برهمکنش آپومورفین و سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ پشتی موش کوچک آزمایشگاهی در تست اضطراب ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع

الهام ایازی [۱]، مرتضی پیری [۲*]، مریم بنانج [۳]، مریم السادات شاهین [٤]، محمدرضا زرین دست [۵]

خلاصه

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

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی روی ۱٤۰ موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI انجام شد. موش‌های کوچک آزمایشگاهی با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید و زایلزین بی‌هوش شده و سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دو کانول در ناحیه هیپوکامپ پشتی قرار داده شد. به تمامی حیوانات قبل از شروع آزمون رفتاری برای بهبودی یک هفته فرصت داده شد. تست ماز به‌علاوه ای شکل مرتفع برای سنجش 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 اضطراب‌زای هیستامین را مهار می‌نماید.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد علاوه بر اینکه هر دو سیستم هیستامینرژیک و دوپامینرزیک در تعدیل اضطراب در هیپوکامپ پشتی موش کوچک آزمایشگاهی نقش دارند، بلکه بین آنها یک برهمکنش پیچیده نیز وجود دارد.

واژگان کلیدی: آپومورفین، هیپوکامپ پشتی، ماز به‌علاوه‌ای 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 تنش‌زا افزایش تولید هیستامین در مغز باعث القاء اضطراب می‌شود، در حالی‌که تخریب مراکز تولید هیستامین در مغز باعث کاهش رفتار اضطرابی می‌گردد. مطالعات فارماکولوژیکی صورت گرفته نیز نشان می‌دهند که تزریق هیستامین به‌صورت سیستمیک یا به‌صورت 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 وH3 اعمال می‌نماید. گیرنده‌های هیستامینیH1، از خانواده گیرنده‌های متصل شونده به G پروتئین-ها می‌باشند که فعال شدن آنها باعث تحریک فسفولیپاز C و همچنین افزایشcAMP 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 اتورسپتور بوده و ساخت و رهایش هیستامین را تنظیم می‌کنند [٤]. همچنین، هیستامین با اثر بر روی گیرنده‌های هیستامینی H3، یادگیری فضایی و حافظه را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۵]. فعال شدن گیرنده-های هیستامینی H3 باعث کاهش ساخت و افزایش رهایش هیستامین گردیده و می‌تواند رفتارهای اضطرابی را تحت تاثیر قرار دهد [٦]. از طرف دیگر شواهدی وجود دارد که نشان دهنده برهمکنش بین سیستم هیستامینرژیک و دوپامین می‌باشد. شواهد بیوشیمیایی و رفتاری در جوندگان نشان می‌دهند که مکانیسم‌های هیستامینرژیک در تعدیل فعالیت دوپامین در سیستم عصبی مرکزی

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

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

[۳] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

[۴] کارشناس زیست شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری

[۵] 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 ۷۷۲۸۰۲۹

پست الکترونیک: biopiri@iauardabil.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۳۰ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۰/۱/۲۱

Archive

www.SID.ir

به‌ویژه در سیستم مزولیمبیک نقش مهمی بر عهده دارند [۸،۷]. مطالعات فارماکولوژیکی نیز نشان می‌دهند که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی H1 بازجذب دوپامین از فضای سیناپسی را مهار نموده و از این طریق باعث فعال‌تر شدن سیستم دوپامینی می‌شوند [۹]، در حالی‌که آزاد سازی دوپامین از برش‌های برداشته شده از استریاتوم توسط هیستامین مهار می‌گردد. مطالعات رفتاری نیز نشان داده‌اند که وابستگی روانی القاء شده با تزریق هیستامین یا پیریلامین به بخش میانی سپتوم با پیش تیمار با آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی D1 مهار می‌گردند. 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 دوپامینرژیک و هیستامینرژیک در زمینه رفتار اضطرابی و با در نظر داشتن این نکته که هیپوکامپ پشتی ورودی‌های دوپامینرژیک و هیستامینرژیک را دریافت می‌کند و گیرنده‌های این دو سیستم در هیپوکامپ پشتی بیان می شود [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 ـ ایران) انجام گرفت، از موش‌های کوچک آزمایشگاهی به وزن تقریبی۲۵–۲۲ گرم که از انستیتو 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 ۳±۲۲ 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 به‌منظور جلوگیری از تنش کار، هر روز حیوان‌ها Handling می‌شدند. هر حیوان فقط یک بار استفاده شده و در گروه هشت تایی قرار داده می‌شد. همه آزمایش‌ها در طول روز انجام می‌گردید.

