Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره چهارم ـ شماره چهارم ـ زمستان ۸۹
صفحات ۲۷ الی ۳۶

مقاله پژوهشی
(Original Article)

برهمکنش سیستم کانابینوئیدی با گیرنده‌های هیستامینی H2 در ناحیه CA1 در زمینه رفتار اضطرابی در تست Hole-Board

محمد ناصحی[1]، مرتضی پیری[2]، مریم‌السادات شاهین[3]، محمدرضا زرین‌دست[4]

[1]استادیار زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران.
[2]مربی زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران.
[3]کارشناس زیست‌شناسی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری، تهران، ایران.
[4]استاد فارماکولوژی، مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: کانابینوئیدها طیف وسیعی از رفتارها را در گونه‌های مختلف ایجاد می‌کنند و با سیستم‌های نروترانسمیتر مختلف در مغز برهمکنش نشان می‌دهند. در این مطالعه، اثرات سیستم هیستامینرژیک، کانابینوئیدی و برهمکنش آنها در زمینه رفتار اضطرابی در موش سوری بررسی شد.

روش بررسی: در این مطالعه ابتدا موش‌های سوری با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید همراه با زایلزین بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند. سپس ۲ کانول mm ۱ بالاتر از ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی قرار داده شد. در ادامه ۱۷ گروه حیوان برای سنجش رفتار اضطرابی با دستگاه Hole-Board تست شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از واریانس یک‌طرفه و تست دانت صورت گرفت.

یافته‌ها: تزریق WIN55,212-2 (۰/۵ µg/mice، ۰/۱) درون هیپوکامپ پشتی تأثیری بر روی رفتار اضطرابی موش‌ها نداشت، اما تزریق AM251 (۲۵، ۵۰ ng/mice)، هیستامین یا رانیتیدین (۵ µg/mice) منجر به اضطراب‌زایی شد. همچنین به کار بردن همزمان WIN55,212-2 با هیستامین یا رانیتیدین منجر به کاهش پاسخ اضطرابی هیستامین گردید؛ ولی بر روی پاسخ رانیتیدین اثری نداشت. استفاده همزمان دوز غیرمؤثر AM251 با داروهای هیستامینی بر روی پاسخ القا شده توسط این داروها مؤثر نبود. در هیچ‌کدام از آزمایشات، فعالیت حرکتی حیوانات مورد آزمایش به‌صورت معنی‌دار تغییر نکرد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد در زمینه رفتارهای اضطرابی، بین سیستم کانابینوئیدی و گیرنده‌های هیستامینی H2 هیپوکامپ پشتی برهمکنش نسبی وجود دارد.

کلید واژه‌ها: کانابینوئیدها؛ هیستامین؛ رانیتیدین؛ اضطراب؛ موش‌ها.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران؛
تلفن: ۰۹۱۳۳۳۲۷۱۶۹ آدرس پست الکترونیکی: bionasehi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۱

مقدمه

کانابینوئیدها گروهی از ترکیبات مقلد حالات روانی هستند که باعث ایجاد اثرات متنوعی در بسیاری از گونه‌ها می‌شوند. مشخص شده است آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی می‌تواند رفتارهای مرتبط با اضطراب را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی تحت تأثیر قرار دهد (۱). کانابینوئیدها دارای ۳ نوع گیرنده اصلی به نامهای CB1، CB2 و CB3 (گیرنده‌های غیر CB2/CB1) می‌باشند (۲). گیرنده‌های CB1 به‌صورت غالب در بخش‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی مانند قشر مخ، عقده‌های قاعده‌ای، مخچه و هیپوکامپ قرار دارند، اما به مقدار کمتر در بافت‌های محیطی نیز یافت می‌شوند (۳). گیرنده‌های CB2 به‌صورت گسترده در سلول‌های ایمنی قرار دارند (۴)، اما به مقدار کمی در سیستم عصبی مرکزی نیز بیان می‌شوند (۵). به‌علاوه،

