Original Article

The interaction between harmane and nicotinic receptors of dorsal hippocampus in a hole-board test of anxiety in mice

Piri M[1*], Nasehi M[2], Shahin M[3], Zarrindast MR[4]

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, I. R. Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar, I. R. Iran.
3- Yang Researchers Cloob, Islamic Azad University, Shahre-Rey Branch, Tehran, I. R. Iran.
4- Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

Received July 13, 2010; Accepted October 16, 2010

Abstract:

Background: β-carboline alkaloids, such as harmane, are found in common plant-derived foodstuffs and plant-derived inhalation components of tobacco. In the present study, the involvement of dorsal hippocampus nicotinic receptor in the harmane effects on anxiety behavior has been evaluated.

Materials and Methods: Mice were anesthetized with an intra-peritoneal injection of ketamine hydrochloride plus xylazine and then placed in a stereotaxic apparatus. Cannual were bilaterally implanted in the CA1 region of hippocampus. All animals were allowed to recover for 1 week before the beginning of the behavioral testing. The hole-board test was used to evaluate the anxiety-like behaviors. One-way analys was of variance so that Dunnett's test was used to analyse data. All experiments were performed in accordance with institutional guidelines for animal care and use.

Results: Intraperitoneal injection of harmane decreased the number of head dip and locomotion ($P<0.001$). While bilateral intra-dorsal hippocampal injections of nicotine decreased the number of head dip ($P<0.01$), it had no effect on locomotor activity. Furthermore, intra-dorsal hippocampal injection of mecamylamine (nicotinic receptor antagonist) in the presence and absence of harmane had no effect on anxiety behavior and locomotion ($P>0.05$).

Conclusion: harmane and nicotine not only display anxiogenic effects but also demonstrate a complex interaction. The findings also indicated that harmane induces anxiety via non-nicotinic receptors.

Keywords: Harmane, Nicotine, Hippocampus, Anxiety, Mouse

*** Corresponding Author.**
Email: biopiri@iauardabil.ac.ir
Tel: 0098 912 254 3585
Fax: 0098 451 772 8026

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Winter, 2011; Vol. 14, No 4, Pages 388-397

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]

برهم‌کنش هارمان و گیرنده های نیکوتینی هیپوکامپ پشتی در بررسی رفتار اضطرابی موش سوری

مرتضی پیری [۱*]، محمد ناصحی [۲]، مریم السادات شاهین [۳]، محمد رضا زرین دست [٤]

خلاصه:

سابقه و هدف: آلکالوئیدهای بتاـ کربولین نظیر هارمان در مواد غذایی و مواد تدخینی مشتق از گیاهان نظیر توتون یافت می‌شوند. در این مطالعه نقش گیرنده‌های نیکوتینی هیپوکامپ پشتی موش سوری در اثرات هارمان بر رفتار اضطرابی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: به منظور تزریق داخل هیپوکامپی نیکوتین، ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی موش‌های سوری مورد مطالعه با استفاده از دستگاه استریوتاکس به صورت دو طرفه کانول گذاری گردید. پس از گذشت یک هفته و متعاقب تزریق داخل صفاقی هارمان، رفتار اضطرابی حیوانات با آزمون hole-board سنجیده شد. داده‌های حاصل با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مقایسه شدند.

نتایج: در این مطالعه، تزریق درون صفاقی هارمان تعداد head dip و فعالیت حرکتی حیوان را کاهش داد (P=۰/۰۰۱). به‌علاوه، تزریق دوطرفه نیکوتین به داخل هیپوکامپ پشتی نیز از تعداد head dip کاست (P=۰/۰۱)، بدون اینکه بر روی فعالیت حرکتی اثری بگذارد. همچنین، تزریق مکاملامین (آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی) به داخل هیپوکامپ پشتی در غیاب و حضور هارمان اثری بر روی رفتار اضطرابی و فعالیت حرکتی نداشت (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان می‌دهد نه تنها هارمان و نیکوتین دارای اثر اضطراب زا می باشند، بلکه بین آنها یک برهمکنش پیچیده نیز وجود دارد. همچنین، اثرات اضطرابی هارمان از طریق گیرنده های غیر نیکوتینی القاء می‌شود.

واژگان کلیدی: هارمان، نیکوتین، هیپوکامپ، اضطراب، موش سوری

فصلنامه علمی – پژوهشی فیض، دوره چهاردهم، شماره ٤، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ۳۹۷-۳۸۸

مقدمه

تعدای از آلکالوئیدهای بتاـ کربولین، نظیر ۱ـ متیل بتاـ کربولین (هارمان) و ۱ـ متیل ۷ـ متوکسی۳ و ٤ـ دی هیدرو بتاـ کربولین (هارمالین) به‌طور طبیعی در غذای انسان مانند گندم، برنج، ذرت، جو، انگور، قارچ و سرکه وجود دارند. همچنین این آلکالوئیدها در تنباکو که منشأ گیاهی دارد، حضور دارند [۱]. مدارک موجود نشان می‌دهند که هارمان و نوروهارمان در اثر واکنش آنزیمی از آمینواسید تریپتامین و استالدئید یا پیرویک اسید در بدن تولید می‌شوند [۲] و به طور طبیعی در بخش‌هایی از بدن مانند پلاسمای خون، قلب، کلیه، کبد و بافت مغز وجود دارند [۳].

در مورد بتاـ کربولین‌ها مطالعات رفتاری چندانی صورت نگرفته است. گزارش‌های پیشین نشان می‌دهند که گیاهان محتوی برخی از بتاـ کربولین‌ها مانند هارمالا دارای اثرات توهم زا می‌باشند [٤]. به‌نظر می‌رسد بتاـ کربولین‌ها اثرات رفتاری خود را از طریق برهم-کنش با گیرنده‌ها و آنزیم‌های مختلف درگیر در تولید و حذف نورترانسمیترها اعمال می‌نمایند. گزارش شده است که بتاـ کربولین‌ها می‌توانند به گیرنده‌های بنزودیازپینی، ایمیدازولینی، دوپامینی، استیل کولینی، سروتونینی و گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA وصل شوند و عملکرد آنها را تحت تأثیر قرار دهند [۸-۵]. تغییرات کوچک در ساختار بتاـ کربولین‌ها می‌توانند تغییرات شدید در میل ترکیبی آنها در اتصال به گیرنده‌ها ایجاد نمایند؛ به-عنوان نمونه هارمان، هارمین و هارمالین تمایل زیادی به گیرنده-های کولینرژیک و گیرنده‌های اپیوئیدی دارند، درحالی‌که تترا-هیدرونوروهارمان تمایل زیادی به گیرنده‌های سروتونینی دارد و می‌تواند اثرات محرک‌های گیرنده‌های دوپامینی را بلوکه نماید [۹]. این تمایل بتاـ کربولین‌ها به طیف وسیعی از گیرنده‌ها باعث تنوع اثرات فارماکولوژیکی این ترکیبات شده است. به‌نظر می‌رسد که اثرات توهم زای این ترکیبات نتیجه اثر بتاـ کربولین‌ها روی سروتونین و گیرنده‌های سروتونینی می‌باشد [۱۰]، درحالی‌که ایجاد لرزش و اثر بر رفتار اضطرابی بیشتر به‌واسطه گیرنده‌های