دستگاه تست اضطراب و نحوه انجام تست رفتاری

برای سنجش اضطراب از مدل رفتاری ماز به‌علاوه‌ای 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 بازوهای بسته بگذراند. این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت به‌علاوه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته ۴۰ × ۷ 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 تعبیه شده است. ماز به وسیله پایه‌هایی در ارتفاع ۴۰ سانتی متر از سطح زمین قرار می‌گیرد. موش‌ها درون محدوده مرکزی و رو به یک بازوی باز قرار می‌گرفتند. نور مناسب به‌وسیله یک لامپ۱۰۰ 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 به‌روش 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 بازو 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 به‌طریق زیر محاسبه شد.

درصد ورود به بازوی باز = (تعداد ورود به بازوی باز / تعداد ورود به بازوی بسته + تعداد ورود به بازوی باز) × ۱۰۰

درصد ماندن در بازوی باز = (مدت ماندن در بازوی باز / مدت ماندن در بازوی باز + مدت ماندن در بازوی بسته) × ۱۰۰

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 در صد 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

Archive of SID

www.SID.ir

گردیدند. داروها بلافاصله 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 بی هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. کانول های راهنما (G ۲۳) به‌صورت دو طرفه یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس قرار داده شدند. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی عبارت بود از : ۲- =AP، ۱/۶+=ML، ۱/۵-=V [۱۲]. 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 ۳۰G دندانپزشکی که ۹ میلی متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد متصل بود، در داخل کانول راهنما G ۲۳ قرار داده شده، در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق می‌شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند. لازم به‌ذکر 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 به‌عمل آمده است.

بافت شناسی

پس از کشتن حیوانات توسط کلروفرم، با تزریق رنگ متیلن بلو ٤ درصد (۱ µl) 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 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 حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

در همه آزمایش‌ها درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز به‌عنوان ملاک رفتار اضطرابی اندازه-گیری شد. همچنین، میزان فعالیت حرکتی حیوان نیز به‌صورت همزمان اندازه‌گیری گردید. نمره هر گروه به‌صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد (Mean±S.E.M) ثبت گردید. به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با بقیه گروه‌ها، از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون مکمل LSD استفاده گردید و اختلاف در سطح $P<۰/۰۵$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Sigma Plot استفاده شد.

تیمارهای دارویی و آزمایش‌های انجام شده

آزمایش اول: اثر هیستامین در هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی

در این آزمایش چهار گروه حیوان به‌کار رفت. گروه اول سالین (۱ میکرولیتر بر موش) و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف هیستامین (۲/۵، ۵، ۱۰ میکروگرم بر موش) را به‌صورت درون مغزی در داخل هیپوکامپ پشتی دریافت کردند.

آزمایش دوم: اثر آپومورفین در هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی

در این آزمایش چهار گروه حیوان به‌کار رفت. گروه اول سالین (۱ میکرولیتر بر موش) را پنج دقیقه قبل از آزمون اضطراب و سه گروه باقیمانده مقادیر مختلف آپومورفین (۰/۳، ۰/۱، ۰/۰۳ میکروگرم بر موش) را پنج دقیقه قبل از آزمون اضطراب به‌صورت درون مغزی (هیپوکامپ پشتی) دریافت کردند.

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

در این آزمایش چهار گروه حیوان به‌کار رفت. تمامی گروه‌ها در مرحله اول مقدار مؤثر هیستامین را به‌صورت درون مغزی دریافت کردند و بعد از دو دقیقه سالین (۱ میکرو لیتر بر موش) یا مقادیر مختلف آپومورفین (۰/۳، ۰/۱، ۰/۰۳ میکروگرم بر موش) را به-صورت درون مغزی (هیپوکامپ پشتی) دریافت کردند. پنج دقیقه بعد از تزریق دوم از تمامی حیوانات تست اضطراب به‌عمل آمد.