www.SID.ir

Archive of SID

بیشتر گزارشات جدید نشان‌دهنده وجود نوع جدیدی از گیرنده‌های کانابینوئیدی موسوم به گیرنده‌های CB3 می‌باشد که با G پروتئین مهاری جفت شده است (۶) و می‌تواند انتقال پیام‌های گلوتاماترژیک در هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی را تضعیف نماید (۸،۷). مطالعات صورت گرفته با تست رفتاری مختلف مانند ماز شعاعی، ماز آبی موریس و تست حافظه اجتنابی مهاری نشان می‌دهد بیشتر اثرات رفتاری آندوکانابینوئیدها به‌وسیله گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 میانجی‌گری می‌شود (۱۰،۹). همچنین در تحقیقات مشخص شده است کانابینوئیدها در بسیاری از اختلالات من‌جمله اضطراب، اثرات درمانی دارند (۱۱). در موش کوچک آزمایشگاهی حذف گیرنده‌های CB1 به روش ژنتیکی یا مهار نمودن آن به روش فارماکولوژیکی با AM251، باعث افزایش اضطراب می‌گردد و آگونیست‌های گیرنده‌های کانابینوئیدی باعث کاهش اضطراب می‌شوند (۱۴-۱۲). به‌علاوه، هیستامین به‌عنوان نروترانسمیتر و تنظیم‌کننده عصبی در سیستم عصبی مرکزی- محیطی عمل می‌کند (۱۵). نورون‌های هیستامینی از طریق اثر بر روی گیرنده‌های هیستامینی H1، H2 و H3 بسیاری از اعمال فیزیولوژیک و رفتاری را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱۶،۱۵). گیرنده‌های H2 هیستامینی جزء گیرنده‌های متصل شونده به G پروتئین‌ها هستند که فعال شدن آنها باعث افزایش تولید cAMP می‌گردد (۱۷). نورون‌های هیستامینرژیک هسته (Tuberomammillaris) بخش وسیعی از مغز و نخاع را عصب‌دهی کرده و اعمال مختلف مغز و نخاع از جمله رفتارهای مرتبط با اضطراب را تحت تأثیر قرار می‌دهند. مطالعات فیزیولوژیک نشان می‌دهد تخریب زیر ناحیه E2 در بخش قدامی شکمی هسته (Tuberomammillaris) که منشأ نورون‌های هیستامینرژیک می‌باشد، باعث کاهش اضطراب در مدل Plus-Maze می‌شود (۱۸)، همچنین در مطالعات مشخص شده است استرس‌هایی که باعث القای اضطراب می‌شوند، می‌توانند رهایش هیستامین از نورون‌های هیستامینرژیک را افزایش دهند (۱۹). به‌علاوه، داروهای ضد اضطراب مانند دیازپام، بنزودیازپین‌ها و بوسپیرون (آگونیست سروتونینی) سرعت بازگردش (Turnover) هیستامین در مغز موش صحرایی و کوچک آزمایشگاهی را کاهش می‌دهند. با وجود اینکه هیپوکامپ تعداد متوسطی از ورودی‌های هیستامینرژیک را دریافت می‌کند؛ اما این نورون‌های هیستامینرژیک از طریق فعال نمودن گیرنده‌های H2 اثرات تحریکی زیادی بر روی هیپوکامپ دارند (۲۰). همچنین نورون‌های هیستامینرژیک با اثر بر روی بخش میانی سپتوم که ورودی‌های کولینرژیک را به هیپوکامپ می‌فرستد، می‌توانند به‌صورت غیرمستقیم عملکرد هیپوکامپ را تحت تأثیر قرار دهند. گزارشات موجود در این زمینه نیز نشان می‌دهد هیستامین با اثر بر روی گیرنده‌های هیستامینی H3 و به‌واسطه کاهش ساخت و افزایش رهایش هیستامین می‌تواند رفتارهای اضطرابی را تحت تأثیر قرار دهد (۲۱). در هیپوکامپ، کانابینوئیدها از طریق فعال کردن گیرنده‌های CB1 رهایش گلوتامات، استیل کولین، گابا، نور اپی‌نفرین و هیستامین را کاهش می‌دهند (۲۲). در مطالعات پیشین مشخص گردید که هیستامین نورون‌های کولینرژیک سپتوم را به‌شدت دپولاریزه کرده و با افزایش رهایش استیل کولین در هیپوکامپ در تعدیل اضطراب نقش دارد (۲۳)، هرچند برخی تجربیات دیگر خلاف آن را نشان می‌دهد (۱۶). بنابراین در این تحقیق اثر تزریق آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های H2 هیستامینی و داروهای کانابینوئیدی در ناحیه هیپوکامپ پشتی بر روی رفتارهای اضطرابی با استفاده از مدل Hole-Board در موش‌های کوچک آزمایشگاهی بررسی شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI با وزن تقریبی g ۳۰-۲۲، (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران، پژوهشکده علوم شناختی، تهران- ایران) استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوان‌خانه تحقیقاتی پژوهشکده علوم شناختی منتقل و در گروه‌های ۱۰ تایی قرار گرفتند، در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها گذاشته شد. دمای حیوان‌خانه بین $22\pm3^{\circ}C$ متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوان‌خانه تطبیق دهند. از تست Hole-Board در ابتدا برای بررسی رفتار حیوان در محیط‌های جدید و نا آشنا استفاده شد (۲۴)، امروزه این تست برای بررسی اضطراب و پاسخ حیوان به استرس نیز به کار برده می‌شود (۲۵). با توجه به اینکه در این تست، امکان مشاهده و اندازه‌گیری رفتارهای مختلف حیوان به‌صورت همزمان وجود دارد، بنابراین می‌توان توصیف جامعی از رفتار حیوان داشت. دستگاه Hole-Board (شرکت برج صنعت، تهران- ایران) براساس روشی که قبلاً نیز استفاده شده بود (۲۶)، از یک صفحه پلاستیکی مایل به سفید از جنس پرسپکس (Perspex) به ابعاد (۳×۴۰×۴۰ cm) ساخته شده است که در این صفحه ۱۶ سوراخ به

www.SID.ir

Archive of SID

قطر ۲ cm تعبیه شده و در فاصله ۳ cm از کف قرار می‌گیرند. تعداد دفعاتی که حیوان سرش را در مدت ۵ دقیقه وارد سوراخ‌ها می‌کند، توسط چشم‌های نوری تعبیه شده، شمارش می گردد. فعالیت حرکتی حیوان به کمک علامت + که در روی صفحه Hole-Board وجود دارد و صفحه را به ۴ قسمت برابر تقسیم می‌کند، سنجیده می‌شود. تعداد دفعات عبور حیوان از روی این خطوط، نمادی از فعالیت حرکتی حیوان را نشان می‌دهد. در این تحقیق از داروهای WIN55,212-2، AM251 (تاکریس، آمریکا)، هیستامین و رانیتیدین (سیگما، آمریکا) استفاده گردید. WIN55,212-2 و AM251 در محلول حاملی که ۹۰٪ آن سرم فیزیولوژی استریل، ۰/۹٪ استریل و ۱۰٪ باقیمانده دی متیل سولفوکسید (DMSO) بود، حل شد. در ادامه به محلول فوق یک قطره روغن توئین ۸۰ اضافه گردید. هیستامین و رانیتیدین بلافاصله قبل از آزمایش در سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹٪ حل شدند. انتخاب دوزهای داروهای به کار رفته در این تحقیق براساس مطالعات قبلی صورت گرفت (۲۹-۲۷). موش‌های کوچک آزمایشگاهی به‌وسیله تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ mg/kg) به‌علاوه گزیلزین Xylazine (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند. بعد از بیهوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند. کانول‌های راهنما (۲۳ G) به‌صورت دوطرفه، ۱ mm بالاتر از محل تزریق براساس اطلس پاکسینوس Paxinos (۲۰۰۱) قرار داده شدند. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی برابر AP=-۲، ML=+۱/۶، V=-۱/۵ می‌باشد (۳۰). بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندانپزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده شد، ۷ - ۵ روز دوره بهبودی پس از جراحی (ریکاوری) را به‌منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده، تا به حالت عادی خود برگردد. برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۳۰ G دندانپزشکی که ۹ mm طول داشت و به کت دان تیوب (Cat Down Tube) نوزاد (شماره ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما ۲۳ G قرار گرفت، در هر کانول ۰/۵ µL دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده شد، تا بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند. پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ۱٪ (۱ µL) به داخل هر ۲ کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شد و درون فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شد، محل ورود کانول به مغز به‌وسیله میکروسکوپ لوپ بررسی شد. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده گردید. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر، اطلاعات حاصل از حیوان تجزیه و تحلیل آماری شد. در تمامی آزمایشات تست اضطراب ۵ دقیقه پس از آخرین تزریق داخل مغزی صورت گرفت و تعداد Head-Dipping و فعالیت حرکتی حیوان بررسی گردید.