[۱] مربی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

[۲] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

[۳] کارشناس زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری، عضو باشگاه پژوهشگران جوان

[٤] استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **نشانی نویسنده مسوول:**

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

تلفن: ۰۹۱۲ ۲۵۴۳۵۸۵ **دورنویس:** ۰۴۵۱ ۷۷۲۸۰۲۶

پست الکترونیک: biopiri@iauardabil.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۲۲ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۸۹/۷/۲۴

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]

بنزودیازپینی صورت می‌گیرد [۱۱،۷]. از طرف دیگر شباهت های زیادی بین بتاـ کربولین‌ها و نیکوتین وجود دارد. هر دو آلکالوئید بتاـ کربولین و نیکوتین در تنباکو و سیگار وجود دارند و غلظت بتاـ کربولین‌هایی نظیر هارمان در بدن افراد سیگاری به‌شدت افزایش می‌یابد [۱۲]. مشخص شده است که هارمان همانند نیکوتین می‌تواند نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی را فعال نماید. جالب‌تر اینکه قدرت هارمان در زمینه فعال نمودن نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی بیش از نیکوتین بوده و این دو ترکیب با هم به‌صورت سینرژیک عمل کرده و اثر تحریکی قوی‌تری بر روی نورون‌های دوپامینرژیک اعمال می‌نمایند. بدین ترتیب به‌نظر می‌رسد که هارمان در وابستگی به سیگار دارای اهمیت زیادی باشد [۱۳]. پیشنهاد شده است که هارمان و بتاـ کربولین‌های دیگر موجود در سیگار و توتون به‌واسطه مهار آنزیم مونوآمین اکسیداز، اثرات نیکوتین روی نورون‌های دوپامینی را تعدیل نموده و بدین ترتیب در ایجاد اثرات رفتاری تولید شده توسط سیگار دخیل می‌باشند [۱٤]. آلکالوئید نیکوتین اثرات فارماکولوژیکی متنوع دارد [۱۵]. بسیاری از اثرات نیکوتین به توانایی این دارو در برهم‌کنش با سیستم‌های نورترانسمیتری مختلف بستگی دارد و مشابه چنین حالتی در مورد بتاـ کربولین‌ها نیز گزارش شده است [۱٦]. در مورد اثرات هارمان و نیکوتین روی رفتار اضطرابی گزارشات متعدد و متناقضی وجود دارد؛ به گونه‌ای که برای این دو آلکالوئید اثرات ضد اضطرابی و اضطراب زایی نیز گزارش شده است [۱۷]. از طرف دیگر برخی مطالعات نشان می‌دهند که هیپوکامپ پشتی نقش مهمی در بروز رفتارهای اضطرابی دارد [۱۸]. هیپوکامپ نورون‌های کولینرژیک خود را از بخش میانی سپتوم و بازوی عمودی بخش مورب بروکا دریافت می‌کند و این نورون‌های کولینرژیک نقش مهمی در اعمال شناختی و رفتار اضطرابی بازی می‌کنند [۱۹]. علاوه بر این هیپوکامپ ارتباطات گسترده‌ای با سپتوم، لوکوس سرولئوس، هسته رافه، هیپوتالاموس، آمیگدال و بخش میانی قشر پیشانی دارد و بیان شده است که تمامی نواحی فوق در بروز رفتار اضطرابی دخیل می‌باشند [۲۰]. با در نظر داشتن برهم‌کنش بین بتاـ کربولین‌ها و نیکوتین و توجه به این نکته که هارمان در جیره غذایی ما وجود دارد و مقدار آن همانند نیکوتین در بدن افراد سیگاری به شدت افزایش می‌یابد و نیز توجه به این موضوع که هر دو آلکالوئید طیف وسیعی از رفتارها را با برهم‌کنش با سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهند، در این مطالعه برهم‌کنش بین هارمان و گیرنده‌های نیکوتینی هیپوکامپ در زمینه رفتار اضطرابی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی که در پژوهشکده علوم شناختی (تهرانـایران) انجام شد، از ۲۱۸ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی۳۰–۲۲ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوانخانه تحقیقاتی پژوهشکده علوم شناختی منتقل شده و در گروه‌های ده تایی قرار داده شدند. در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت. دمای حیوانخانه بین۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحی به‌مدت یک هفته به موش ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند.

دستگاه Hole board:

تستHole-board در ابتدا برای بررسی رفتار حیوان در محیط‌های جدید و نا آشنا به کار می‌رفت [۲۱]، ولی امروزه برای بررسی اضطراب و پاسخ حیوان به استرس نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۲]. با توجه به اینکه این تست، امکان مشاهده واندازه‌گیری رفتارهای مختلف حیوان را به‌صورت همزمان می‌دهد، می‌توان توصیف جامعی از رفتار داشت. دستگاه Hole-board (شرکت برج صنعت، تهران، ایران) بر اساس روشی که قبلا نیز مورد استفاده قرار گرفته است [۲۳]، از یک صفحه پلاستیکی مایل به سفید از جنس پرسپکس به ابعاد (۳× ٤۰ ×٤۰ سانتی‌متر) ساخته شده است. این صفحه به شکل یک مکعب مربع می‌باشد که طول و عرض آن ٤۰ سانتی‌متر و ارتفاع آن ۳ سانتی‌متر می‌باشد. صفحه پایین به کار رفته در این مکعب بدون سوراخ می‌باشد، اما در روی صفحه بالایی ۱٦ سوراخ به قطر ۲ سانتی‌متر تعبیه شده که این سوراخ‌ها تا صفحه پایینی (۳ سانتی‌متر) امتداد دارند. توسط چشم‌های نوری تعبیه شده در این دستگاه تعداد head dip (دفعاتی که حیوان سرش را در مدت ۵ دقیقه وارد سوراخ‌ها می‌کند و در می‌آورد) شمارش می‌شود. با توجه به رفتار جستجوگرانه، موش‌ها تمایل دارند تا به کاوش در این محیط جدید پرداخته و سر خود را در سوراخ‌های صفحه دستگاه کرده و در آورند. در حیوان‌های مضطرب رفتار جستجوگرانه کاهش می‌یابد. از این ویژگی کاهش رفتار جستجوگرانه در موش‌های مضطرب برای پی‌بردن به اثرات اضطرابی و ضد اضطرابی داروها می‌توان استفاده نمود؛ به‌گونه‌ای که داروهای اضطراب زا تعداد دفعاتی که حیوان سر خود را در این سوراخ‌ها کرده و در می‌آورد (تعداد head dip) را کاهش می‌دهند و داروهای ضد اضطراب تعداد head dip را افزایش می‌هند. هم‌زمان با تست رفتار اضطرابی فعالیت حرکتی حیوان نیز به کمک علامت + که در روی صفحه این دستگاه رسم شده و صفحه را به چهار قسمت برابر تقسیم می‌کند، سنجیده می‌شود. این