نتایج

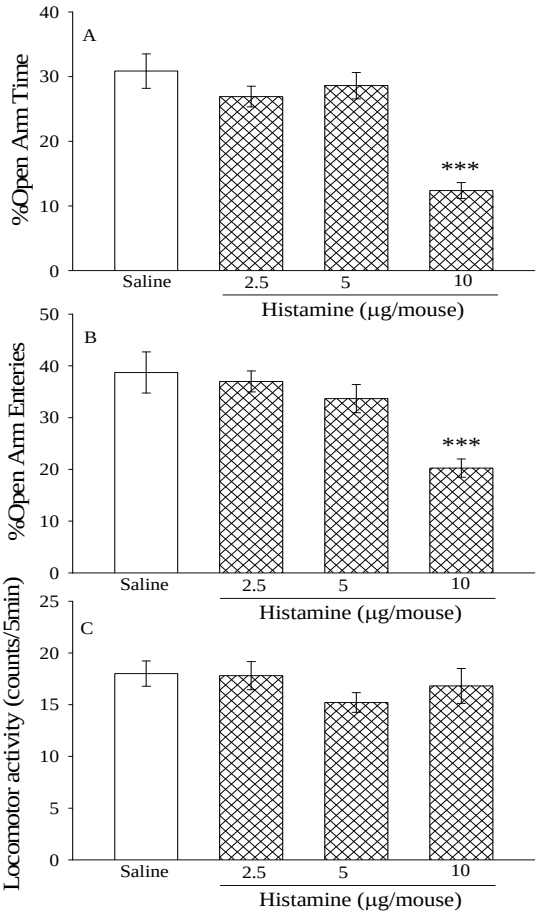
آزمایش اول: اثر هیستامین در هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف هیستامین به ناحیه هیپوکامپ پشتی به‌صورت معنی‌داری

Archive of SID

www.SID.ir

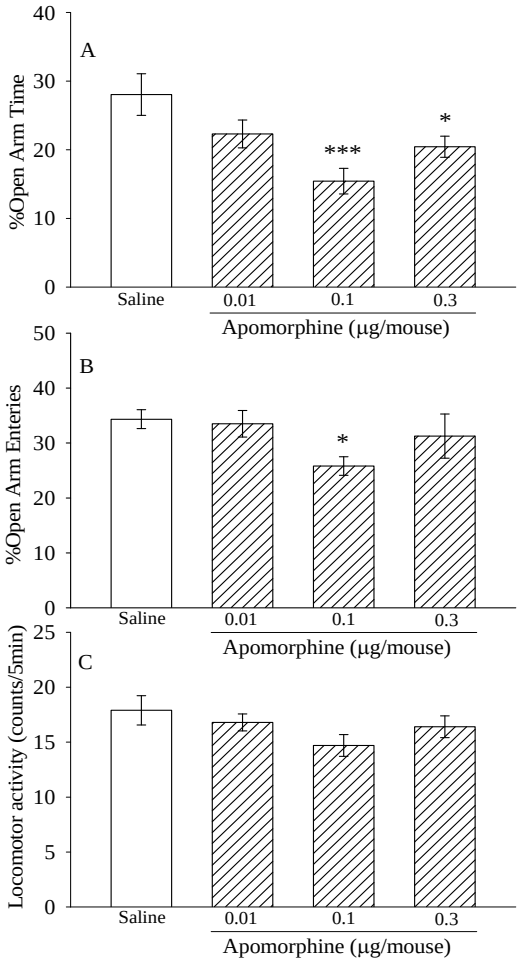
درصد زمان حضور در بازوی باز [$P<0/001$، ۹/۶۱ =(۲۸،۳) F] و درصد ورود به بازوی باز [$P<0/001$، ۱۱/۲۷=(۲۸،۳) F] را کاهش داده، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد [$P>0/05$، ۰/۸۵=(۲۸،۳) F] . این نتایج نشان دهنده اضطراب‌زا بودن هیستامین می باشد. به‌علاوه، آزمون مکمل LSD نشان داد که کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز در دوز (۱۰ میکروگرم بر موش) از نظر آماری معنی‌دار 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 می‌باشد.

آزمایش دوم: اثر آپومورفین در هیپوکامپ پشتی بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف آپومورفین به ناحیه هیپوکامپ پشتی به‌صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز [$P<0/001$، ۱۰/۸۴=(۲۸،۳) F] و درصد ورود به بازوی باز [$P<0/001$، ۶/۲۷ =(۲۸،۳) F] را کاهش می‌دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی داری ندارد [$P>0/05$، ۱/۱۵=(۲۸،۳) F]. به‌علاوه آزمون مکمل LSD نشان داد که کاهش درصد زمان حضور در بازوی باز در دوزهای (۰/۳، ۰/۱، ۰/۰۳ میکروگرم بر موش) و کاهش درصد ورود به بازوی باز در دوز (۰/۱ میکروگرم بر موش) از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. این نتایج نشان‌دهنده اضطراب‌زا بودن آپومورفین در ناحیه هیپوکامپ پشتی می‌باشد (نمودار شماره ۲).