آزمایش اول: اثر WIN55,212-2 بر اضطراب در موش کوچک آزمایشگاهی. در این آزمایش از چهار گروه حیوان استفاده شد. گروه اول حامل (۰/۵ µl/side) و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف WIN55,212-2 (۰/۵ ،۰/۲۵ ،۰/۱ µg/mice) را به‌صورت درون مغزی (Intra-CA1) دریافت کردند.

آزمایش دوم: اثر AM251 بر اضطراب در موش کوچک آزمایشگاهی. در این آزمایش از چهار گروه حیوان استفاده شد. گروه اول حامل (۰/۵ µl/side) و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف AM251 (۵۰ ،۲۵ ،۱۰ ng/mice) را به‌صورت درون مغزی (Intra-CA1) دریافت کردند.

آزمایش سوم: اثر هیستامین بر اضطراب در موش کوچک آزمایشگاهی. در این آزمایش از پنج گروه حیوان استفاده شد. گروه اول سالین (۰/۵ µl/side) و چهار گروه باقیمانده مقادیر مختلف هیستامین (۱۰ ،۷/۵ ،۵ ،۲/۵ µg/mice) را به‌صورت درون مغزی (Intra-CA1) دریافت کردند.

آزمایش چهارم: اثر رانیتیدین بر اضطراب در موش کوچک آزمایشگاهی. در این آزمایش از پنج گروه حیوان استفاده شد. گروه اول سالین (۰/۵ µl/side) و چهار گروه باقیمانده مقادیر مختلف رانیتیدین (۱۰ ،۷/۵ ،۵ ،۲/۵ µg/mice) را به‌صورت درون مغزی (Intra-CA1) دریافت کردند.

آزمایش پنجم: اثر تداخل WIN55,212-2 با هیستامین و رانیتیدین بر اضطراب در موش کوچک آزمایشگاهی. در این آزمایش از شش گروه حیوان استفاده شد. گروه اول سالین (۰/۵ µl/side)، هیستامین (۵ µg/mice) و رانیتیدین (۵ µg/mice) را در حضور سالین به‌صورت درون مغزی (Intra-CA1) دریافت کردند. به سه گروه بعدی سالین (۰/۵ µl/side)، هیستامین (۵ µg/mice) و رانیتیدین (۵ µg/mice) در حضور مقدار غیرمؤثر WIN55,212-2 (۰/۲۵ µg/mice) به‌صورت درون مغزی (Intra-CA1) تزریق گردید.

www.SID.ir

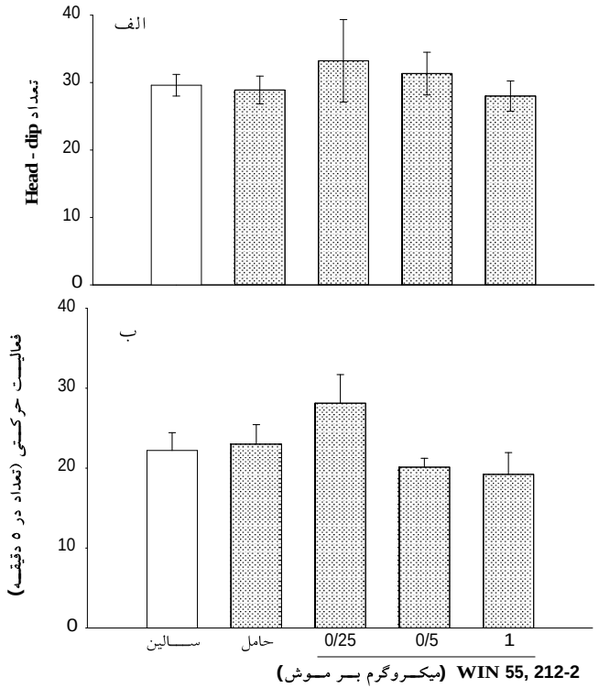
Archive of SID

آزمایش ششم: اثر تداخل AM251 با هیستامین و رانیتیدین بر اضطراب در موش کوچک آزمایشگاهی. در این آزمایش از چهار گروه حیوان استفاده شد. گروه اول و دوم سالین (۰/۵ µl/side) یا حامل (۰/۵ µl/side) و دو گروه باقیمانده مقدار غیرمؤثر AM251 (۱۰ ng/mice) را به‌علاوه مقادیر غیرمؤثر هیستامین (۲/۵ µg/mice) یا رانیتیدین (۲/۵ µg/mice) را به‌صورت درون مغزی (Intra-CA1) دریافت کردند.

تعداد Head-Dipps و فعالیت حرکتی هر گروه به‌صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد (Mean±SEM) ثبت گردید. به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایش، روش تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون دونت به کار برده شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها از Excel استفاده گردید. در همه موارد $p<0/05$ سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

