ به درد در مقایسه با گروه استرس و ال - آرژنین نشان داد (شکل ۲).

اثر سیستم نیتریک اکساید بر زمان واکنش به

درد در آزمون صفحه داغ: بررسی تاثیر تزریق ال - آرژنین و ال - نیم بر میزان پردردی ناشی از استرس سایکوفیزیک شنا، توسط آزمون Hote plate، نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان گروه های مورد بررسی بود. در گروه های استرس و دریافت کننده ال آرژنین آگونیست سیستم نیتریک اکساید، کاهش معنی داری در واکنش به درد نسبت به گروه سالین مشاهده شد اما اختلاف معنی داری در واکنش به درد در گروه های دریافت کننده ال - نیم و ال



شکل ۲- اثر سیستم نیتریک اکساید بر روی زمان واکنش به درد در آزمون پس کشیدن (n=8): * نشاندهنده اختلاف با $P < 0.05$ در مقایسه با گروه سالیین ## : $P < 0.01$ مقایسه شده با گروه استرس، †: $P < 0.05$ مقایسه شده با گروه ال- آرژنین



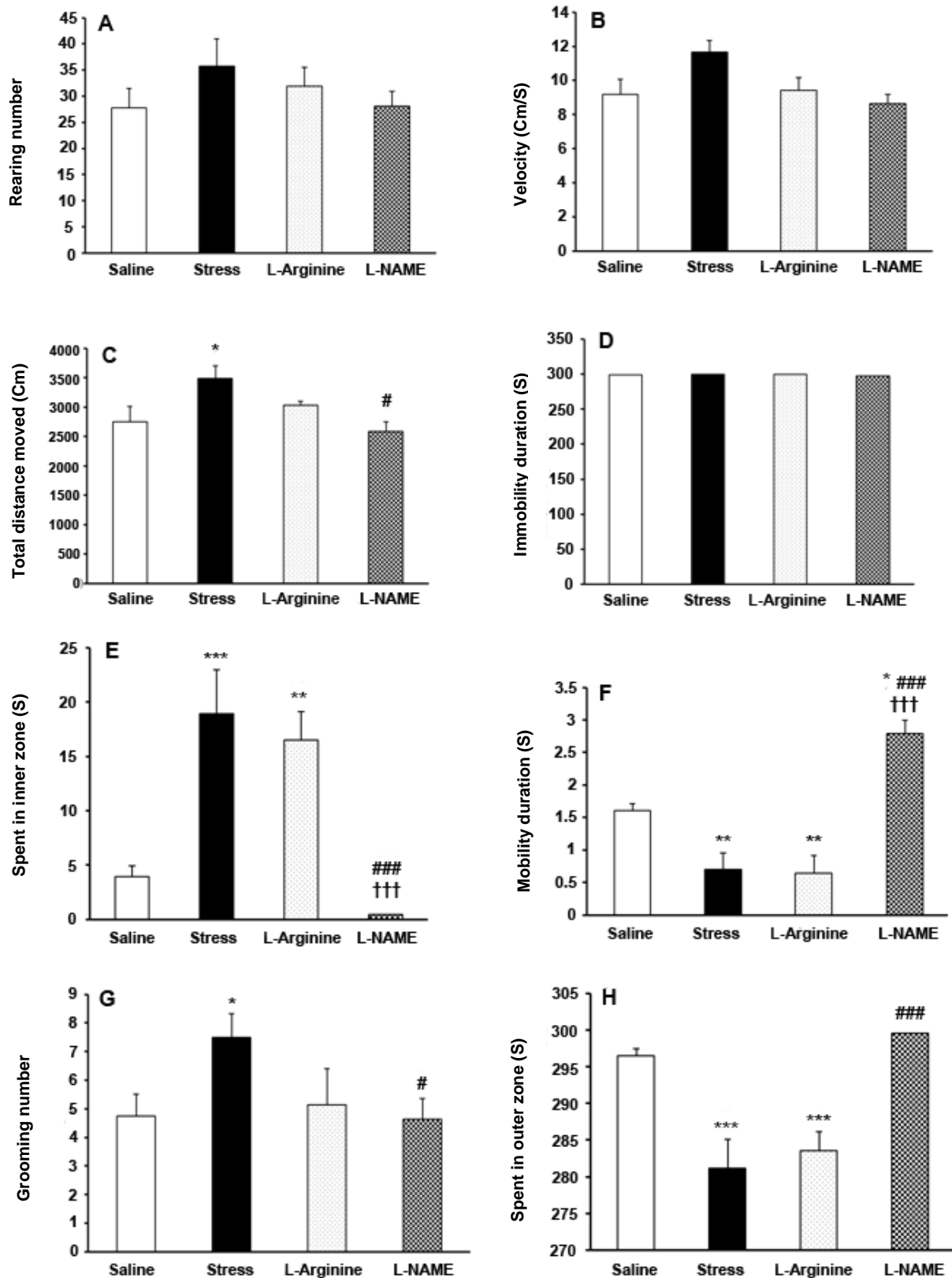
شکل ۳- اثر سیستم نیتریک اکساید بر روی زمان واکنش به درد در آزمون Hote plate (n=8): * $P < 0.05$ مقایسه شده با گروه سالیین

