

Interaction between apomorphine and histaminergic system of mouse dorsal hippocampus in the elevated plus-maze test of anxiety

Ayazi E¹, Piri M^{2*}, Bananej M¹, Shahin M³, Zarrindast MR⁴

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, I. R. Iran.

2- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, I. R. Iran.

3- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University- Shahr-e-Rey Branch, Tehran, I. R. Iran.

4- Department of Pharmacology, Faculty of Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

Received November 21, 2010; Accepted April 10, 2011

Abstract:

Background: Histaminergic and dopaminergic systems influence anxiety-related behavior. Furthermore, interaction between histaminergic and dopaminergic receptors has been demonstrated in the modulation of some behaviors in the hippocampus. In the present study, the interaction between histaminergic and dopaminergic receptors of dorsal hippocampus in the anxiety-related behavior has been evaluated.

Materials and Methods: This experimental study was carried out on 140 male NMRI mice. Mice were anesthetized with intra-peritoneal injection of ketamine hydrochloride plus xylazine and then placed in a stereotaxic apparatus. Two cannulae were placed in the CA1 region of hippocampus. All animals were allowed to recover for one week before the beginning of the behavioral testing. The elevated plus-maze test was used to evaluate anxiety-related behaviors. One-way analysis of variance (ANOVA) followed by LSD test were done for the statistical analysis of the data. All experiments were conducted in accordance with institutional guidelines for animal care and use.

Results: Intra-CA1 injection of histamine (10 µg/mouse) or apomorphine (0.1 and 0.3 µg/mouse) 5 min before testing induced anxiety. Intra-CA1 injection of apomorphine (0.01 and 0.1 µg/mouse) 2 min before the effective dose of histamine (10 µg/mouse) inhibited the anxiogenic effects of histamine.

Conclusion: It seems that both histaminergic and dopaminergic system not only play a role in the modulation of anxiety in the dorsal hippocampus of mice but also demonstrate a complex interaction as well.

Keywords: Apomorphine, Dorsal hippocampus, Elevated plus-maze, Histamine, Mouse

* Corresponding Author.

Email: biopiri@iauardabil.ac.ir

Tel: 0098 912 254 3585

Fax: 0098 451 772 8029

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Summer, 2011; Vol. 15, No 2, Pages 105-113.

برهمکنش آپومورفین و سیستم هیستامینزیک هیپوکامپ پشتی موش کوچک آزمایشگاهی در تست اضطراب ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع

الهام ایازی^۱ ، مرتضی پیری^{۲*} ، مریم بنانج^۳ ، مریم السادات شاهین^۴ ، محمد رضا زرین دست^۵

خلاصه

سابقه و هدف: سیستم‌های هیستامینی و دوپامینی اضطراب را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به علاوه برهمکنش بین هیستامین و گیرنده‌های دوپامینی در زمینه تعديل برخی رفتارها در هیپوکامپ اثبات شده است. در این مطالعه برهمکنش بین گیرنده‌های هیستامینی و دوپامینی در زمینه رفتار اضطرابی در هیپوکامپ پشتی مواد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی روی ۱۴۰ موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI انجام شد. موش‌های کوچک آزمایشگاهی با تزریق درون صفاتی کتابین هیدروکلرايد و زایلزین بی‌هوش شده و سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دو کانول در ناحیه هیپوکامپ پشتی مواد مطالعه قرار داده شد. به تمامی حیوانات قبل از شروع آزمون رفتاری برای بهبودی یک هفته فرصت داده شد. تست ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع برای رفتارهای اضطرابی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج: یافته‌های مطالعه نشان دادند که تزریق هیستامین (۱۰ میکروگرم بر موش) یا آپومورفین (۰/۱ و ۰/۳ میکروگرم بر موش) پنج دقیقه قبل از آزمون به داخل ناحیه CA1 باعث القاء اضطراب گردیده و تزریق آپومورفین (۰/۰۱ و ۰/۱ میکروگرم بر موش)، دو دقیقه قبل از دوز مؤثر هیستامین (۱۰ میکروگرم بر موش) اثرات اضطراب‌زا هیستامین را مهار می‌نماید.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد علاوه بر اینکه هر دو سیستم هیستامینزیک و دوپامینزیک در تعديل اضطراب در هیپوکامپ پشتی موش کوچک آزمایشگاهی نقش دارند، بلکه بین آنها یک برهمکنش پیچیده نیز وجود دارد.

وازگان کلیدی: آپومورفین، هیپوکامپ پشتی، ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع، هیستامین، موش کوچک آزمایشگاهی

فصلنامه علمی – پژوهشی فیض، دوره پانزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، صفحات ۱۱۳–۱۰۵

مقدمه

اهمیت هیستامین در رفتار اضطرابی در مطالعات پیشین نشان داده شده است. نتایج اکثر مطالعات نشان دهنده این موضوع می‌باشد که در شرایط تش‌زا افزایش تولید هیستامین در مغز باعث القاء اضطراب می‌شود، در حالی که تخریب مراکز تولید هیستامین در مغز باعث کاهش رفتار اضطرابی می‌گردد. مطالعات فارماکولوژیکی صورت گرفته نیز نشان می‌دهند که تزریق هیستامین به صورت سیستمیک یا به صورت درون مغزی به مراکزی مانند