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]

علامت به‌علاوه با رسم خطوط مستقیمی که وسط اضلاع مقابل صفحه مربعی شکل Hole board را به هم وصل می‌کند، ایجاد می‌گردد. تعداد دفعاتی که حیوان از روی این خطوط عبور می‌کند نمادی از فعالیت حرکتی حیوان می باشد.

داروها

در این تحقیق داروهای هارمان، نیکوتین و مکامیلامین (آنتاگونیست گیرنده‌های نیکوتینی) مورد استفاده قرار گرفت که همگی این داروها محصول شرکت سیگما (آمریکا) می‌باشند. هارمان، نیکوتین و مکامیلامین در نرمال سالین ۰/۹ درصد استریل حل شدند. pH نیکوتین بعد از حل شدن در نرمال سالین با اضافه نمودن سود ۰/۱ درصد به pH طبیعی محیط داخلی (۷/٤) رسید. تزریق داروی هارمان ۱۵ دقیقه قبل از انجام تست اضطراب و به‌صورت درون صفاقی و به حجم ۱۰ میلی لیتر بر کیلو گرم انجام شد و تزریق نیکوتین و مکامیلامین ۵ دقیقه قبل از تست اضطراب از طریق کانول‌های قرار داده شده در سر حیوان به حجم یک میکرولیتر به ناحیه هیپوکامپ پشتی هر موش انجام شد. در حیواناتی که هارمان را همراه با نیکوتین یا مکامیلامین دریافت می‌کردند، تزریق هارمان ۱۵ دقیقه قبل از تست اضطراب انجام می‌شد، ده دقیقه بعد تزریق نیکوتین یا مکامیلامین صورت می‌گرفت و در نهایت ۵ دقیقه بعد از تزریق نیکوتین یا مکامیلامین تست اضطراب به‌عمل می‌آمد. انتخاب دوز داروهای به کار رفته در این تحقیق بر اساس مطالعات قبلی و مطالعات ابتدائی صورت گرفت [۲٤].

جراحی و کانول گذاری در ناحیه هیپوکامپ پشتی

موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ mg/kg) به‌علاوه زایلزین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش شدند، سپس حیوانات در دستگاه استریوتاکس قرار داده شدند. کانول‌های راهنما (G ۲۳) به‌صورت دو طرفه یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق (ناحیه هیپوکامپ پشتی)، با مختصات ۲- =AP، ML=+۱/٦، V=-۱/۵ [۲۵] قرار داده شدند. در مجموع در سر هر حیوان دو کانول قرار داده شد، یکی از این کانول‌ها در هیپوکامپ پشتی سمت راست مغز و دیگری در هیپوکامپ پشتی سمت چپ مغز قرار داشت. 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 می شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده و 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 میلی متر طول داشت در داخل کانول راهنما G ۲۳ قرار داده شده و در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-٦۰ ثانیه تزریق می‌شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

تیمارهای دارویی و آزمایش‌های انجام شده

آزمایش اول: اثرهارمان بر رفتار اضطرابی

در این آزمایش چهار گروه حیوان به‌کار رفت. گروه اول نرمال سالین (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم) و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف هارمان (۵ ، ۱۰، ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را پانزده دقیقه قبل از تست اضطراب به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند.

آزمایش دوم: اثر تزریق نیکوتین در هیپوکامپ پشتی بر رفتار اضطرابی

در این آزمایش چهار گروه حیوان به‌کار رفت. گروه اول سالین (۰/۵ میکرولیتر در هر طرف) و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف نیکوتین (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم بر موش) را به‌صورت تزریق داخل هیپوکامپ پشتی دو طرف دریافت کردند.

آزمایش سوم: اثر تزریق نیکوتین در ناحیه هیپوکامپ پشتی بر پاسخ اضطرابی القاء شده با هارمان

در این آزمایش چهار گروه حیوان به‌کار رفت. پانزده دقیقه قبل از تست تمامی گروه‌ها هارمان (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به‌صورت درون صفاقی دریافت داشتند. ده دقیقه بعد از تزریق اول یعنی پنج دقیقه مانده به زمان تست، گروه اول سالین (۰/۵ میکرولیتر در هر طرف) و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف نیکوتین (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم بر موش) را به‌صورت تزریق داخل هیپوکامپ پشتی دو طرف دریافت کردند.

آزمایش چهارم: اثر مکامیلامین در حضور و عدم حضور هارمان بر رفتار اضطرابی

در این آزمایش هشت گروه حیوان به‌کار رفت. چهار گروه اول پانزده دقیقه قبل از تست، سالین (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم) و چهار گروه بعدی هارمان (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند، علت اینکه از بین سه دوز هارمان دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم در این مرحله از آزمایش انتخاب شد این بود که بقیه دوزهای هارمان فعالیت حرکتی حیوان را تحت تاثیر قرار می‌دادند، اما دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم هارمان فقط بر روی پاسخ اضطرابی اثر داشت و فعالیت حرکتی را تغییر نمی‌داد. ده دقیقه بعد از تزریق اول (سالین یا هارمان) یعنی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]

پنج دقیقه مانده به زمان تست، چهار گروه آزمایش به‌ترتیب سالین یا مقادیر مختلف مکامیلامین (۲، ۱، ۰/۵ میکروگرم بر موش) را به‌صورت تزریق داخل هیپوکامپ پشتی دو طرف دریافت کردند.