استرس و گروه دریافت کننده ال- آرژنین، کاهش معنی داری در میزان "مدت زمان حرکت در مرکز" نسبت به گروه سالیین نشان داده شد. در حالیکه در گروه دریافت کننده ال- نیم افزایش معنی داری در میزان "مدت زمان حرکت در محیط" نسبت به گروه استرس و دریافت کننده ال- آرژنین مشاهده شد (H ۴).

بحث

نتایج این مطالعه، اثرات منفی استرس مزمن بر روی یادگیری و حافظه را تأیید کرد. اگر چه مطالعات قبلی نقش

گروه سالیین نشان داده شد (F ۴). در گروه دریافت کننده ال- نیم افزایش معنی داری در میزان "مدت زمان متحرک بودن" نسبت به گروه سالیین، استرس و دریافت کننده ال- آرژنین مشاهده شد. در متغیر "مدت زمان حرکت در مرکز"، در گروه استرس و گروه دریافت کننده ال- آرژنین، افزایش معنی داری در میزان "مدت زمان حرکت در مرکز" نسبت به گروه سالیین نشان داده شد (E ۴). این در صورتی است که در گروه دریافت کننده ال- نیم کاهش معنی داری در میزان "مدت زمان حرکت در مرکز" نسبت به گروه استرس و دریافت کننده ال- آرژنین مشاهده شد. در متغیر "مدت زمان حرکت در محیط"، در گروه



شکل ۴- بررسی نقش سیستم نیتریک اکساید در فعالیتهای حرکتی ناشی از استرس شنا با استفاده از آزمون Open field (n=8). A: میزان بلند شدن روی پا (Rearing) B: میزان سرعت (Velocity): C: مدت زمان بی تحرک بودن (Immobility duration). در هیچ کدام از این سه متغیر، تفاوت معنی داری میان گروه های مورد بررسی مشاهده نشد. D: مدت زمان متحرک بودن (Mobility duration). E: کل مسافت حرکت (Total distance moved). F: مدت زمان حرکت در محیط مورد بررسی مشاهده نشد. G: مدت زمان حرکت در مرکز (Spent in inner zone). H: رفتار وسواس گونه (Grooming). *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001. # مقایسه شده با گروه سالین، P<0.05 #. ###P<0.001 مقایسه شده با گروه استرس، †††P<0.001 مقایسه شده با گروه ال - آرژنین.

نیتریک اکساید اثر تنظیم‌کنندگی بر روی حافظه و یادگیری در یادگیری اجتنابی فعال و غیر فعال دارد [۵۳، ۱۴] و علاوه بر این دخالت مسیرهای نخاعی نیتریک اکساید در میانجیگری درد و پردردی ناشی از التهاب [۱] و صدمات نوروپاتی [۲۳] نشان داده شده است. از این گذشته، نقش مسیر نیتریک اکساید در پردردی القاء شده با NMDA در آزمون فرمالین نشان داده شده است [۲۱].