هیپوکامپ و آمیگدال باعث القاء اضطراب در مدل‌های حیوانی می‌شود. هیستامین اثرات خود را در سیستم عصبی از طریق گیرنده‌های H1، H2 و H3 اعمال می‌نماید. گیرنده‌های هیستامینی H1، از خانواده گیرنده‌های متصل شونده به G پروتئین-ها می‌باشند که فعال شدن آنها باعث تحریک فسفولیپاز C و همچنین افزایش cAMP می‌شود [۱]. تراکم بالایی از گیرنده‌های هیستامینی H1 در دستگاه لیمبیک به‌ویژه در ناحیه هیپوکامپ حضور دارند [۲]. گیرنده‌های H2 نیز جزء گیرنده‌های متصل شونده به G پروتئین‌ها می‌باشند که فعال شدن آنها باعث افزایش تولید cAMP می‌شود [۳]. گیرنده‌های H3 اتورسپیکور بوده و ساخت و رهایش هیستامین را تنظیم می‌کنند [۴]. همچنین، هیستامین با اثر بر روی گیرنده‌های هیستامینی H3. یادگیری فضایی و حافظه را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۵]. فعال شدن گیرنده‌های هیستامینی H3 باعث کاهش ساخت و افزایش رهایش هیستامین گردیده و می‌تواند رفتارهای اضطرابی را تحت تاثیر قرار دهد [۶]. از طرف دیگر شواهدی وجود دارد که نشان دهنده برهمکنش بین سیستم هیستامینزیک و دوپامین می‌باشد. شواهد بیوشیمیابی و رفتاری در جوندگان نشان می‌دهند که مکانیسم‌های هیستامینزیک در تعديل فعالیت دوپامین در سیستم عصبی مرکزی

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

^۲ مریم، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

^۳ کارشناس زیست‌شناسی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهری اسلامی واحد شهری

^۴ استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران * نشان نویسنده مسئول:

اردبیل، میدان بسیج، دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

تلفن: ۰۴۵۱ ۷۷۲۸۰۲۹ - ۰۹۱۲ ۲۵۴۳۵۸۵ دوچرخه:

پست الکترونیک: biopiri@iauardabil.ac.ir تاریخ پذیرش نهایی: ۹۰/۱/۲۱ تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۳۰

دستگاه تست اضطراب و نحوه انجام تست رفتاری برای سنجش اضطراب از مدل رفتاری ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع استفاده شد. اساس این ارزیابی در این آزمون بر پایه دو غریزه طراحی شده است: یکی حس جستجوگرانه جوندگان، و دیگری احتراز از محیط‌های باز و روشن. در این روش حیوان بیشتر تمایل دارد وقت خود را در بازوها بسته بگذراند. این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت به علاوه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته 40×7 است که در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیوارهایی به بلندی ۱۰ سانتی متر قرار دارند. برای جلوگیری از سقوط موش‌های صحرایی، در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه‌هایی به ارتفاع یک سانتی متر از جنس شیشه تعییه شده است. ماز به وسیله پایه‌هایی در ارتفاع ۴۰ سانتی متر از سطح زمین قرار می‌گرد. موش‌ها درون محدوده مرکزی و رو به یک بازوی باز قرار می‌گرفتند. نور مناسب به وسیله یک لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز ماز قرار داشت، تأمین می‌شد. در مدت پنج دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کرد، چهار پارامتر به روش مشاهده اندازه‌گیری می‌شد: تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می‌شد، تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می‌شد، مدت زمانی که حیوان در بازوی باز می‌ماند و مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته می‌ماند. منظور از ورود به بازوی باز یا بسته قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر است. مدت زمان ماندن در هر بازوی نیز بر همین اساس محاسبه شده است. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز Open Arm Entries (%OAE)، درصد زمان ماندن در بازوی باز Open Arm Times (%OAT) و فعالیت حرکتی حیوان به طریق زیر محاسبه شد.

$$\frac{\text{تعداد درورده به بازوی باز}}{\text{تعداد درورده به بازوی باز} + \text{تعداد درورده به بازوی بسته}} \times 100 = \text{درصد ورود به بازوی باز}$$

$$\frac{\text{درصد ماندن در بازوی باز}}{\text{تعداد درورده به بازوی باز} + \text{تعداد درورده به بازوی بسته}} \times 100 = \text{درصد ماندن در بازوی باز}$$

تعداد ورود به بازوی بسته + تعداد ورود به بازوی باز = فعالیت حرکتی حیوان

افزایش معنادار این دو پارامتر نشان دهنده کاهش اضطراب در این تست است. البته عامل درصد ورود به بازوی باز (%OAE) نسبت به فاکتور درصد زمان حضور در بازوی باز (%OAT) در ثبت رفتارهای اضطرابی و ضداضطرابی حیوان دارای حساسیت کمتری است.