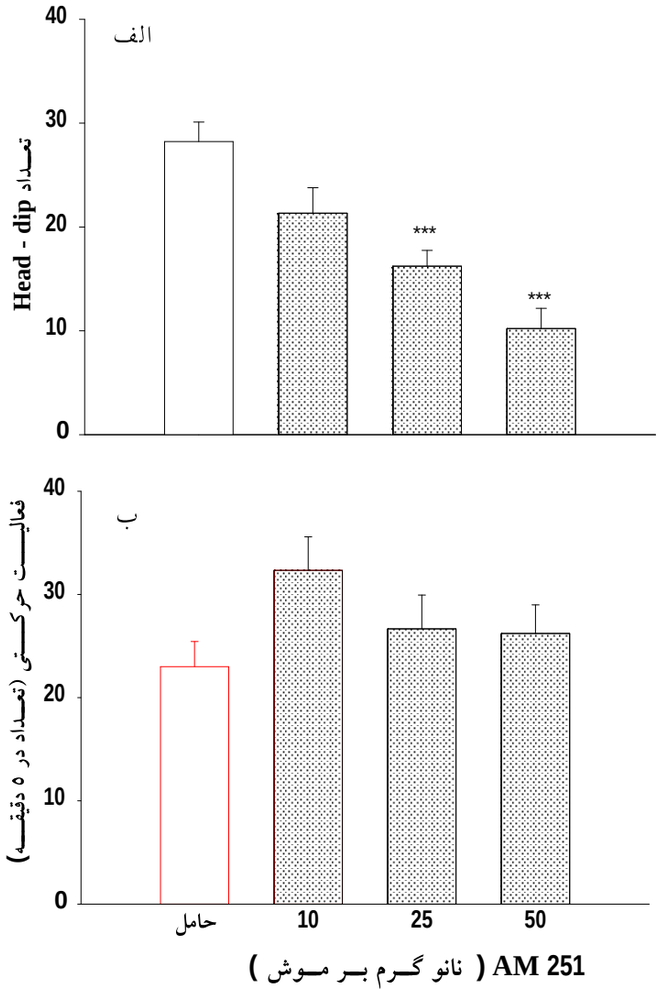
یافته‌ها

آزمایش اول: نتایج تزریق داخل مغزی WIN55,212-2 بر روی رفتار اضطرابی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. تزریق درون مغزی WIN55,212-2 به هیپوکامپ پشتی بر روی تعداد Head-Dipping و فعالیت حرکتی حیوان از لحاظ آماری تأثیر معنی‌داری نداشت. این نتایج نشان‌دهنده بی‌اثر بودن WIN55,212-2 بر روی رفتار اضطرابی می‌باشد (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱: (الف) اثر WIN55,212-2 بر روی اضطراب (ب) فعالیت حرکتی، در موش‌های کوچک آزمایشگاهی

آزمایش دوم: نتایج تزریق داخل مغزی AM251 بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی. تزریق درون مغزی AM251 به هیپوکامپ پشتی تعداد Head-Dipping ($p<0/001$) را کاهش داد؛ اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌دار آماری نداشت. آزمون مکمل دونت نشان داد کاهش تعداد Head-Dipping در مقادیر AM251 (۲۵، ۵۰ ng/mice) از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد. این نتایج نشان‌دهنده اضطراب‌زا بودن AM251 است (شکل شماره ۲).



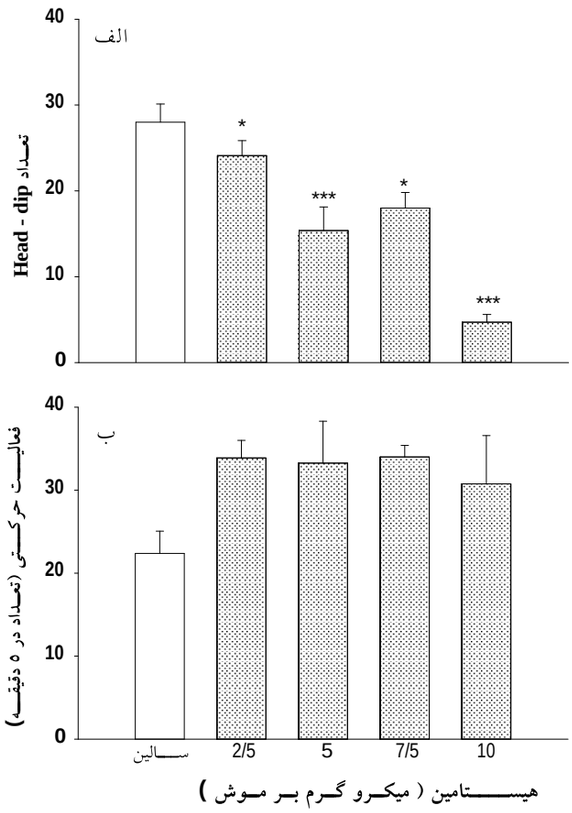
شکل شماره ۲: (الف) اثر AM251 بر روی اضطراب (ب) فعالیت حرکتی، در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. $p<0/001$* در مقایسه با گروه حامل می‌باشد.**

آزمایش سوم: نتایج تزریق داخل مغزی هیستامین بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی. تزریق درون مغزی هیستامین به هیپوکامپ پشتی تعداد Head-Dipping

www.SID.ir

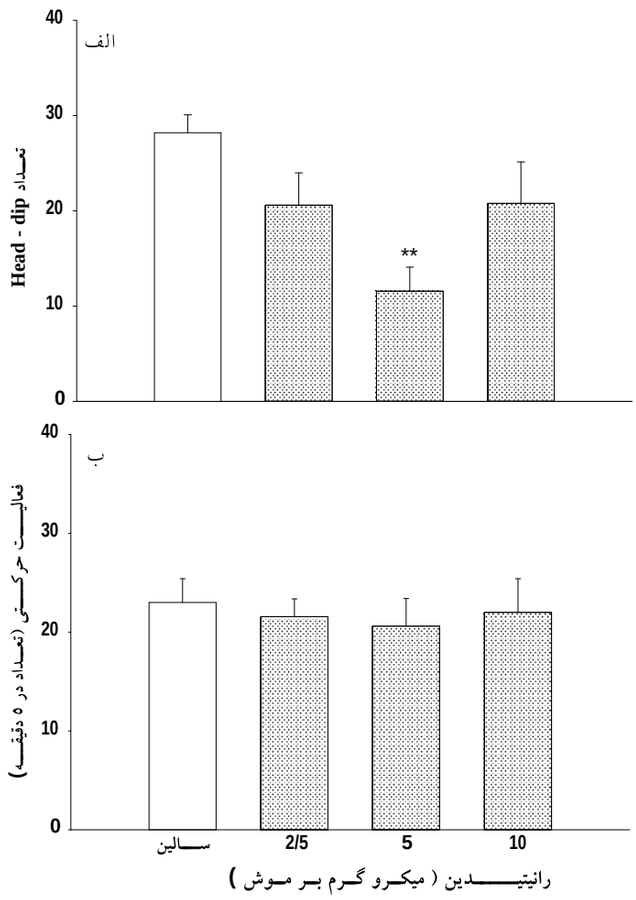
Archive of SID

($p<۰/۰۰۱$) را کاهش داد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌دار آماری نداشت. آزمون مکمل دونت نشان داد کاهش تعداد Head-Dipping در مقادیر هیستامین (۵، ۷/۵، ۱۰ µg/mice) از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد. این نتایج نشان‌دهنده اضطراب‌زا بودن هیستامین است (شکل شماره ۳).



شکل شماره ۳: (الف) اثر هیستامین بر روی اضطراب (ب) فعالیت حرکتی، در موش‌های کوچک آزمایشگاهی $p<۰/۰۰۱$ *، $p<۰/۰۵$* در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.**

آزمایش چهارم: نتایج تزریق داخل مغزی رانیتیدین بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی. تزریق درون مغزی رانیتیدین به هیپوکامپ تعداد Head-Dipping ($p<۰/۰۱$) را کاهش داد؛ اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌دار آماری نداشت. آزمون مکمل دونت نشان داد کاهش تعداد Head-Dipping در (۵ µg/mice) از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد. این نتایج نشان‌دهنده اضطراب‌زا بودن رانیتیدین است (شکل شماره ۵).