شواهد زیادی دلالت بر نقش سیستم نیتریک اکساید در درد، یادگیری و حافظه دارند [۱۵، ۲۷]. اثر از استرس مزمن در میزان اضطراب و درد قبلاً مورد مطالعه قرار گرفته است. گامیرو و همکارانش (۲۰۰۶) نشان دادند که هم درد و هم رفتارهای شبه اضطرابی به وسیله استرس مزمن محدود، تغییر می‌یابند [۹]. متعاقباً در مطالعه ما، یک افزایش در رفتار شبه اضطرابی و پاسخ به درد در حیواناتی که استرس مزمن محدود را تجربه کردند، مشاهده شد. اگر چه طبیعت استرس شنا از استرس‌های محدود متفاوت است اما هر دوی اینها هم شامل استرس‌های فیزیکی و هم روانی می‌شوند. آنها اشاره به این دارند که این تغییرات به وسیله سیستم‌های سروتونرژیک و اوپیوئیدرژیک میانجیگری می‌شوند، که به طور قابل توجهی در مطالعات اخیر، در کاربرد از استرس‌شنای مزمن اثبات شده اند [۳۷، ۴۶]. نقش از گیرنده‌های NMDA در نگهداری و توسعه از SIH به وسیله سوارز و همکارانش مورد بررسی قرار گرفته است [۴۶]. به عبارت دیگر، نیتریک اکساید سنتتاز پس سیناپسی به وسیله گیرنده‌های NMDA فعال می‌شود که منجر به تولید و آزاد سازی نیتریک اکساید می‌گردد که در این راستا آزاد سازی نوروترنسمیترهای پیش سیناپسی را تنظیم می‌کند [۳۰]. هم راستا با مطالعه اخیر، بوندی (۲۰۰۸) و سووگی (۲۰۰۶) به همراه همکارانشان در مطالعاتشان، افزایش سطح اضطراب را در طی استرس مزمن نشان دادند [۴، ۳۷]. سووگی و همکارانش، همچنین نشان دادند که ال - نیم می‌تواند از افزایش سطح اضطراب در طی استرس‌های محدود مزمن جلوگیری کند [۳۷]، که با یافته‌های مطالعه ما مطابقت دارد. این اثر محافظتی ال - نیم می‌تواند در اثر غیر شد (۴H).

فعال کردن سیستم نیتریک اکساید و جلوگیری از تولید نیتریک اکساید باشد. به هر حال مکانیسم دقیق هنوز مشخص

مسیر نیتریک اکساید در تنظیم حافظه را نشان داده اند، اما در مطالعه حاضر مشخص شد که مهار نیتریک اکساید سنتتاز با استفاده از آنتاگونیست این سیستم در قبل از هر جلسه استرس، از گسترش صدمات در فعالیت حافظه و حواس در رت‌ها جلوگیری می‌کند. در بررسی نقش سیستم نیتریک اکساید در پردردی ناشی از استرس‌شنا، دلالت بر نقش سیستم نیتریک اکساید در کاهش پردردی ناشی از شنای مزمن دارد.

اگر چه روند‌های فیزیولوژی SIA به صورت گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است اما جنبه‌های زیادی از SIH نامشخص است و نوروترنسمیترهای متفاوتی اشاره شده که در روند فیزیولوژی آن نقش داشته باشند [۴۷]. مشخص شده است که استرس مزمن منجر به بی‌دردی می‌شود (SIA) [۶]، در صورتی که در شرایط خاص، استرس درد را افزایش می‌دهد که وضعیتی به نام پردردی ناشی از استرس (SIH) است [۳۲، ۳۳].

در این مطالعه ما نشان دادیم که استرس‌شنای مزمن آستانه درد و یادگیری اجتنابی غیر فعال را تغییر می‌دهد و همچنین ما شواهدی از دخالت سیستم نیتریک اکساید در این تغییرات نشان دادیم. استرس مزمن اثرات عمیقی بر حرکت، حس و شناخت حیوانات و انسان دارد [۲۲]. مطالعات قبلی نشان داده اند که درد [۳۲، ۳۳]، اختلال در یادگیری، حافظه و شکل‌پذیری عصبی [۲۲] از اثرات منفی استرس مزمن هستند.

استرس‌شنای مزمن در سال ۲۰۰۰ توسط کویترو و همکارانش، به عنوان یک مدل از SIH معرفی شد و مطالعات قبلی نشان می‌دهند که گیرنده‌های NMDA و اویپوئیدی در طی استرس‌شنای مزمن دخالت دارند [۳۳، ۴۶]. نیتریک اکساید یک نوروترنسمیتر محلول غشایی است که در تشکیلات حافظه و شکل‌گیری سیناپس نقش دارد [۳۰] که به وسیله تنظیم آزاد سازی سایر نوروترنسمیترها مانند گابا و گلوتامات عمل می‌کند. مطالعات زیادی نشان می‌دهند که نیتریک اکساید در نواحی از مغز که مسئول پاسخ‌های مربوط به درد و تشکیل حافظه هستند مانند هیپوکامپ و آمیگدال به طور فراوان یافت می‌شود [۷، ۴۹]. قبلاً نشان داده شده که

بازگشت دهد اما پیش درمانی با ال - نیم از اثرات STL ناشی از استرس شنای مزمن جلوگیری کرد.