داروها

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از هیستامین و آپومورفین که از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه

به ویژه در سیستم مژولیمیک نقش مهمی بر عهده دارند [۸,۷]. مطالعات فارماکولوژیکی نیز نشان می‌دهند که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی H1 با جذب دوپامین از فضای سیناپسی را مهار نموده و از این طریق باعث فعال‌تر شدن سیستم دوپامینی می‌شوند [۹]، در حالی که آزاد سازی دوپامین از برش‌های برداشته شده از استریاتوم توسط هیستامین مهار می‌گردد. مطالعات رفتاری نیز نشان داده‌اند که واپستگی روانی القاء شده با تزریق هیستامین یا پیریلامین به بخش میانی سپتومن با پیش تیمار با آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی D1 مهار می‌گردد. از طرف دیگر سیستم دوپامینی نیز می‌تواند عملکرد سیستم هیستامینی را تحت تاثیر قرار دهد. برخی مطالعات نشان می‌دهند که دوپامین و آپومورفین آزاد سازی هیستامین از طریق گیرنده‌های دوپامینی D2 در هیپوتالاموس موش صحرایی را افزایش می‌دهند. مطالعات رفتاری نیز نشان می‌دهند که حساسیت القاء شده با آپومورفین بر روی فراموشی القاء شده با مورفین اثر نموده و باعث بهبود حافظه تخریب شده با هیستامین می‌شود. با توجه به اهمیت هیپوکامپ پشتی و سیستم‌های دوپامینزیک و هیستامینزیک در زمینه رفتار اضطرابی و با در نظر داشتن این نکته که هیپوکامپ پشتی ورودی‌های دوپامینزیک و هیستامینزیک را دریافت می‌کند و گیرنده‌های این دو سیستم در هیپوکامپ پشتی بیان می‌شود [۱۱, ۱۰, ۲]، در این مطالعه برای اولین بار برهمکنش بین این دو سیستم در هیپوکامپ پشتی موش کوچک آزمایشگاهی در زمینه رفتار اضطرابی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در پژوهشکده علوم شناختی (تهران - ایران) انجام گرفت، از موش‌های کوچک آزمایشگاهی به وزن تقریبی ۲۲-۲۵ گرم که از انسستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند، استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شده، در هر قفس ۵ سر موش قرار داده شد. در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت و هر سه روز یکبار قفس موش‌ها تمیز می‌شد. دمای حیوانخانه بین 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحی بهمدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. در طول یک هفته به منظور جلوگیری از تتش کار، هر روز حیوان‌ها Handling می‌شدند. هر حیوان فقط یک بار استفاده شده و در گروه هشت تابی قرار داده می‌شد. همه آزمایش‌ها در طول روز انجام می‌گردید.

گردیدند. داروها بلا فاصله قبل از انجام آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل حل شدند.

جراحی و کانول گذاری در ناحیه هیپوکامپ پشتی (CA1) موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ mg/kg) و زایلزین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. کانول‌های راهنما (G ۲۳) به صورت دو طرفه یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس قرار داده شدند. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی عبارت بود از : -۲-۷ [V=-۱/۵, ML=+۱/۶, AP=+۱/۶]. بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده می‌شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به‌منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده، به حالت عادی خود برگردد.

تزریق درون مغزی دارو

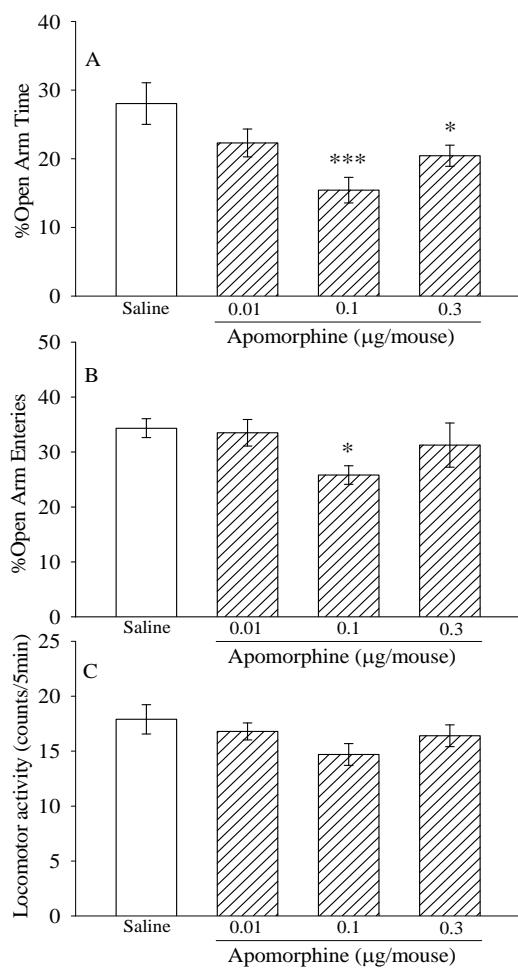
برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن G ۳۰ دندانپزشکی که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد متصل بود، در داخل کانول راهنما G ۲۳ قرار داده شده، در هر کانول ۰/۵ میکروگرم دارو در مدت ۶۰-۹۰ ثانیه تزریق می‌شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند. لازم به ذکر است که در آزمایش‌هایی که فقط یک دارو تزریق شده است (آزمایش یک و دو) تزریق دارو پنج دقیقه قبل از انجام آزمون اضطراب انجام شده است و در آزمایش سوم که دو دارو تزریق شده است، ابتدا هیستامین و دو دقیقه بعد آپومورفین تزریق شده و پنج دقیقه بعد تزریق دوم (تزریق آپومورفین) آزمون اضطراب به عمل آمده است. بافت شناسی