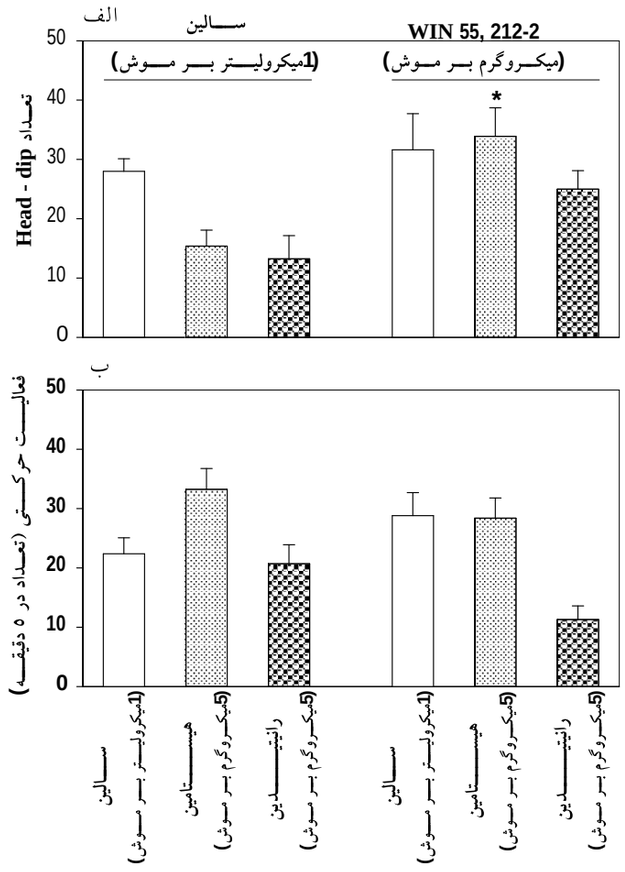


شکل شماره ٤: (الف) اثر رانیتیدین بر روی اضطراب (ب) فعالیت حرکتی، در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. $p<۰/۰۰۱$ ***در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.

آزمایش پنجم: اثر تداخل WIN55,212-2 و هیستامین و رانیتیدین بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی. تزریق درون مغزی مقدار غیرمؤثر WIN55,212-2 (۰/۲۵ µg/mice) به همراه مقادیر مؤثر هیستامین به هیپوکامپ پشتی، کاهش تعداد Head-Dipping القا شده با داروهای هیستامینی را اصلاح نمود؛ اما بر روی کاهش تعداد Head-Dipping القا شده با رانیتیدین تأثیری نداشت ($p<۰/۰۰۱$)، همچنین داروهای تزریق شده در مقادیر مورد استفاده، تأثیری بر روی فعالیت حرکتی حیوان نداشت. این نتایج نشان‌دهنده این است که WIN55,212-2 می‌تواند اثر اضطراب‌زایی هیستامین را کاهش دهد، اما نمی‌تواند اضطراب القا شده با رانیتیدین را اصلاح نماید (شکل شماره ۵).

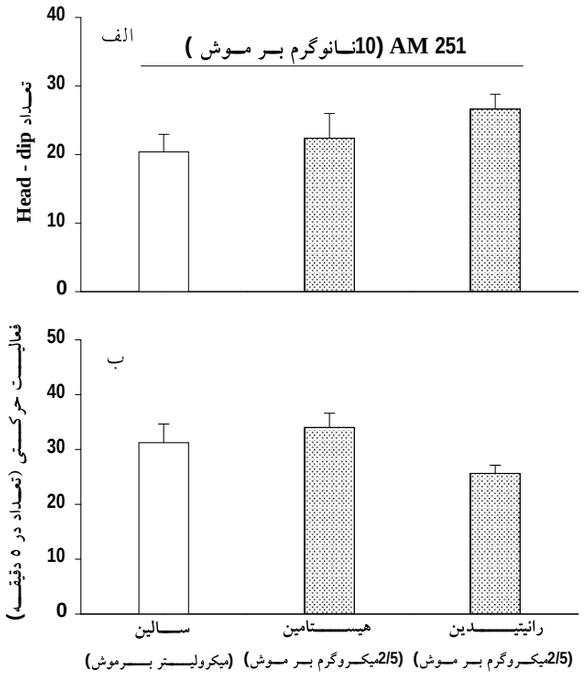
www.SID.ir

Archive of SID



شکل شماره ۵: (الف) اثر WIN55,212-2 به‌علاوه هیستامین و پیریلامین بر روی اضطراب (ب) فعالیت حرکتی، در موش‌های کوچک آزمایشگاهی
***p<۰/۰۵ در مقایسه با هیستامین/سالین و p<۰/۰۵ + در مقایسه با رانیتیدین/سالین**

آزمایش ششم: اثر تداخل AM251 و هیستامین، پیریلامین و رانیتیدین بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی. تأثیر تزریق درون مغزی مقدار غیرمؤثر AM251 (۰/۱ µg/mice) به همراه مقادیر مؤثر هیستامین یا رانیتیدین به هیپوکامپ پشتی بر روی کاهش تعداد Head-Dipping القا شده با داروهای هیستامینرژیک مختلف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. همچنین داروهای تزریق شده در مقادیر مورد استفاده تأثیری بر روی فعالیت حرکتی حیوان نداشت. این نتایج نشان‌دهنده بی‌اثر بودن AM251 بر روی پاسخ اضطرابی هیستامین و رانیتیدین می‌باشد (شکل شماره ۶).



شکل شماره ٦: (الف) اثر AM251 به‌علاوه هیستامین و پیریلامین بر روی اضطراب (ب) فعالیت حرکتی، در موش‌های کوچک آزمایشگاهی