بافت شناسی

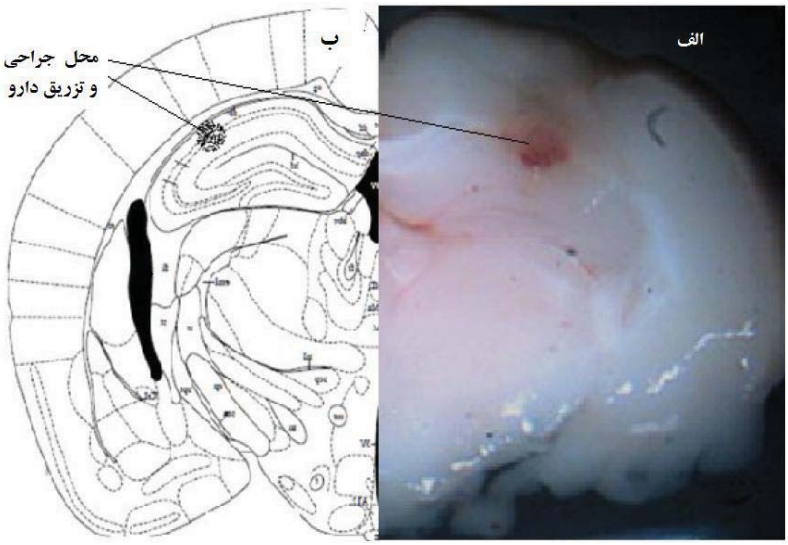
پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ٤ درصد (µl ۱) به داخل هر دو کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شده، محل ورود کانول به مغز به‌وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه 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 هر حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. لازم به ذکر است که از مجموع ۲۱۸ موش به کار رفته در این مطالعه، داده‌های مربوط به ۱۸ سر موش به دلیل نادرست بودن محل قرارگیری کانول، بسته شدن کانول‌ها و یا افتادن کانول‌ها حذف گردید و داده‌های مربوط به ۲۰۰ موش دیگر آنالیز آماری گردید، که این ۲۰۰ سر موش در ۲۰ گروه ده تایی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

تعداد head-dip و فعالیت حرکتی هر گروه به صورت میانگین و انحراف استاندارد میانگین ثبت گردید. به‌منظور تعیین وجود اختلاف بین گروه‌های آزمایش، از روش تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی دونت استفاده گردید. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Sigma Plot استفاده شد.

نتایج

شکل شماره ۱ مقطع بافتی مربوط به ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی که نشان دهنده محل قرارگیری صحیح کانول در مقایسه با شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس می‌باشد را نمایش می‌دهد. لازم به ذکر است که تنها داده‌های مربوط به حیواناتی که محل جراحی آنها در مقایسه با اطلس پاکسینوس صحیح بود، در آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت.

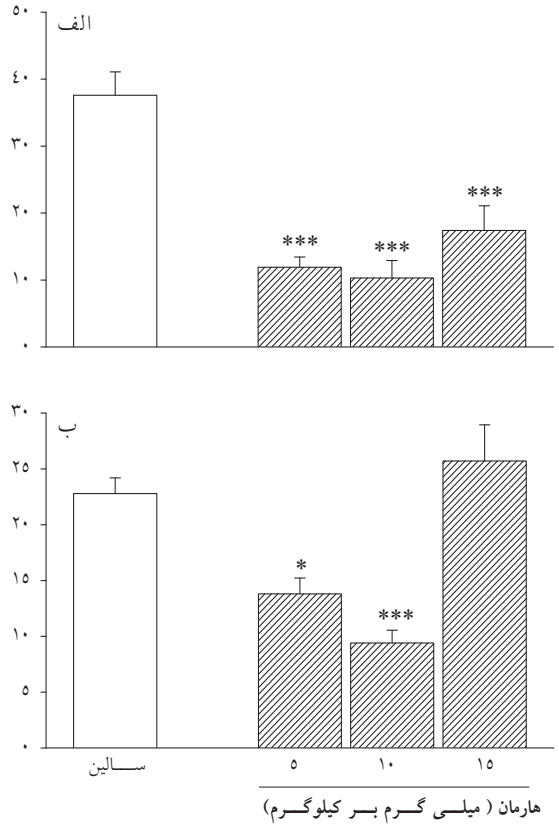


شکل شماره ۱- عکس مقطع بافتی مربوط به کانول گذاری در ناحیه CA1 (الف) و شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس که ناحیه CA1 در آن مشخص شده است (ب)

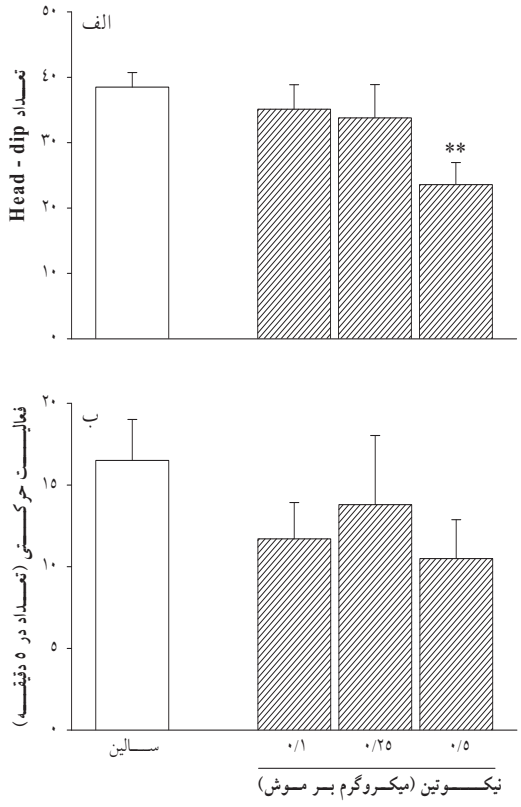
آزمایش اول: اثر هارمان بر روی پاسخ اضطرابی

تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تزریق درون صفاقی هارمان تعداد head-dip ($F_{۳و۳۶}$ =۱٤/۵۲ ،P<۰/۰۰۱) و فعالیت حرکتی حیوان ($F_{۳و۳۶}$ =۸/٤۹ ،P<۰/۰۰۱) را کاهش می‌دهد، آزمون مکمل دونت نیز نشان داد که دوزهای (۱۵، ۱۰، ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت معنی‌دار تعداد head-dip را کاهش داده و نیز دوزهای (۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت معنی‌دار فعالیت حرکتی را در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌دهد. در ضمن میانگین سایر گروه‌ها در دوزهای ذکر شده تفاوت معنی‌داری با همدیگر ندارند. این نتایج نشان دهنده این می باشد که هارمان اضطراب زا می‌باشد (نمودار شماره ۱).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]



نمودار شماره ۱- اثر تزریق درون صفاقی هارمان بر روی رفتار اضطرابی و فعالیت حرکتی حیوان. ۰/۰۰۱ >P*** ، ۰/۰۵ >P* در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.