پس از کشتن حیوانات توسط کلروفرم، با تزریق رنگ متیلن بلو ۴ درصد (۱ml) به داخل هر دو کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شده، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوب مورد مطالعه قرار می‌گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده می‌شد. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

آزمایش اول: اثر هیستامین در هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی
نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف هیستامین به ناحیه هیپوکامپ پشتی به صورت معنی‌داری

داد که کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز در دوزهای $0.1\text{--}0.3\text{ }\mu\text{g}/\text{mouse}$ میکروگرم بر موش) و کاهش درصد ورود به بازوی باز در دوز $0.1\text{ }\mu\text{g}/\text{mouse}$ از نظر آماری معنی دار می باشد. این نتایج نشان دهنده اضطراب زا بودن آپومورفین در ناحیه هیپوکامپ پشتی می باشد (نمودار شماره ۲).

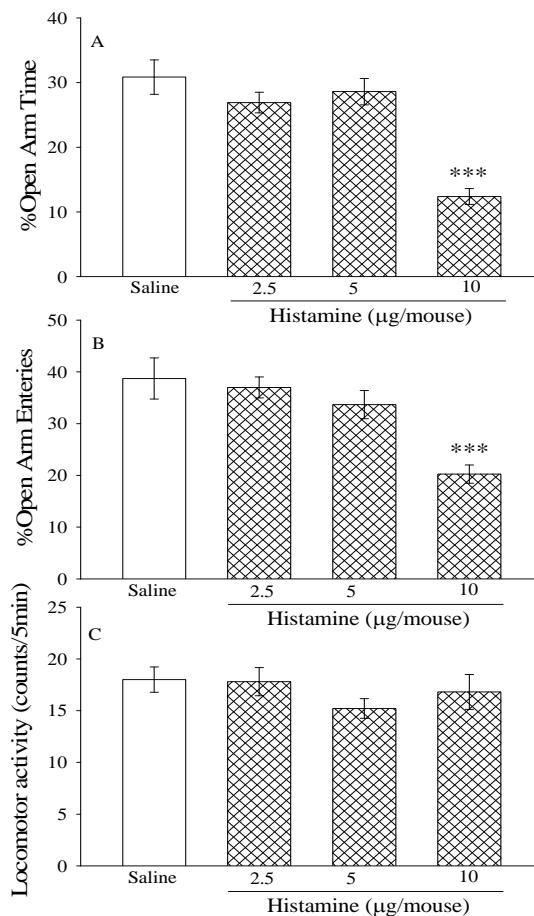


نمودار شماره ۲- اثر تزریق درون مغزی آپومورفین به ناحیه هیپوکامپ پشتی بر روی درصد حضور در بازوی باز، درصد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. $*P<0.05$, $***P<0.001$ در مقایسه با گروه سالین می باشد.

آزمایش سوم: اثر آپومورفین در هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی القاء شده توسط هیستامین در موش کوچک آزمایشگاهی

نتایج آتالیز واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف آپومورفین به ناحیه هیپوکامپ پشتی موش هایی که قبل از دوز مؤثر هیستامین را دریافت کرده اند، به صورت معنی دار درصد زمان حضور در بازوی باز $[F(28,3)=9/62, P<0.001]$ و درصد ورود به بازوی باز $[F(28,3)=13/56, P<0.001]$ را در مقایسه با گروهی که هیستامین را به تنها بی دریافت کرده اند

درصد زمان حضور در بازوی باز $[F(28,3)=9/61, P<0.001]$ درصد ورود به بازوی باز $[F(28,3)=11/27, P<0.001]$ را کاهش داده، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی داری ندارد $[F(28,3)=0/85, P>0.05]$. این نتایج نشان دهنده اضطراب زا بودن هیستامین می باشد. به علاوه، آزمون مکمل LSD نشان داد که کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز در دوز $10\text{ }\mu\text{g}/\text{mouse}$ از نظر آماری معنی دار می باشد (نمودار شماره ۱).