در مطالعات قبلی نقش سیستم نیتریک اکساید در تشکیل و بازیابی حافظه اجتنابی مورد بررسی قرار گرفته است. فعال سازی سلول‌های تولید کننده نیتریک اکساید در نواحی مختلفی از مغز، از جمله: هیپوکامپ، آمیگدال و هیپوتالاموس مشاهده شده است [۱۸]. آنتاگونیست NMDA و مهارکننده های نیتریک اکسید سنتتاز مشخص شده است که از طریق تغییر بیان در سازنده های نیتریک اکساید و دیگر نوروترنسمیترها در نواحی از مغز که با اضطراب و استرس سر و کار دارند، دارای خواص ضد اضطرابی هستند [۳۱، ۵۰]. اسحاق - هارونی و همکارانش (۲۰۰۹) نشان دادند که تزریق داخل هیپوکامپ ال - نیم، باعث اختلال در حافظه اجتنابی می شود و این اختلال با تجویز ال - آرژنین قابل برگشت است [۱۱]. آکار و همکارانش (۲۰۰۷) نتایج مشابهی را نشان دادند. یافته‌های ما دلالت بر نقش سیستم نیتریک اکساید در اختلالات یادگیری ناشی از استرس شنای مزمن دارد. اگر چه ما تنها نقش احتمالی مسیر NO را در شکل گیری اختلالات حافظه مورد بررسی قرار دادیم اما ما پیشنهاد می‌کنیم مطالعات بیشتری در جهت بررسی نقش سیستم نیتریک اکساید در اکتساب و بازخوانی خاطرات آزارنده ناشی از استرس شنای مزمن انجام شود.

در مطالعه حاضر، اثرات بهبود بخش از ال - نیم بر روی اختلالات ناشی از استرس مزمن ثابت شد. اگر چه نیتریک اکساید به عنوان یک عامل محافظت نوروپی در استرس های مزمن مطرح شده است اما ممکن است به عنوان یک عامل انحطاط عصب در استرس های مزمن نقش داشته باشد. یکی از دلایل این موضوع می‌تواند این باشد که نیتریک اکساید یک نقش اکسیدانی در استرس های مزمن بازی می‌کند. ناگاتا و همکارانش (۲۰۰۸) نشان دادند که استرس اجتنابی باعث ایجاد صدمه در فعالیت های وابسته به هیپوکامپ می شود که به وسیله مولکول H_2 قابل جلوگیری است [۲۶]. بنابراین این فرضیه که نیتریک اکساید به عنوان یک عامل اکسیدانی در استرس مزمن نقش دارد، دور از تصور است. به هر حال مطالعات بیشتری مورد نیاز است تا این موضوع را مورد بررسی

نیست [۳۷]. متز و همکارانش (۲۰۰۱) همچنین حساسیت بیش از حد به محرکات درد و افزایش سطح اضطراب را در طی استرس مزمن نشان دادند [۲۴]، که با یافته های ما مطابقت دارد.

در مطالعه حاضر، یافته های کوینترو و همکارانش (۲۰۰۰) با استفاده از آزمون صفحه داغ تکرار شد [۳۳]. حیواناتی که استرس شنای مزمن را تجربه کرده بودند کاهش معنی داری در آستانه درد نشان دادند در صورتی که حیوانات گروه شم این کاهش را نشان ندادند. پیش درمانی با ال - آرژنین و ال - نیم، اثرات از استرس شنای مزمن را بر روی درد معکوس کرد. این نتایج دلالت بر نقش سیستم نیتریک اکساید در کاهش پردردی ناشی از شنای مزمن دارد. به هر حال ما، اثرات پیش درمانی از این عوامل را بر روی پاسخ های درد طولانی مدت بررسی نکردیم، یافته های ما دلالت بر نقش مسیره های نیتریک اکساید در پردردی ناشی از استرس دارد. نقش دقیق نیتریک اکساید در کاهش و حفظ پردردی و مکانسیم های احتمالی که می‌توانند در گیرنده های اوپیوئیدی و NMDA [۴۶] در روند استرس دخالت داشته باشند، همگی سوالاتی هستند که باید در مطالعات آینده پاسخ داده شوند.