نمودار شماره ۲- اثر نیکوتین در هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی و فعالیت حرکتی حیوان. ۰/۰۱ >P** در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.

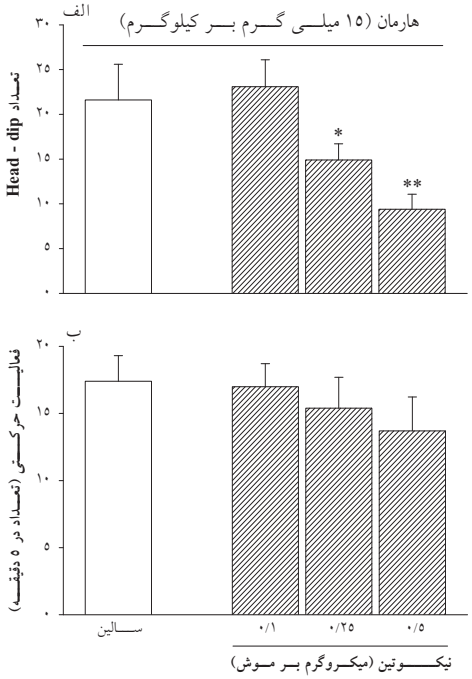
آزمایش دوم: اثر تزریق نیکوتین در ناحیه هیپوکامپ پشتی روی پاسخ اضطرابی

آزمون واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق نیکوتین به داخل هیپوکامپ پشتی تعداد head-dip ($F_{۳و۳۶}$=۱۱/۲۵ ،P<۰/۰۰۱) را کاهش می‌دهد، اما در مقایسه با گروه سالین اثری بر روی فعالیت حرکتی (P>۰/۰۵، $F_{۳و۳۶}$=۰/۸٤) حیوان ندارد. آزمون مکمل دونت نیز مشخص نمود که این کاهش تعداد head-dip در دوز بالای نیکوتین در مقایسه با گروه سالین از لحاظ آماری معنادار می‌باشد (P=۰/۰۱) ولی میانگین سایر گروه‌ها در دوزهای ذکر شده تفاوت معنادار نداشتند. به بیان دیگر هیچ‌کدام از دوزهای به‌کار رفته نیکوتین در این تحقیق قادر به تغییر معنی‌دار فعالیت حرکتی حیوانات نمی‌باشند. این نتایج بیان‌گر اضطراب زا بودن دوز بالای نیکوتین در ناحیه هیپوکامپ پشتی می‌باشد (نمودار شماره ۲).

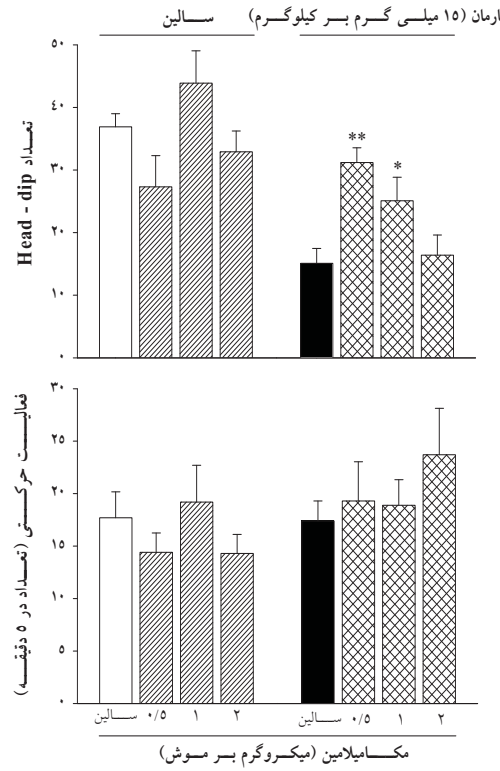
آزمایش سوم: اثر تزریق نیکوتین در ناحیه هیپوکامپ پشتی روی پاسخ اضطرابی القاء شده با هارمان

تزریق نیکوتین به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی در حضور هارمان (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثر اضطراب زای هارمان را تقویت می‌نماید و تعداد head-dip را بیش از تزریق هارمان به‌تنهائی کاهش می‌دهد (P<۰/۰۰۱، $F_{۳و۳۶}$=٦/۳۷)، بدون اینکه روی فعالیت حرکتی حیوانات (P<۰/۰۵، $F_{۳و۳۶}$=۰/٦۱) اثر معنی-داری داشته باشد. نتایج آزمون مکمل دونت نشان داد که دوزهای (۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم بر موش) نیکوتین پاسخ اضطرابی القاء شده با هارمان را تقویت می‌نمایند. هم‌چنین نتایج این آزمون آماری مشخص نمود که دوزهای مختلف نیکوتین (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم بر موش) در حضور هارمان (۱۵ میلی‌گرم بر کلیوگرم) در مقایسه با گروهی که سالین را در حضور هارمان دریافت کرده قادر به تغییر فعالیت حرکتی حیوان نمی‌باشند (نمودار شماره ۳).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]



نمودار شماره ۳- اثر تزریق نیکوتین به هیپوکامپ پشتی در حضور هارمان روی رفتار اضطرابی و فعالیت حرکتی حیوان. $P<0/01$**، $P<0/05$* در مقایسه با گروه کنترل می باشد که ۱۵ دقیقه قبل از تست هارمان را به‌صورت درون صفاقی و ۵ دقیقه قبل از تست سالین را به‌صورت درون مغزی دریافت کرده است.



نمودار شماره ٤- اثر تزریق مکامیلامین به هیپوکامپ پشتی در حضور و غیاب هارمان روی رفتار اضطرابی و فعالیت حرکتی حیوان.