بحث

در این مطالعه، اثرات سیستم کانابینوئیدی و هیستامینرژیک بر روی رفتارهای اضطرابی و برهمکنش بین این دو سیستم در موش کوچک آزمایشگاهی بررسی گردید. تست Hole-Board یکی از روش‌هایی است که برای مطالعه رفتارهای اضطرابی از آن استفاده می‌شود و با استفاده از آن می‌توان به بررسی اثرات ضد اضطرابی و یا اضطراب‌زایی داروها پرداخت (۲۵). مطالعه حاضر نشان داد تزریق WIN55,212-2 آگونیست گیرنده کانابینوئیدی به هیپوکامپ پشتی، اثر معنی‌داری بر رفتار اضطرابی حیوان ندارد. هرچند مطالعات پیشین که با استفاده از Plus-Maze صورت گرفته بود، نشان داد آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی اضطراب‌زا می‌باشد (۳۲،۳۱). در برخی از تحقیقات نیز مشخص گردید به کار بردن داروهای مختلف کانابینوئیدی باعث القای اضطراب در انسان و موش کوچک آزمایشگاهی می‌شود (۳۳)؛ در حالی که برخی دیگر از مطالعات، اثرات ضد اضطرابی را برای این ترکیبات گزارش نمودند (۳۴). این نتایج متناقض در ارتباط با اثرات اضطرابی کانابینوئیدها، نشان‌دهنده نقش تعدیل‌کننده کانابینوئیدها در زمینه رفتارهای مرتبط با ترس و اضطراب می‌باشد. ترکیبات کانابینوئیدی باعث القای سرخوشی می‌شوند، که این سرخوشی می‌تواند با کاهش اضطراب همراه باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

از طرف دیگر، این ترکیبات کانابینوئیدی می‌توانند باعث القای بی‌قراری، حس اضطراب، اضطراب و ترس ناگهانی (Panic)، پارانویا (Paranoia) و روان‌پریشی (Psychosis) شوند. نوع پاسخ اضطرابی ایجاد شده توسط ترکیبات کانابینوئیدی به تجربیات فردی پیشین، نوع حیوان و روش به کار رفته برای بررسی اضطراب و مقدار داروی مصرفی بستگی دارد. بر همین اساس مشخص شده است مقادیر کم آگونیست‌های گیرنده‌های کانابینوئیدی مانند نابیلون (Nabilone)، CP55,940 و تترا هیدروکسی کانابینول دارای اثرات ضد اضطرابی هستند؛ در حالی که مقادیر بالای آگونیست‌های کانابینوئیدی مانند HU-210 و CP55,940 دارای اثرات اضطراب‌زا می‌باشند. علت این پاسخ نوروبیولوژیکی متفاوت کانابینوئیدها، می‌تواند وجود گیرنده‌های کانابینوئیدی با حساسیت‌های متفاوت باشد (۳۶،۳۵). ۲ گیرنده کانابینوئیدی پیش‌سیناپسی با حساسیت‌های متفاوت، فعالیت شبکه نورونی موجود در هیپوکامپ را تنظیم می‌کند. فعال شدن گیرنده‌های CB1، رهایش گابا از پایانه اکسونی نورون‌های پیش‌سیناپسی را کاهش می‌دهد و باعث افزایش تحریک‌پذیری سلول‌های هرمی در بخش هرمی (Pyramidal) و سلول‌های گرانولی دندانه‌دار (Dentate Ggranule Cells) می‌شود. از طرف دیگر، گیرنده‌های جدید غیر CB1 که به کانابینوئیدها حساس هستند، در پایانه اکسونی نورون‌های پیش‌سیناپسی تحریکی در هیپوکامپ حضور دارند، که فعال شدن آنها باعث سرکوب رهایش گلوتامات می‌شود. بنابراین فعال شدن ۲ نوع مختلف گیرنده‌های کانابینوئیدی می‌تواند علت ایجاد اثرات مختلف توسط ترکیبات کانابینوئیدی باشد. همچنین مطالعات نشان می‌دهند استفاده از مقادیر پایین WIN55,212-2 باعث القای یک اثر تحریکی زودگذر و به کار بردن مقادیر بالای آن باعث یک مهار طولانی‌مدت در رهایش استیل کولین در هیپوکامپ می‌گردد (۳۷). با توجه به اثر تعدیل‌کننده استیل کولین در زمینه رفتارهای اضطرابی (۲۳)، می‌توان اثرات اضطرابی متفاوت مقادیر بالا و پایین کانابینوئیدها را در ارتباط با اثر متفاوت مقادیر مختلف کانابینوئیدها بر روی رهایش استیل کولین دانست. در بخش بعدی آزمایشات، اثر تزریق مقادیر مختلف AM251، آنتاگونیست گیرنده‌های CB1 به هیپوکامپ پشتی، بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد تزریق دوطرفه AM251 به هیپوکامپ پشتی، تعداد Head-Dipping را کاهش می‌دهد؛ در حالی که بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد. این یافته‌ها با نتایج تحقیقات قبلی که نشان می‌داد تزریق محیطی AM251 دارای اثر اضطراب‌زایی در موش کوچک آزمایشگاهی است، مطابقت داشت. در تحقیقات دیگری مشاهده گردید AM251 عملکرد نورون‌های گابائرژیک و گلوتاماترژیک را که نقش‌های متضادی در اضطراب دارند، تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۹،۳۸،۱۳،۱۲)، و در موش‌های صحرایی AM251 به‌واسطه سرکوب فعالیت نورون‌های گابائرژیک، باعث القای اضطراب می‌شود (۱۱). در آزمایش بعدی اثر تزریق دوطرفه هیستامین به هیپوکامپ پشتی، بر روی رفتار اضطرابی بررسی شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد تزریق هیستامین که به‌عنوان آگونیست گیرنده‌های H1 و H2 عمل می‌کند، تعداد Head-Dipping را کاهش می‌دهد؛ در حالی که بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثری ندارد. تحقیقات پیشین نیز نشان داد یکی از اثرات مهم هیستامین القای اضطراب می‌باشد (۴۰)، و به کار بردن هیستامین در بخش مرکزی آمیگدال و بخش شکمی هیپوکامپ باعث القای اضطراب در تست Plus-Maze می‌شود (۴۱،۲۸،۲۷)، درصورتی‌که تزریق هیستامین به بخش پشتی هیپوکامپ موش صحرایی باعث القای اثرات ضد اضطرابی در تست Plus-Maze می‌گردد (۲۹). نتایج پژوهش حاضر نشان داد تزریق رانیتیدین، آنتاگونیست گیرنده H2 بدون اینکه فعالیت حرکتی حیوان را تحت تأثیر قرار دهد، میزان Head-Dipping را کاهش می‌دهد، که نشان‌دهنده اضطراب‌زا بودن این دارو است. در نتایج تحقیقات گذشته مشاهده گردید تزریق رانیتیدین در ماده خاکستری دور قنات سیلویوس و برجستگی‌های چهارگانه تحتانی، باعث القای اضطراب می‌شود، هرچند گزارشات نشان می‌دهد ایمپرمیدین (Impromidine) آنتاگونیست دیگر گیرنده H_2 دارای اثرات ضد اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی در تست جعبه روشن/تاریک می‌باشد (۴۲)، اما اثرات رفتاری رانیتیدین در مقادیر به کار رفته در این تحقیق، می‌تواند نشان‌دهنده اثرات فیزیولوژیک سیستم هیستامینی در هیپوکامپ باشد. همچنین گزارش شده است آنتاگونیست گیرنده‌های H_1 باعث افزایش سطح استیل کولین در فضای خارج سلولی هیپوکامپ می‌گردد (۴۳). به‌علاوه، آنتاگونیست گیرنده‌های H_2 باعث مهار آنزیم استیل کولین استراز، و رهایش استیل کولین می‌شوند (۴۴). با توجه به نقش تعدیل‌کننده استیل کولین در زمینه رفتارهای اضطرابی (۲۳)، انتظار می‌رود مقادیر بالای آنتاگونیست‌های گیرنده‌های H_2 هیستامینی به‌واسطه تغییر سطح استیل کولین باعث القای اضطراب شوند. از طرف دیگر، گزارشات موجود