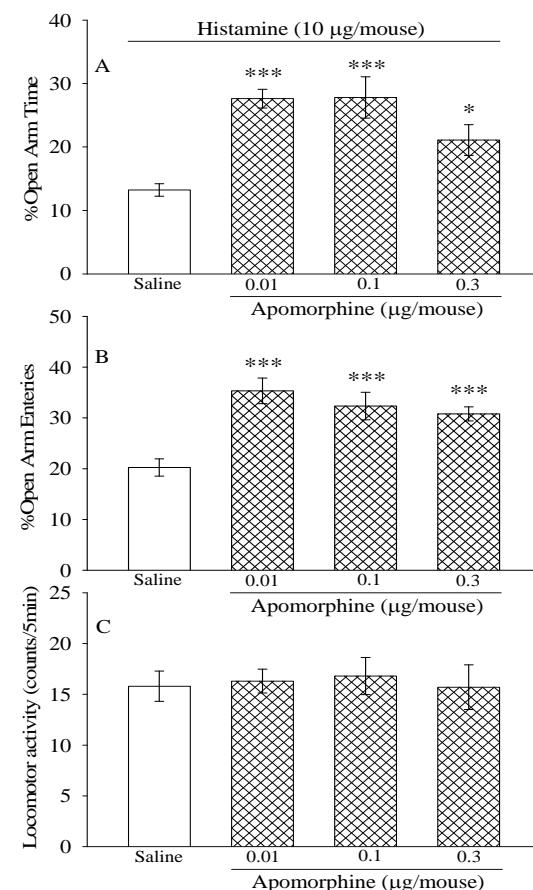


نمودار شماره ۱- اثر تزریق درون مغزی هیستامین به ناحیه هیپوکامپ پشتی بر روی درصد حضور در بازوی باز، درصد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. $***P<0.001$ در مقایسه با گروه سالین می باشد.

آزمایش دوم: اثر آپومورفین در هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی نتایج آتالیز واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف آپومورفین به ناحیه هیپوکامپ پشتی به صورت معنی داری درصد زمان حضور در بازوی باز $[F(28,3)=10/84, P<0.001]$ و درصد ورود به بازوی باز $[F(28,3)=6/27, P<0.001]$ را کاهش می دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی داری ندارد $[F(28,3)=1/15, P>0.05]$. به علاوه آزمون مکمل LSD نشان

به صورت معنی‌داری در صد زمان حضور در بازوی باز و در صد ورود به بازوی باز را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی کاوش می‌دهد، بدون اینکه بر روی فعالیت حرکتی تأثیر بگذارد. این نتایج حاکی از اضطراب‌زا بودن هیستامین در ناحیه هیپوکامپ پشتی می‌باشد. نتایج بدست آمده در این مطالعه همسو با مطالعه قبلی ما می‌باشد که با استفاده از دستگاه board hole صورت گرفته بود. نتایج این مطالعه نشان داده بود که تزریق هیستامین باعث کاوش رفسار جستجوگرانه و القاء اضطراب در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌شود [۱۳]. نورون‌های هیستامینرژیک مغز از هسته tuberomammillary، منشاء گرفته و بخش وسیعی از مغز و نخاع از جمله هیپوکامپ را عصب دهی می‌نمایند [۱۴]. هیستامین اثرات خود را از طریق گیرنده‌های H₁, H₂ و H₃ اعمال می‌نموده و مطالعات انجام گرفته نشان دهنده اهمیت هیستامین در زمینه رفتار اضطرابی می‌باشد [۱۵]. به عنوان نمونه، برخی مطالعات نشان می‌دهند که تزریق هیستامین به بخش مرکزی آمیگدال و بخش شکمی هیپوکامپ باعث القاء اضطراب در تست ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع می‌شود. همچنین، گزارش شده است که تزریق آگوئیست اختصاصی گیرنده‌های هیستامینی H₁ می‌تواند زمانی که حیوان در بخش روش دستگاه تست اضطراب جعبه روش/تاریک می‌گذراند، را کاهش دهد. این یافته‌ها حاکی از اثر اضطراب‌زا هیستامین می‌باشد [۱۶-۱۸]. از طرف دیگر نشان داده شده است که استرس‌هایی که باعث القاء اضطراب می‌شوند، می‌توانند رهایش هیستامین از نورون‌های هیستامینرژیک را افزایش داده و مصرف داروهای ضد اضطراب مانند دیازپام، بنزودیازپین‌ها و بوسپیرون (آگونیست سروتونینی) سرعت turnover هیستامین در مغز موش صحراوی و موش کوچک آزمایشگاهی را کاهش می‌دهند [۱۹]. برخلاف اکثر گزارش‌هایی که نشان می‌دهند فعال شدن سیستم هیستامینرژیک در مغز باعث القاء اضطراب و تخریب مراکز هیستامینرژیک باعث کاهش اضطراب می‌شود [۱۴]، گزارشی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد هیستامین در ناحیه هیپوکامپ پشتی موش صحراوی دارای اثرات ضد اضطرابی می‌باشد [۲۰]. هیستامین اثر خود را در هیپوکامپ پشتی به صورت مستقیم یا غیر مستقیم اعمال می‌نماید. نشان داده شده است که هیپوکامپ، ورودی‌های هیستامینرژیک را از هسته tuberomammillary دریافت نموده و این ورودی‌ها اثرات تحریکی زیادی بر روی نورون‌های هیپوکامپ دارند. از طرف دیگر نورون‌های هیستامینرژیک می‌توانند به صورت غیر مستقیم از طریق نورون‌های کولینرژیک ناحیه سپтом، عملکرد نورون‌های هیپوکامپ را تحت تأثیر قرار دهند [۲۱]. علاوه بر گزارشات فوق، برخی مطالعات نیز

افزایش می‌دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد $[P < 0.05]$. این نتایج نشان دهنده این مطلب می‌باشد که آپومورفین قادر به مهار اضطراب القاء شده با هیستامین است. به علاوه آزمون مکمل LSD نشان داد که افزایش در صد زمان حضور در بازوی باز و افزایش در صد ورود به بازوی باز در دوزهای $(0.03, 0.1, 0.3 \mu\text{g}/\text{mouse})$ از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳- اثر تزریق درون مغزی آپومورفین به ناحیه هیپوکامپ پشتی در حضور هیستامین بر روی در صد حضور در بازوی باز، در صد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان . $*P < 0.05, ***P < 0.001$

در مقایسه با گروه سالین/هیستامین می‌باشد..