آزمایش چهارم: اثر مکامیلامین در حضور و عدم حضور نیکوتین بر رفتار اضطرابی

تزریق مکامیلامین به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی به‌تنهایی ($F_{3,36}=0/93$، $P>0/05$) و در حضور دوز مؤثر هارمان ($F_{3,36}=0/67$، $P>0/05$) اثری روی پاسخ اضطرابی ندارد. هم‌چنین مکامیلامین در غیاب ($F_{3,36}=0/84$، $P>0/05$) و حضور هارمان ($F_{3,36}=1/06$، $P>0/05$) فعالیت حرکتی را تغییر نداد. آزمون مکمل دونت نشان داد که هیچ‌کدام از دوزهای مکامیلامین در حضور یا عدم حضور هارمان قادر به تغییر دادن رفتار اضطرابی و فعالیت حرکتی حیوان نمی‌باشند (نمودار شماره ٤).

بحث

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق هارمان به‌صورت درون صفاقی پانزده دقیقه قبل از تست اضطراب باعث القاء اضطراب می‌شود. اثر اضطراب‌زای هارمان در برخی از دوزها همراه با کاهش فعالیت حرکتی می‌باشد. کاهش فعالیت حرکتی مشاهده شده در این مطالعه هم‌سو با گزارشاتی می‌باشند که نشان می‌دهند بتاـ کربولین‌ها می‌توانند باعث ایجاد لرزشی شبیه به بیماری پارکینسون شوند [۱۲]. در بیماری پارکینسون و بقیه اختلالات حرکتی که همراه با لرزش می‌باشند علاوه بر لرزش، انجام حرکات با دشواری انجام می‌گیرد که همین می‌تواند توجیه کننده کاهش فعالیت حرکتی جاندار باشد [۲٦]. در مورد اثرات اضطراب‌زای مشاهده شده در این مطالعه باید گفت که اکثر مطالعات قبلی گزارش نموده‌اند که هارمان به‌عنوان یک ترکیب ضد اضطراب و ضد افسردگی درون‌زاد عمل می‌نماید [۱۱]. این مطالعات بیان می‌دارند که هارمان به واسطه مهار آنزیم مونو آمین اکسیداز و به تبع آن کاهش pH درون سلولی در نورون‌ها اثرات ضد اضطرابی خود را اعمال می‌نماید [۲۷]. مشخص شده است که اسیدی شدن مختصر محیط داخل سلولی فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ را کاهش می‌دهد و باعث کاهش پاسخ اضطرابی می‌شود [۲۸،۲۷]. با وجود این گزارشات به‌نظر می‌رسد که پاسخ اضطرابی القاء شده توسط هارمان وابسته به دوز دارو باشد. بتاـ کربولین‌ها میل ترکیبی زیادی به جایگاه‌های بنزودیازپینی در روی گیرنده‌های $GABA_A$ دارند و به عنوان آگونیست معکوس عمل می‌نمایند [۲۹]. عمل نمودن هارمان به عنوان آگونیست معکوس می‌تواند منجر به ایجاد پاسخ‌های متفاوت در مقادیر مختلف دارو شود [۲۹]؛ به‌همین دلیل، بسته به دوز مورد استفاده این ترکیبات می‌توانند دارای اثرات اضطراب‌زا یا ضد اضطرابی باشند. این آلکالوئیدها هم‌چنین به گیرنده بقیه نورترانسمیترها در مغز از جمله

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]

سروتونین، استیل کولین و دوپامین نیز متصل می‌شوند [۳۰]. آلکالوئیدهای بتاـ کربولین از طریق مهار سیستم برداشت مونوآمین‌ها از فضای سیناپسی، سطح نوراپی نفرین، دوپامین و سروتونین را در فضای خارج سلولی افزایش می‌دهند [۳۱]. این ترکیبات هم‌چنین به‌واسطه مهار مونوآمین اکسیداز A و B نیز سطح مونوآمین‌ها را افزایش می‌دهند [۲۹،۱۱]. با توجه به اهمیت سیستم های فوق در پاسخ اضطرابی می‌توان بیان داشت که هارمان می‌تواند نقش مهمی در پاسخ اضطرابی داشته باشد. از طرف دیگر، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق نیکوتین به ناحیه هیپوکامپ پشتی باعث القاء اضطراب می‌شود. به‌خوبی مشخص شده است که سیستم نیکوتینی استیل کولین نقش مهمی در تعدیل فعالیت نورونی دارد و می‌تواند رفتار اضطرابی را تحت تأثیر قرار دهد [۱۷]. مطالعات پیشین نشان می‌دهند که نیکوتین و سایر آگونیست‌های گیرنده‌های نیکوتینی مانند لوبلین (Lobeline) باعث القاء اضطراب در تست ماز صلیبی شکل مرتفع می‌شوند [۳۲]. در مطالعات مختلف اثرات اضطراب زا، اضطراب‌زدا یا بی‌اثر بودن روی رفتار اضطرابی برای نیکوتین گزارش شده است. این تفاوت در پاسخ به نیکوتین می‌تواند نتیجه تفاوت در گونه، نژاد، دوز و نحوه استفاده از نیکوتین باشد [۱۷]. بعضی از مطالعات نشان می‌دهند نیکوتین در دوزهای پایین (۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دارای اثرات اضطراب‌زدا است، درحالی‌که دوزهای بالای آن (۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دارای اثرات اضطراب زا می‌باشند [۳۳]. به‌علاوه یافته‌ها نشان می‌دهند که نیکوتین ممکن است نقش تعدیل کننده روی عملکرد مغز داشته باشد [۳٤]. آگونیست‌های گیرنده‌های نیکوتینی می‌توانند با اثر بر گیرنده‌های نیکوتینی که در پایانه‌ی آکسونی نورون‌ها قرار دارند، ورود کلسیم به پایانه آکسونی را افزایش داده و از این طریق رهایش نوروترانسمیترهای مختلف از جمله دوپامین، نوراپی نفرین، گلوتامات، گابا و استیل کولین را افزایش دهند [۳۵]. هم‌چنین نشان داده شده است که سیستم کولینرژیک هیپوکامپ در تعدیل رفتارهای شبه اضطرابی دخیل می‌باشد. مدارکی وجود دارند که نشان می‌دهند فعال شدن سیستم کولینرژیک باعث القاء اثرات ضد اضطرابی می‌شود [۳٦]. بنابراین رهایش استیل کولین در پاسخ به نیکوتین نمی‌تواند عامل ایجاد اضطراب باشد [۳۷]. هم‌چنین برخی مطالعات نشان می‌دهند که فعال شدن گیرنده‌های نیکوتینی باعث تعدیل بسیاری از سیستم‌هایی می‌شود که در پاسخ به استرس نقش دارند؛ از جمله این سیستم‌ها می‌توان به هورمون‌های استرس، مونوآمین‌ها و رهایش نوروترانسمیترهای کلاسیک در سرتاسر مغز اشاره نمود [۳۹،۳۸]. هم‌چنین نتایج این مطالعه مشخص نمود که نیکوتین پاسخ اضطرابی القاء شده با هارمان را تقویت می‌نماید. نیکوتین و هارمان هر دو در سیگار و توتون وجود دارند و غلظت هر دو در بدن افراد سیگاری بالا می‌رود. گزارشاتی وجود دارند که بیان می‌کنند هارمان به‌واسطه مهار آنزیم مونوآمین اکسیداز می‌تواند برخی از اثرات نیکوتین را تقویت نماید. مشخص شده است که هارمان همانند نیکوتین باعث فعال شدن مسیر مزولیمبیک می‌شود و همین امر باعث می‌گردد هارمان وابستگی و اعتیاد به سیگار را افزایش دهد [٤۰،۱٤]. از طرف دیگر مطالعات ما نشان می‌دهد که تزریق مکامیلامین به ناحیه هیپوکامپ پشتی در دوزهای به‌کار رفته در این تحقیق در حضور و عدم حضور هارمان اثری بر پاسخ اضطرابی ندارد. عدم تأثیر پذیری پاسخ اضطرابی هارمان توسط مکامیلامین گویای این واقعیت مهم می‌باشد که هارمان اثر اضطراب‌زای خود را از طریق گیرنده‌های نیکوتینی هیپوکامپ پشتی اعمال نمی‌نماید. با کنار هم گذاشتن دو مشاهده فوق، یعنی تقویت پاسخ اضطرابی هارمان توسط نیکوتین و عدم مهار پاسخ اضطرابی هارمان توسط آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی می‌توان بیان داشت که هارمان و نیکوتین با مکانیسم‌های مختلف و موازی باعث القاء اضطراب می‌شوند و تقویت پاسخ هارمان توسط نیکوتین نشان دهنده عملکرد هارمان از طریق گیرنده های نیکوتینی نمی‌باشد. گزارش شده است که هارمان از طریق مهار سیستم برداشت مونوآمین‌ها از فضای سیناپسی، سطح نوراپی نفرین، دوپامین و سروتونین را در فضای خارج سلولی افزایش می‌دهد [۳۱]. نیکوتین نیز با اثر بر گیرنده‌های پیش سیناپسی نیکوتینی رهایش نوروترانسمیترهایی نظیر دوپامین، نوراپی نفرین، گلوتامات و استیل کولین را افزایش می‌دهد [۳۵]. این مشاهدات تأیید کننده نتایج به‌دست آمده در این مطالعه می‌باشند؛ چرا که مشاهده می‌شود نیکوتین و هارمان می‌توانند پاسخ‌های نسبتا یکسانی را با مکانیسم های مختلف ایجاد کنند.