www.SID.ir

Archive of SID

نشان‌دهنده اثرات اضطرابی یا ضد اضطرابی بلوکرهای گیرنده‌های H_2 هیستامینی در نواحی مختلف مغز می‌باشد. Yuzurihara و همکارانش گزارش نمودند تزریق درون بطنی سایمیتیدین (Cimetidine) آنتاگونیست گیرنده H_2، اثری بر روی رفتار اضطرابی موش کوچک آزمایشگاهی ندارد (۴۰). در یک مطالعه دیگر نیز بیان شد تزریق موضعی رانیتیدین به‌تنهایی به داخل هسته آکومبنس اثری بر روی رفتار اضطرابی در تست Plus-Maze و Hole-Board ندارد (۴۵). در تحقیق دیگری نشان داده شد تزریق رانیتیدین، آنتاگونیست گیرنده H_2 به بخش ماگنوسلولار هسته‌های Basalis (Nucleus Basalis Magnocellularis Region) باعث کاهش اضطراب در موش‌های صحرایی می‌شود (۴۶). این یافته‌های متضاد نشان‌دهنده نقش تعدیل‌کننده سیستم هیستامینی در زمینه رفتارهای اضطرابی می‌باشد که این نقش تعدیل‌کننده هیستامین به شدت تحت تأثیر محل تزریق و مقدار داروی تزریق شده قرار می‌گیرد. در آزمایش بعدی اثر تزریق همزمان WIN55,212-2 با داروهای هیستامینی بر روی رفتار اضطرابی موش بررسی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از WIN55,212-2 به‌تنهایی تأثیری بر روی رفتار اضطرابی حیوان ندارد، همچنین WIN55,212-2 قادر به اصلاح اضطراب القا شده با رانیتیدین نمی‌باشد. از طرف دیگر، به کار بردن مقدار غیرمؤثر AM251 قبل از مقادیر غیرمؤثر داروهای هیستامینرژیک نمی‌تواند رفتار القا شده با این داروها را تغییر دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های هیستامینی H2 و آنتاگونیست گیرنده‌های CB1 کانابینوئیدی اضطراب‌زا هستند و WIN55,212-2 قادر به درمان اضطراب القا شده با داروهای هیستامینی نمی‌باشد.

References:

1. Patel S, Hillard CJ. Pharmacological Evaluation of Cannabinoid Receptor Ligands in a Mouse Model of Anxiety: Further Evidence for an Anxiolytic Role for Endogenous Cannabinoid Signaling. J Pharmacol Exp Ther 2006 Jul; 318:304-11.

2. Ryberg E, Larsson N, Sjogren S, Hjorth S, Hermansson NO, Leonova J, et al. The Orphan Receptor GPR55 Is a Novel Cannabinoid Receptor. Br J Pharmacol 2007 Dec; 152:1092-101.

3. Davies SN, Pertwee RG, Riedel G. Functions of Cannabinoid Receptors in the Hippocampus. Neuropharmacology 2002 Jun; 42:993-1007.

4. Chaperon F, Thiebot MH. Behavioral Effects of Cannabinoid Agents in Animals. Crit Rev Neurobiol 1999;13:243-81.

5. Brusco A, Tagliaferro P, Saez T, Onaivi ES. Postsynaptic Localization of CB2 Cannabinoid Receptors in the Rat Hippocampus. Synapse 2008 Dec; 62:944-9.

6. Vaccani A, Massi P, Colombo A, Rubino T, Parolaro D. Cannabidiol Inhibits Human Glioma Cell Migration Through a Cannabinoid Receptor-Independent Mechanism. Br J Pharmacol 2005 Apr; 144:1032-6.

7. Hajos N, Freund TF. Pharmacological Separation of Cannabinoid Sensitive Receptors on Hippocampal Excitatory and Inhibitory Fibers. Neuropharmacology 2002 Sep; 43:503-10.

8. Hajos N, Ledent C, Freund TF. Novel Cannabinoid-Sensitive Receptor Mediates Inhibition of Glutamatergic Synaptic Transmission in the Hippocampus. Neuroscience 2001;106:1-4.

9. De Oliveira Alvares L, De Oliveira LF, Camboim C, Diehl F, Genro BP, Lanziotti VB, et al. Amnestic Effect of Intrahippocampal AM251, A CB1-Selective Blocker, in the Inhibitory Avoidance, but Not in the Open Field Habituation Task, in Rats. Neurobiol Learn Mem 2005 Mar; 83:119-24.

10. Thiemann G, Fletcher BC, Ledent C, Molleman A, Hasenohrl RU. The Genetic Versus Pharmacological Invalidation of the Cannabinoid CB(1) Receptor Results in Differential Effects on 'Non-Associative' Memory and Forebrain Monoamine Concentrations in Mice. Neurobiol Learn Mem 2007 Nov; 88:416-23.

11. Haller J, Matyas F, Soproni K, Varga B, Barsy B, Nemeth B, et al. Correlated Species Differences in the Effects of Cannabinoid Ligands on Anxiety and on GABAergic and Glutamatergic Synaptic Transmission. Eur J Neurosci 2007 Apr; 25:2445-56.

12. Haller J, Bakos N, Szirmay M, Ledent C, Freund TF. The Effects of Genetic and Pharmacological Blockade of the CB1 Cannabinoid Receptor on Anxiety. Eur J Neurosci 2002 Oct; 16:1395-8.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Haller J, Varga B, Ledent C, Freund TF. CB1 Cannabinoid Receptors Mediate Anxiolytic Effects: Convergent Genetic and Pharmacological Evidence with CB1-Specific Agents. Behav Pharmacol 2004 Jul; 15:299-304.