ما نشان دادیم که مهار نیتریک اکساید قبل از هر جلسه شنا، اثرات استرس شنا را بر روی یادگیری، معکوس می‌کند، که می‌تواند به علت اثرات مخرب فعالیت بالای NMDA و رهایش بیش از اندازه نیتریک اکساید باشد [۳۰]. به هر حال این فرضیه باید در مطالعات مورد بررسی قرار گیرد تا نقش دقیق از نیتریک اکساید در صدمات حافظه ناشی از استرس شنای مزمن مشخص شود. قبلاً مشخص شده است که عوامل استرس زا می‌توانند حالت ترس مربوط به آمیگدال و یادگیری اجتنابی غیر فعال را تغییر دهند و به طور قابل توجهی عوامل استرس زا مختلف اثرات متفاوتی بر یادگیری اجتنابی غیر فعال دارند [۲، ۴۵]. همسو با مطالعات گذشته بر روی اثرات استرس مزمن بر روی یادگیری و حافظه، استرس شنای مزمن باعث ایجاد نقص در یادگیری اجتنابی غیر فعال گردید [۲۲] که به صورت ضعیفی توسط سیستم نیتریک اکساید میانجیگری شد. در صورتی که پیش درمانی با ال - آرژنین نتوانست به صورت کامل اثرات استرس شنای مزمن بر روی مدت زمان تأخیر در ورود (STL) را

قرار دهند.

سپاسگزاری

در طی انجام این مطالعه که حاصل از پایان نامه دانشجوی ارشد

می باشد، پس از اخذ مجوز کمیته اخلاق (EC/KNRC/92-26) از دانشگاه علوم پزشکی کرمان، همکاری‌های لازم از طرف معاونت پژوهشی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب انجام شد که بدین وسیله نویسندگان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

- A, [carnosine prevents the activation of free-radical lipid oxidation during stress]. *Biull Eksp Biol Med* 107 (1989) 144-147.
- [1] Aley K, McCarter G, Levine JD, Nitric oxide signaling in pain and nociceptor sensitization in the rat. *J Neurosci* 18 (1998) 7008-7014.
- [2] Baran SE, Armstrong CE, Niren DC, Hanna JJ, Conrad CD, Chronic stress and sex differences on therecall of fear conditioning and extinction. *Neurobiol Learn Mem* 91 (2009) 323-332.
- [3] Beckman J, The double-edged role of nitric oxide in brain function and superoxide-mediated injury. *J Dev Physiol* 15 (1991) 53-59.
- [4] Bondi CO, Rodriguez G, Gould GG, Frazer A, Morilak DA, Chronic unpredictable stress induces a cognitive deficit and anxiety-like behavior in rats that is prevented by chronic antidepressant drug treatment. *Neuropsychopharmacology* 33 (2007) 320-331.
- [5] Bredt DS, Snyder SH, Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci* 87 (1990) 682-685.
- [6] Carrive P, Churyukanov M, Le Bars D, A reassessment of stress-induced "analgesia" in the rat using an unbiased method. *Pain* 152 (2011) 676-686.
- [7] Dawson T, Snyder SH, Gases as biological messengers: Nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J Neurosci* 14 (1994) 5147-5159.
- [8] Eldjarn L, Pihl A, Mechanisms of protective and sensitizing action. *Mechanisms Radiobiol* (M. Errera and A. Forssberg, eds.) 2 (1960) 231-296.
- [9] Gameiro GH, Gameiro PH, Da Silva Andrade A, Pereira LF, Arthuri MT, Marcondes FK, De Arruda Veiga MCF, Nociception and anxiety-like behavior in rats submitted to different periods of restraint stress. *Physiol Behav* 87 (2006) 643-649.
- [10] Guliaeva N, Dupin A, Levshina I, Obidin A, Boldyrev A, [carnosine prevents the activation of free-radical lipid oxidation during stress]. *Biull Eksp Biol Med* 107 (1989) 144-147.
- [11] Harooni HE, Naghdi N, Sepehri H, Rohani AH, The role of hippocampal nitric oxide (no) on learning and immediate, short-and long-term memory retrieval in inhibitory avoidance task in male adult rats. *Behav Brain Res* 201 (2009) 166-172.
- [12] Hashiguchi H, Ye SH, Morris M, Alexander N, Single and repeated environmental stress: Effect on plasma oxytocin, corticosterone, catecholamines, and behavior. *Physiol Behav* 61 (1997) 731-736.
- [13] Holland AC, Kensinger EA, Emotion and autobiographical memory. *Phys Life Rev* 7 (2010) 88-131.
- [14] Homayoun H, Khavandgar S, Namiranian K, Gaskari SA, Dehpour AR, The role of nitric oxide in anticonvulsant and proconvulsant effects of morphine in mice. *Epilepsy Res* 48 (2002) 33-41.
- [15] Huang EP, Synaptic plasticity: A role for nitric oxide in ltp. *Curr Biol* 7 (1997) 141-143.
- [16] Jain A, Mårtensson J, Stole E, Auld P, Meister A, Glutathione deficiency leads to mitochondrial damage in brain. *Proc Natl Acad Sci* 88 (1991) 1913-1917.
- [17] Knowles RG, Moncada S, Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298 (1994) 249-258.
- [18] Krukoff TL, Khalili P, Stress induced activation of nitric oxide producing neurons in the rat brain. *J Comp Neurol* 377 (1997) 509-519.
- [19] Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC, Opioid and nonopioid mechanisms of stress analgesia. *Science* 208 (1980) 623-625.
- [20] Liepinsh E, Vilskersts R, Zvejniece L, Svalbe B, Skapare E, Kuka J, Cirule H, Grinberga S, Kalvinsh I, Dambrova M, Protective effects of mildronate in an experimental model of type 2 diabetes in goto- kakizaki