نتیجه گیری

در مجموع می‌توان گفت تزریق سیستمیک هارمان و تزریق درون مغزی نیکوتین به هیپوکامپ پشتی اضطراب‌زا می‌باشند. به‌علاوه با وجود اینکه نیکوتین اثر اضطراب زایی هارمان را تقویت می‌کند، آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی قادر به مهار پاسخ اضطرابی هارمان نمی‌باشد. این یافته بیان کننده این موضوع مهم می‌باشد که هارمان اثرات اضطراب زای خود را از طریق گیرنده‌های نیکوتینی هیپوکامپ پشتی اعمال نمی‌نماید و تقویت پاسخ هارمان با نیکوتین توسط مسیرهای موازی صورت گرفته است؛ به‌عبارت دیگر اثر افزایشی مشاهده شده نتیجه این می‌باشد که این

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]

دو آلکالوئید از طریق مسیرهای متفاوت باعث القای پاسخ اضطرابی می‌شوند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات پرسنل محترم پژوهشکده علوم شناختی (تهران – ایران) که ما را انجام این پژوهش یاری نمودند، تقدیر و تشکر می شود.

References:

[1] Adachi J, Mizoi Y, Naito T, Yamamoto K, Fujiwara S, Ninomiya I. Determination of beta-carbolines in foodstuffs by high-performance liquid chromatography and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. ***J Chromatogr*** 1991; 538(2): 331-9.

[2] Rommelspacher H, May T, Susilo R. Beta-carbolines and tetrahydroisoquinolines: detection and function in mammals. ***Planta medica*** 1991; 57(7): S85-92.

[3] Hudson AL, Gough R, Tyacke R, Lione L, Lalies M, Lewis J, et al. Novel selective compounds for the investigation of imidazoline receptors. Annals of the New York Academy of Sciences 1999; 881: 81-91.

[4] Freedland CS, Mansbach RS. Behavioral profile of constituents in ayahuasca, an Amazonian psychoactive plant mixture. ***Drug Alcohol Depend*** 1999; 54(3): 183-94.

[5] Taylor DL, Silverman PB, Ho BT. Effects of 6-methoxytetrahydro-beta-carboline on 5-hydroxy-tryptamine binding in rat brain. ***The Journal of pharmacy and pharmacology*** 1984; 36(2): 125-7.

[6] Pahkla R, Rago L, Callaway JJ, Airaksinen MM. Binding of pinoline on the 5-hydroxy-tryptamine transporter: competitive interaction with [3H] citalopram. Pharmacology & toxicology 1997; 80(3): 122-6.

[7] Glennon RA, Dukat M, Grella B, Hong S, Costantino L, Teitler M, et al. Binding of beta-carbolines and related agents at serotonin (5-HT(2) and 5-HT(1A)), dopamine (D(2)) and benzodiazepine receptors. ***Drug Alcohol Depend*** 2000; 60(2): 121-32.

[8] Squires PE, Hills CE, Rogers GJ, Garland P, Farley SR, Morgan NG. The putative imidazoline receptor agonist, harmane, promotes intracellular calcium mobilisation in pancreatic beta-cells. ***Eur J Pharmacol*** 2004; 501(1-3): 31-9.

[9] Davis PA, Baird-Lambert J, Taylor KM, Maclaren JA. Serotonergic activity of a novel tetrahydro beta carboline. ***Biochem Pharmacol*** 1979; 28(11): 1803-6.

[10] Lutes J, Lorden JF, Beales M, Oltmans GA. Tolerance to the tremorogenic effects of harmaline: evidence for altered olivo-cerebellar function. ***Neuropharmacology*** 1988; 27(8):849-55.