بحث

در مطالعه حاضر برهمکنش هیستامین و آپومورفین در هیپوکامپ پشتی در زمینه رفتار اضطرابی با استفاده از ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع مورد بررسی قرار گرفت. ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع یکی از دستگاه‌های پذیرفته شده برای بررسی رفتار اضطرابی در جوندگان می‌باشد، که با استفاده از آن می‌توان به اثرات اضطراب‌زا و اضطراب‌زا داروها پی برد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تزریق هیستامین به ناحیه هیپوکامپ پشتی

هیستامین با آپومورفین در زمینه رفتار اضطرابی در هیپوکامپ پشتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ما در این مطالعه نشان داد که تزریق آپومورفین به موش‌هایی که تحت تأثیر دوز مؤثر هیستامین بوده‌اند، به صورت معنی‌داری از القاء اضطراب توسط هیستامین جلوگیری می‌کند. به عبارت ساده‌تر با وجود اینکه آپومورفین به‌تنهایی باعث القاء اضطراب می‌شود ولی وقتی همراه با هیستامین تزریق می‌گردد، باعث خشی نمودن اثر اضطراب‌زاوی هیستامین می‌گردد. این یافته نشان‌دهنده برهمکنش سیستم دوپامینی با سیستم هیستامینی در زمینه رفتار اضطرابی در هیپوکامپ پشتی می‌باشد. در برخی از مطالعات قبلی نیز برهمکنش این دو سیستم در زمینه رفتاری نشان داده است؛ به عنوان نمونه مشخص شده است که حساسیت القاء شده با آپومورفین بر روی فراموشی القاء شده با هیستامین اثر نموده و باعث بهبود حافظه تخریب شده با هیستامین می‌شود [۲۹]. همچنین، گزارش شده است که وابستگی روانی القاء شده با تزریق هیستامین یا پیریلامین به بخش میانی D1 سپتوم، با پیش‌تیمار با آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی مهار می‌گردد [۳۰]. علت این برهمکنش‌ها اثر متقابل این دو سیستم بر یکدیگر می‌باشد. مدارک موجود نشان می‌دهند که هیستامین می‌تواند فعالیت دوپامینزیکی را که از ناحیه تگمتوم منشاء گرفته و هیپوکامپ را عصب دهی می‌نمایند تحت تأثیر قرار می‌دهد. مطالعات فارماکولوژیکی نیز نشان می‌دهند که هیستامین آزادسازی دوپامین از برش‌های برداشته شده از استریاتوم را مهار می‌نماید [۳۱]. در حالی که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی H1 باز جذب دوپامین از فضای سیناپسی را مهار نموده و از این طریق باعث فعال‌تر شدن سیستم دوپامینی می‌شوند. این یافته‌ها می‌توانند به‌خوبی توجیه کننده نتایج بدست آمده در این مطالعه باشند، چرا که می‌توانند بیان‌گر این مسئله باشند که پیش‌تیمار با هیستامین میزان رهایش دوپامین را کاهش داده و تزریق آپومورفین در دوزهای معمولی عملاً اثر هیستامین تزریق شده را به واسطه تقویت انتقال پیام‌های دوپامینزیک خشی می‌نماید.

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان می‌دهند که علاوه بر اینکه سیستم دوپامینی و هیستامینی می‌توانند رفتار اضطرابی را در هیپوکامپ پشتی تحت تأثیر قرار دهند، بلکه یک برهمکنش پیچیده بین این دو سیستم وجود دارد؛ به‌گونه‌ای که با وجود اضطراب‌زا بودن خود آپومورفین تزریق آن به موش‌هایی که قبلاً هیستامین دریافت کرده‌اند، باعث مهار اضطراب القاء شده توسط هیستامین می‌شود. به احتمال قوی علت اصلی پاسخ مشاهده شده