- rats. *Br J pharmacol* 157 (2009) 1549-1556.
- [21] Malmberg AB, Yaksh TL, Spinal nitric oxide synthesis inhibition blocks nmda-induced thermal hyperalgesia and produces antinociception in the formalin test in rats. *Pain* 54 (1993) 291-300.
- [22] McEwen BS, Plasticity of the hippocampus: Adaptation to chronic stress and allostatic load. *Ann NY Acad Sci* 933 (2001) 265-277.
- [23] Meller S, Pechman P, Gebhart G, Maves T, Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience* 50 (1992) 7-10.
- [24] Metz GA, Schwab ME, Welzl H, The effects of acute and chronic stress on motor and sensory performance in male lewis rats. *Physiol Behav* 72 (2001) 29-35.
- [25] Millan MJ, Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66 (2002) 355-474.
- [26] Nagata K, Nakashima-Kamimura N, Mikami T, Ohsawa I, Ohta S, Consumption of molecular hydrogen prevents the stress-induced impairments in hippocampus-dependent learning tasks during chronic physical restraint in mice. *Neuropsychopharmacology* 34 (2008) 501-508.
- [27] Nazeri M, Razavinasab M, Abareghi F, Shabani M, Role of nitric oxide in altered nociception and memory following chronic stress. *Physiol Behav* 129 (2014) 214-220.
- [28] Nicotera P, Bonfoco E, Brüne B, Mechanisms for nitric oxide-induced cell death: Involvement of apoptosis. *Adv Neuroimmunol* 5 (1995) 411-420.
- [29] Odeh F, Antal M, The projections of the midbrain periaqueductal grey to the pons and medulla oblongata in rats. *Eur J Neurosci* 14 (2001) 1275-1286.
- [30] Oosthuizen F, Wegener G, Harvey BH, Nitric oxide as inflammatory mediator in post-traumatic stress disorder (ptsd): Evidence from an animal model. *Neuropsychiatr Dis Treat* 1 (2005) 109-123.
- [31] Padovan CM, Del Bel EA, Guimarães FS, Behavioral effects in the elevated plus maze of an nmda antagonist injected into the dorsal hippocampus: Influence of restraint stress. *Pharmacol Biochem Behav* 67 (2000) 325-330.
- [32] Quintero L, Cardenas R, Suarez-Roca H, Stress-induced hyperalgesia is associated with a reduced and delayed gaba inhibitory control that enhances post-synaptic nmda receptor activation in the spinal cord. *Pain* 152 (2011) 1909-1922.
- [33] Quintero L, Moreno M, Avila C, Arcaya J, Maixner W, Suarez-Roca H, Long-lasting delayed hyperalgesia after subchronic swim stress. *Pharmacol Biochem Behav* 67 (2000) 449-458.
- [34] Rezayof A, Zare-Chahoki A, Zarrindast MR, Rassouli Y, Inhibition of dorsal hippocampal nitric oxide synthesis potentiates ethanol-induced state-dependent memory in mice. *Behav Brain Res* 209 (2010) 189-195.
- [35] Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S, Stress, memory and the amygdala. *Nature Rev Neurosci* 10 (2009) 423-433.
- [36] Schwabe L, Wolf OT, Stress impairs the reconsolidation of autobiographical memories. *Neurobiol Learn Mem* 94 (2010) 153-157.
- [37] Sevgi S, Ozek M, Eroglu L, L-name prevents anxiety-like and depression-like behavior in rats exposed to restraint stress. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 28 (2006) 95-100.
- [38] Shabani M, Haghani M, Sheibani V, Janahmadi M, Changes in motor and learning behaviors of rats prenatally exposed to win 55212-2, a cannabinoid receptor agonist. *Physiol Pharmacol* 13 (2009) 120-129.
- [39] Shabani M, Hosseinmardi N, Haghani M, Shaibani V, Janahmadi M, Maternal exposure to the cb1 cannabinoid agonist win 55212-2 produces robust changes in motor function and intrinsic electrophysiological properties of cerebellar purkinje neurons in rat offspring. *Neuroscience* 172 (2011) 139-152.
- [40] Shabani M, Larizadeh MH, Parsania S, Asadi Shekaari M, Shahrokhi N, Profound destructive effects of adolescent exposure to vincristine accompanied with some sex differences in motor and memory performance. *Can J Physiol Pharmacol* 90 (2012) 379-386.
- [41] Shabani M, Nazeri M, Parsania S, Razavinasab M, Zangiabadi N, Esmailpour K, Abareghi F, Walnut consumption protects rats against cisplatin-induced neurotoxicity. *Neurotoxicol* 33 (2012) 1314-1321.
- [42] Shaheen A, El-Fattah AA, Gad M, Effect of various stressors on the level of lipid peroxide, antioxidants and na+, k+-atpase activity in rat brain. *Experientia* 52 (1996) 336-339.
- [43] Sharma S, Kulkarni SK, Chopra K, Effect of resveratrol,