14. Rodgers RJ, Evans PM, Murphy A. Anxiogenic Profile of AM-251, a Selective Cannabinoid CB1 Receptor Antagonist, in Plus-Maze-Naive and Plus-Maze-Experienced Mice. Behav Pharmacol 2005 Sep; 16:405-13.

15. Schwartz JC, Arrang JM, Garbarg M, Pollard H, Ruat M. Histaminergic Transmission in the Mammalian Brain. Physiol Rev 1991 Jan; 71:1-51.

16. Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The Physiology of Brain Histamine. Prog Neurobiol 2001 Apr; 63:637-72.

17. Traiffort E, Vizuete ML, Tardivel-Lacombe J, Souil E, Schwartz JC, Ruat M. The Guinea Pig Histamine H_2 Receptor: Gene Cloning, Tissue Expression and Chromosomal Localization of Its Human Counterpart. Biochem Biophys Res Commun 1995 Jun; 15(211):570-7.

18. Frisch C, Hasenohrl RU, Krauth J, Huston JP. Anxiolytic-Like Behavior after Lesion of the Tuberomammillary Nucleus E2-Region. Exp Brain Res 1998 Mar; 119:260-4.

19. Yamatodani A, Fukuda H, Wada H, Iwaeda 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 Nov; 8(344):115-23.

20. Greene RW, Haas HL. Effects of Histamine on Dentate Granule Cells in Vitro. Neuroscience 1990;34:299-303.

21. 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;53:1675-83.

22. Al-Hayani A, Davies SN. Effect of Cannabinoids on Synaptic Transmission in the Rat Hippocampal Slice Is Temperature-Dependent. Eur J Pharmacol 2002 May; 3(442):47-54.

23. Degroot A, Treit D. Dorsal and Ventral Hippocampal Cholinergic Systems Modulate Anxiety in the Plus-Maze and Shock-Probe Tests. Brain Res 2002 Sep; 13(949):60-70.

24. Boissier JR, Simon P. The Exploration Reaction in the Mouse. Preliminary note. Therapie 1962 Nov-Dec; 17:1225-32.

25. 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 Feb; 26:207-10.

26. Vinade ER, Schmidt AP, Frizzo ME, Izquierdo I, Elisabetsky E, Souza DO. Chronically Administered Guanosine Is Anticonvulsant, Amnesic and Anxiolytic in Mice. Brain Research 2003;977:97-102.

27. 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 Dec; 16:643-9.

28. 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 Nov; 97:276-81.

29. 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 Nov; 85:500-6.

30. Paxinos G, Franklin, KBJ. The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. 2nd ed. Sydney: Academic Press; 2001. p. 94-5.

31. Roohbakhsh A, Moghaddam AH, Massoudi R, Zarrindast MR. Role of Dorsal Hippocampal Cannabinoid Receptors and Nitric Oxide in Anxiety Like Behaviours in Rats Using the Elevated Plus-Maze Test. Clin Exp Pharmacol Physiol 2007 Mar; 34:223-9.

32. Arevalo C, De Miguel R, Hernandez-Tristan R. Cannabinoid Effects on Anxiety-Related Behaviours and Hypothalamic Neurotransmitters. Pharmacol Biochem Behav 2001 Sep; 70:123-31.

33. Zuardi AW, Shirakawa I, Finkelfarb E, Karniol IG. Action of Cannabidiol on the Anxiety and Other Effects Produced by Delta 9-THC in Normal Subjects. Psychopharmacology (Berl) 1982;76:245-50.

34. Marco EM, Perez-Alvarez L, Borcel E, Rubio M, Guaza C, Ambrosio E, et al. Involvement of 5-HT1A Receptors in Behavioural Effects of the Cannabinoid Receptor Agonist CP 55,940 in Male Rats. Behav Pharmacol 2004 Feb; 15:21-7.

35. Dannon PN, Lowengrub K, Amiaz R, Grunhaus L, Kotler M. Comorbid Cannabis Use and Panic Disorder: Short Term and Long Term Follow-Up Study. Hum Psychopharmacol 2004 Mar; 19:97-101.

36. Patton GC, Coffey C, Carlin JB, Degenhardt L, Lynskey M, Hall W. Cannabis Use and Mental Health in Young People: Cohort Study. BMJ 2002 Nov; 23;325:1195-8.

www.SID.ir

Archive of SID

37. Tzavara ET, Wade M, Nomikos GG. Biphasic Effects of Cannabinoids on Acetylcholine Release in the Hippocampus: Site and Mechanism of Action. J Neurosci 2003 Oct; 15(23):9374-84.

38. Berrendero F, Maldonado R. Involvement of the Opioid System in the Anxiolytic-Like Effects Induced by Delta(9)-Tetrahydrocannabinol. Psychopharmacology (Berl) 2002 Aug; 163:111-7.

39. Haller J, Varga B, Ledent C, Barna I, Freund TF. Context-Dependent Effects of CB1 Cannabinoid Gene Disruption on Anxiety-Like and Social Behaviour in Mice. Eur J Neurosci 2004 Apr;19:1906-12.

40. 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 Sep; 67:145-50.

41. 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 May; 30(87):891-6.

42. Malmberg-Aiello P, Ipponi A, Bartolini A, Schunack W. Mouse Light/Dark Box Test Reveals Anxiogenic-Like Effects by Activation of Histamine H1 Receptors. Pharmacol Biochem Behav 2002 Jan-Feb; 71:313-8.

43. Poli E, Coruzzi G, Bertaccini G. Ranitidine but Not Famotidine Releases Acetylcholine From the Guinea Pig Myenteric Plexus. Agents Actions 1990 Apr; 30:191-4.

44. Hansen WE, Bertl S. The Inhibition of Acetylcholinesterase and Pseudocholinesterase by Cimetidine. Arzneimittelforschung 1983;33:161-3.

45. Yanai K, Son LZ, Endou M, Sakurai E, Nakagawasai O, Tadano T, et al. Behavioural Characterization and Amounts of Brain Monoamines and Their Metabolites in Mice Lacking Histamine H1 Receptors. Neuroscience 1998 Nov; 87:479-87.

46. Privou C, Knoche A, Hasenohrl RU, Huston JP. The H1- and H2-Histamine Blockers Chlorpheniramine and Ranitidine Applied to the Nucleus Basalis Magnocellularis Region Modulate Anxiety and Reinforcement Related Processes. Neuropharmacology 1998 Aug; 37:1019-32.

www.SID.ir