نشان می‌دهند که هیستامین با اثر بر روی گیرنده‌های هیستامینی H3 و به واسطه کاهش ساخت و افزایش رهایش هیستامین می‌تواند رفتارهای اضطرابی را تحت تأثیر قرار دهد [۶]. در آزمایش بعدی اثر تزریق آپومورفین (آگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌های D1 و D2 دوپامینی) به هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ما در این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق آپومورفین به ناحیه هیپوکامپ پشتی باعث کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز شده، بدون اینکه بر روی درصد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان اثری بگذارد. این نتایج حاکی از اثرات اضطراب‌زا آپومورفین در هیپوکامپ پشتی می‌باشد. در راستای نتایج ما برخی از مطالعات پیشین نیز گزارش نموده‌اند اثر اضطراب‌زا آپومورفین توسط سولپیراید (آناتاگونیست گیرنده‌های D2) مهار شده اما آنتاگونیست گیرنده D1 اثری بر پاسخ اضطرابی القاء شده با آپومورفین ندارد [۲۳، ۲۲]. همچنین، مطالعات پیشین نشان می‌دهند که میزان رهایش دوپامین در پی قرارگیری در معرض طیف وسیعی از استرس‌های حاد و مزمن افزایش می‌یابد [۲۴]. نوروون‌های دوپامینزیک تا جای تگمتوم شکمی، نواحی مختلف مغز مانند هسته آکومبنس، پالیدیوم شکمی و هیپوکامپ را عصب دهی می‌کنند [۲۵]. مشخص شده است که مسیرهای وروودی‌های دوپامینزیک هیپوکامپ پشتی می‌توانند رفتار اضطرابی را تحت تأثیر قرار دهند [۲۷، ۲۶]. دوپامین اثرات خود را از طریق دو نوع گیرنده دوپامینی اعمال می‌نماید. گیرنده‌های گروه D1 که شامل گیرنده‌های D1 و D5 بوده و گیرنده‌های گروه D2 که شامل گیرنده‌های D2، D3 و D4 می‌باشد [۲۸]. مطالعات نشان می‌دهند که گیرنده‌های دوپامینی D1 و D2 در میانجی گری اضطراب نقش دارند [۲۶]. با وجود مشخص شدن اهمیت سیستم دوپامینی و گیرنده‌های دوپامینی در فرآیند اضطراب، مطالعات رفتاری انجام شده اثرات متضادی را برای سیستم دوپامینی گزارش نموده‌اند، به‌گونه‌ای که اثرات ضد اضطرابی و اضطراب‌زاوی هر دو برای آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های دوپامینی گزارش شده‌اند. این اختلاف پاسخ مشاهده شده در مورد آپومورفین می‌تواند، به صورت اصلی نتیجه تفاوت در دوز دارو و محل تزریق دارو در مغز باشد، هر چند نباید عواملی مانند نوع حیوان به کار رفته و نوع تست اضطراب استفاده شده را نیز از نظر دور داشت. با توجه به اینکه هیپوکامپ پشتی وروودی‌های دوپامینزیک را از ناحیه تگمتوم شکمی و وروودی‌های هیستامینزیک را از هسته tuberomammillary دریافت می‌دارد و هر دو دسته این وروودی‌ها می‌توانند فعالیت نوروون‌های هیپوکامپ و رفتار اضطرابی را تحت تأثیر قرار دهند، در بخش آخر این مطالعه برهمکنش

هیپوکامپ پشتی استفاده گردد، که نوبستندگان این مقاله در ادامه این پژوهش برای روشن تر شدن ابعاد مختلف این برهمکنش پیچیده قصد انجام آن را دارند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین آزمایشگاه گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

کاهش رهایش دوپامین توسط هیستامین می‌باشد، به عبارت ساده‌تر تزریق اولیه هیستامین باعث کاهش رهایش دوپامین شده و این تضعیف سیستم دوپامینی توسط تزریق آگونیست غیراختصاصی دوپامین (آپومورفین) خشی می‌گردد. همچنین، این یافته می‌تواند بیان‌گر این مطلب باشد که بخشی از اثرات اضطراب‌زاکی هیستامین در هیپوکامپ پشتی توسط سیستم دوپامینی میانجی گری می‌شود. با وجود نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد برای اظهار نظر قطعی‌تر در مورد برهمکنش بین این دو سیستم باید از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های اختصاصی دوپامینی به همراه هیستامین در

References:

- [1] Leurs R, Traiffort E, Arrang JM, Tardivel-Lacome J, Ruat M, Schwartz JC. Guinea pig histamine H1 receptor. II. Stable expression in Chinese hamster ovary cells reveals the interaction with three major signal transduction pathways. *J Neurochem* 1994; 62(2): 519-27.
- [2] Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine. *Prog Neurobiol* 2001; 63(6): 637-72.
- [3] Traiffort E, Vizuete ML, Tardivel-Lacombe J, Souil E, Schwartz JC, Ruat M. The guinea pig histamine H2 receptor: gene cloning, tissue expression and chromosomal localization of its human counterpart. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 211(2): 570-7.
- [4] Arrang JM, Garbarg M, Schwartz JC. Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H3) of histamine receptor. *Nature* 1983; 302(5911): 832-7.
- [5] Rizk A, Curley J, Robertson J, Raber J. Anxiety and cognition in histamine H3 receptor-/- mice. *Eur J Neurosci* 2004; 19(7): 1992-6.
- [6] Imaizumi M, Onodera K. The behavioral and biochemical effects of thioperamide, a histamine H3-receptor antagonist, in a light/dark test measuring anxiety in mice. *Life Sci* 1993; 53(22): 1675-83.
- [7] Boix F, Sandor P, Nogueira PJ, Huston JP, Schwarting RK. Relationship between dopamine release in nucleus accumbens and place preference induced by substance P injected into the nucleus basalis magnocellularis region. *Neuroscience* 1995; 64(4): 1045-55.
- [8] De Souza Silva MA, Mattern C, Hacker R, Nogueira PJ, Huston JP, Schwarting RK. Intranasal administration of the dopaminergic agonists L-DOPA, amphetamine, and cocaine increases dopamine activity in the neostriatum: a microdialysis study in the rat. *J Neurochem* 1997; 68(1): 233-9.
- [9] Suzuki T, Mori T, Tsuji M, Nomura M, Misawa M, Onodera K. Evaluation of the histamine H1-
- antagonist-induced place preference in rats. *Jpn J Pharmacol* 1999; 81(4): 332-8.
- [10] Goldsmith SK, Joyce JN. Dopamine D2 receptor expression in hippocampus and para-hippocampal cortex of rat, cat, and human in relation to tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers. *Hippocampus* 1994; 4(3): 354-73.
- [11] Healy DJ, Meador-Woodruff JH. Dopamine receptor gene expression in hippocampus is differentially regulated by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Eur J Pharmacol* 1996; 306(1-3): 257-64.
- [12] Paxinos G, Franklin KBJ. The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. 2nd ed. Academic Press. 2001.
- [13] Zarrindast MR, Nasehi M, Piri M, Bina P. Anxiety-like behavior induced by histaminergic agents can be prevented by cannabinoidergic WIN55, 212-2 injected into the dorsal hippocampus in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2010; 94(3): 387-96.
- [14] Frisch C, Hasenohrl RU, Krauth J, Huston JP. Anxiolytic-like behavior after lesion of the tuberomammillary nucleus E2-region. *Exp Brain Res* 1998; 119(2): 260-4.
- [15] Yuzurihara M, Ikarashi Y, Ishige A, Sasaki H, Kuribara H, Maruyama Y. Effects of drugs acting as histamine releasers or histamine receptor blockers on an experimental anxiety model in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 67(1): 145-50.
- [16] Rostami P, Hajizadeh-Moghaddam A, Zarrindast MR. The effects of histaminergic agents in the ventral hippocampus of rats in the plus-maze test of anxiety-like behaviours. *Physiol Behav* 2006; 87(5): 891-6.
- [17] Zarrindast MR, Moghadam AH, Rostami P, Roohbakhsh A. The effects of histaminergic agents in the central amygdala of rats in the elevated plus-maze test of anxiety. *Behav Pharmacol* 2005; 16(8): 643-9.
- [18] Zarrindast MR, Rostami P, Zarei M, Roohbakhsh A. Intracerebroventricular effects of histaminergic agents on morphine-induced

- anxiolysis in the elevated plus-maze in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97(5): 276-81.
- [19] Yamatodani A, Fukuda H, Wada H, Iweda T, Watanabe T. High performance liquid chromatographic determination of plasma and brain histamine without previous purification of biological samples: cation-exchange chromatography coupled with post-column derivatization fluorometry. *J Chromatogr* 1985; 344: 115-23.
- [20] Zarrindast MR, Torabi M, Rostami P, Fazli-Tabaei S. The effects of histaminergic agents in the dorsal hippocampus of rats in the elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 85(3): 500-6.
- [21] Greene RW, Haas HL. Effects of histamine on dentate granule cells in vitro. *Neuroscience* 1990; 34(2): 299-303.
- [22] Tseng KY, O'Donnell P. Dopamine-glutamate interactions controlling prefrontal cortical pyramidal cell excitability involves multiple signaling mechanisms. *J Neurosci* 2004; 24(22): 5131.
- [23] Del Arco A, Mora F. Prefrontal cortex-nucleus accumbens interaction: in vivo modulation by dopamine and glutamate in the prefrontal cortex. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 90(2): 226-35.
- [24] Goldstein LE, Rasmusson AM, Bunney BS, Roth RH. Role of the amygdala in the coordination of behavioral, neuroendocrine, and prefrontal cortical monoamine responses to psychological stress in the rat. *J Neurosci* 1996; 16(15): 4787-98.
- [25] Wittmann BC, Schott BH, Guderian S, Frey JU, Heinze HJ, Duzel E. Reward-related fMRI activation of dopaminergic midbrain is associated with enhanced hippocampus-dependent long-term memory formation. *Neuron* 2005; 45(3): 459-67.
- [26] Adriani W, Felici A, Sargolini F, Roullet P, Usiello A, Oliverio A, et al. N-methyl-D-aspartate and dopamine receptor involvement in the modulation of locomotor activity and memory processes. *Exper Brain Res* 1998; 123(1): 52-9.
- [27] Puglisi-Allegra S, Imperato A, Angelucci L, Cabib S. Acute stress induces time-dependent responses in dopamine mesolimbic system. *Brain Res* 1991; 554(1-2): 217-22.
- [28] Sealfon SC, Olanow CW. Dopamine receptors: from structure to behavior. *Trends Neurosci* 2000; 23(10 Suppl): S34-40.
- [29] Zarrindast MR, Khalilzadeh A, Malekmohammadi N, Fazli-Tabaei S. Influence of morphine- or apomorphine-induced sensitization on histamine state-dependent learning in the step-down passive avoidance test. *Behav Brain Res* 2006; 171(1): 50-5.
- [30] Zarrindast MR, Moghimi M, Rostami P, Rezayof A. Histaminergic receptors of medial septum and conditioned place preference: D1 dopamine receptor mechanism. *Brain Res* 2006; 1109(1): 108-16.
- [31] Prast H, Heistracher M, Philippu A. Modulation by dopamine receptors of the histamine release in the rat hypothalamus. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1993; 347(3): 301-5.