- a polyphenolic phytoalexin, on thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain. *Fundam Clin Pharmacol* 21 (2007) 89-94.
- [44] Shojaei A, Shabani M, Pilevarian A, Parsania S, Razavinasab M, Effect of acute administration of cisplatin on memory, motor learning, balance and explorative behaviours in rats. *Physiol Pharmacol* 16 (2012) 121-135.
- [45] Shors TJ, Stressful experience and learning across the lifespan. *Annu Rev Psychol* 57 (2006) 55-85.
- [46] Suarez-Roca H, Silva JA, Arcaya JL, Quintero L, Maixner W, Piñerua-Shuhaibar L, Role of μ -opioid and nmda receptors in the development and maintenance of repeated swim stress-induced thermal hyperalgesia. *Behav Brain Res* 167 (2006) 205-211.
- [47] Torres IL DS, Vasconcellos A, Silveira Cucco S, Dalmaz C, Effect of repeated stress on novelty-induced antinociception in rats. *Braz J Med Biol Res* 34 (2001) 241-244.
- [48] Vidal C, Jacob J, Stress hyperalgesia in rats: An experimental animal model of anxiogenic hyper-algesia in human. *Life Sci* 31 (1982) 1241-1244.
- [49] Vincent S, Kimura H, Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience* 46 (1992) 755-784.
- [50] Volke V, Wegener G, Bourin M, Vasar E, Antidepressant- and anxiolytic-like effects of selective neuronal nos inhibitor 1-(2-trifluoromethylphenyl)-imidazole in mice. *Behav Brain Res* 140 (2003) 141-147.
- [51] Wang JH, Ko GY, Kelly PT, Cellular and molecular bases of memory: Synaptic and neuronal plasticity. *J Clin Neurophysiol* 14 (1997) 264-293.
- [52] Zarrindast MR, Askari E, Khalilzadeh A, Nouraei N, Morphine state-dependent learning sensitization and interaction with nitric oxide. *Pharmacology* 78 (2006) 66-71.
- [53] Zarrindast MR, Shendy MM, Ahmadi S, Nitric oxide modulates state dependency induced by lithium in an inhibitory avoidance task in mice. *Behav Pharmacol* 18 (2007) 289-295.