[11] Rommelspacher H, May T, Salewski B. Harman (1-methyl-beta-carboline) is a natural inhibitor of monoamine oxidase type A in rats. ***Eur J Pharmacol*** 1994; 252(1): 51-9.

[12] Spijkerman R, van den Eijnden R, van de Mheen D, Bongers I, Fekkes D. The impact of smoking and drinking on plasma levels of norharman. ***Eur Neuropsychopharmacol*** 2002; 12(1): 61-71.

[13] Arib O, Rat P, Molimard R, Chait A, Faure P, de Beaurepaire R. Electrophysiological characterization of harmane-induced activation of mesolimbic dopamine neurons. ***Eur J Pharmacol*** 2010; 629(1-3): 47-52.

[14] Schilstrom B, Rawal N, Mameli-Engvall M, Nomikos GG, Svensson TH. Dual effects of nicotine on dopamine neurons mediated by different nicotinic receptor subtypes. ***Int J Neuropsychopharmacol*** 2003; 6(1): 1-11.

[15] Le Foll B, Goldberg SR. Effects of nicotine in experimental animals and humans: an update on addictive properties. ***Handb Exp Pharmacol*** 2009 (192): 335-67.

[16] Balfour DJ. The effects of nicotine on brain neurotransmitter systems. ***Pharmacol Ther*** 1982; 16(2): 269-82.

[17] Chae Y, Yeom M, Han JH, Park HJ, Hahm DH, Shim I, et al. Effect of acupuncture on anxiety-like behavior during nicotine withdrawal and relevant mechanisms. ***Neurosci Lett*** 2008; 430(2): 98-102.

[18] LeDoux JE. Emotion circuits in the brain. ***Annu Rev Neurosci*** 2000; 23: 155-84.

[19] Gaykema RP, Luiten PG, Nyakas C, Traber J. Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. ***J Comp Neurol*** 1990; 293(1): 103-24.

[20] Amaral DG. The primate amygdala and the neurobiology of social behavior: implications for understanding social anxiety. ***Biol Psychiatry*** 2002; 51(1): 11-7.

[21] Boissier JR, Simon P. The exploration reaction in the mouse. Preliminary note. ***Therapie*** 1962; 17: 1225-32.

[22] Rodriguez Echandia EL, Broitman ST, Foscolo MR. Effect of the chronic ingestion of chlorimipramine and desipramine on the hole board response to acute stresses in male rats. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1987; 26(2): 207-10.

[23] Vinade ER, Schmidt AP, Frizzo ME, Izquierdo I, Elisabetsky E, Souza DO. Chronically admin-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]

istered guanosine is anticonvulsant, amnesic and anxiolytic in mice. ***Brain Res*** 2003; 977:97–102.
[24] Nasehi M, Piri M, Nouri M, Farzin D, Nayer-Nouri T, Zarrindast MR. Involvement of dopamine D1/D2 receptors on harmane-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. ***Eur J Pharmacol*** 2010; 634(1-3): 77-83.
[25] Paxinos G, Franklin, K.B.J. The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. 2nd ed. Academic Press; 2001.
[26] Mehta H, Saravanan KS, Mohanakumar KP. Serotonin synthesis inhibition in olivo-cerebellar system attenuates harmaline-induced tremor in Swiss albino mice. ***Behav Brain Res*** 2003; 145(1-2): 31-6.
[27] Bonnet U, Bingmann D, Wiemann M. Intracellular pH modulates spontaneous and epileptiform bioelectric activity of hippocampal CA3-neurones. ***Eur Neuropsychopharmacol*** 2000; 10(2): 97-103.
[28] Bonnet U, Leniger T, Wiemann M. Moclobemide reduces intracellular pH and neuronal activity of CA3 neurones in guinea-pig hippo-campal slices implication for its neuroprotective properties. ***Neuropharmacology*** 2000; 39(11): 2067-74.
[29] Adell A, Biggs TA, Myers RD. Action of harman (1-methyl-beta-carboline) on the brain: body temperature and in vivo efflux of 5-HT from hippocampus of the rat. ***Neuropharmacology*** 1996; 35(8): 1101-7.
[30] Pawlik M, Rommelspacher H. Demonstration of a distinct class of high-affinity binding sites for [3H] norharman [(3H] beta-carboline) in the rat brain. ***Eur J Pharmacol*** 1988; 147(2): 163-71.
[31] Tella SR. Effects of monoamine reuptake inhibitors on cocaine self-administration in rats. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1995; 51(4): 687-92.
[32] Brioni JD, O'Neill AB, Kim DJ, Decker MW. Nicotinic receptor agonists exhibit anxiolytic-like effects on the elevated plus-maze test. ***Eur J Pharmacol*** 1993; 238(1): 1-8.
[33] Ouagazzal AM, Kenny PJ, File SE. Stimulation of nicotinic receptors in the lateral septal nucleus increases anxiety. ***Eur J Neurosci*** 1999; 11(11): 3957-62.
[34] Role LW, Berg DK. Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. ***Neuron*** 1996; 16(6): 1077-85.
[35] O'Neill AB, Brioni JD. Benzodiazepine receptor mediation of the anxiolytic-like effect of (-)-nicotine in mice. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1994; 49(3): 755-7.
[36] File SE, Gonzalez LE, Andrews N. Endogenous acetylcholine in the dorsal hippo-campus reduces anxiety through actions on nico-tinic and muscarinic1 receptors. ***Behav Neurosci*** 1998; 112(2): 352-9.
[37] Poorthuis RB, Goriounova NA, Couey JJ, Mansvelder HD. Nicotinic actions on neuronal networks for cognition: general principles and long-term consequences. ***Biochem Pharmacol*** 2009; 78(7): 668-76.
[38] Rodgers RJ, Nikulina EM, Cole JC. Dopamine D1 and D2 receptor ligands modulate the behaviour of mice in the elevated plus-maze. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1994; 49(4): 985-95.
[39] Tizabi Y, Copeland RL, Jr, Louis VA, Taylor RE. Effects of combined systemic alcohol and central nicotine administration into ventral tegmental area on dopamine release in the nucleus accumbens. ***Alcohol Clin Exp Res*** 2002; 26(3): 394-9.
[40] Erhardt S, Schwieler L, Engberg G. Excitatory and inhibitory responses of dopamine neurons in the ventral tegmental area to nicotine. ***Synapse*** 2002; 43(4): 227-37.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-26]