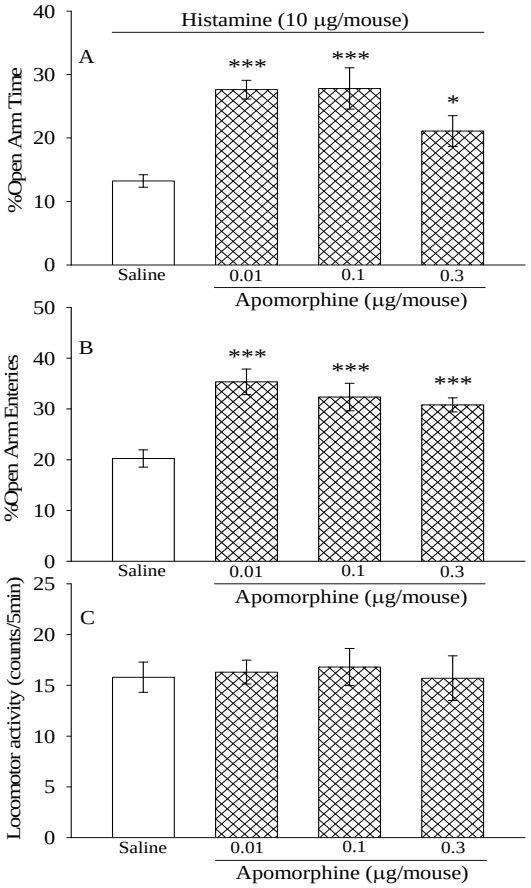
نمودار شماره ۲- اثر تزریق درون مغزی آپومورفین به ناحیه هیپوکامپ پشتی بر روی درصد حضور در بازوی باز، درصد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان. $P<0/001$***، $P<0/05$* در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.

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

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف آپومورفین به ناحیه هیپوکامپ پشتی موش‌هایی که قبلا دوز مؤثر هیستامین را دریافت کرده‌اند، به‌صورت معنی‌دار درصد زمان حضور در بازوی باز [$P<0/001$، ۹/۶۲=(۲۸،۳) F] و درصد ورود به بازوی باز [$P<0/001$، ۱۳/۵۶=(۲۸،۳) F] را در مقایسه با گروهی که هیستامین را به تنهایی دریافت کرده‌اند

www.SID.ir

افزایش می‌دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد [$P>0/05$، $F_{(28,3)}=1/08$]. این نتایج نشان دهنده این مطلب می‌باشد که آپومورفین قادر به مهار اضطراب القاء شده با هیستامین است. به‌علاوه آزمون مکمل LSD نشان داد که افزایش درصد زمان حضور در بازوی باز و افزایش درصد ورود به بازوی باز در دوزهای (۰/۳، ۰/۱، ۰/۰۳ میکروگرم بر موش) 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 درصد حضور در بازوی باز، درصد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان . $P<0/001$***، $P<0/05$* 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 به‌علاوه‌ای شکل مرتفع مورد بررسی قرار گرفت. ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع یکی از دستگاه‌های پذیرفته شده برای بررسی رفتار اضطرابی در جوندگان می‌باشد، که با استفاده از آن می‌توان به اثرات اضطراب زا و اضطراب زدای داروها پی برد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تزریق هیستامین به ناحیه هیپوکامپ پشتی به‌صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی کاهش می‌دهد، بدون اینکه بر روی فعالیت حرکتی تأثیر بگذارد. این نتایج حاکی از اضطراب‌زا بودن هیستامین در ناحیه هیپوکامپ پشتی می‌باشد. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه هم‌سو با مطالعه قبلی ما می‌باشد که با استفاده از دستگاه hole board صورت گرفته بود. نتایج این مطالعه نشان داده بود که تزریق هیستامین باعث کاهش رفتار جستجوگرانه و القاء اضطراب در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌شود [۱۳]. نورون‌های هیستامینرژیک مغز از هسته tuberomammillaris، منشاء گرفته و بخش وسیعی از مغز و نخاع از جمله هیپوکامپ را عصب دهی می‌نمایند [۱٤]. 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]. به‌عنوان نمونه، برخی مطالعات نشان می‌دهند که تزریق هیستامین به بخش مرکزی آمیگدال و بخش شکمی هیپوکامپ باعث القاء اضطراب در تست ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع می‌شود. همچنین، گزارش شده است که تزریق آگونیست اختصاصی گیرنده‌های هیستامینی H1 می‌تواند زمانی که حیوان در بخش روشن دستگاه تست اضطراب جعبه روشن/تاریک می‌گذراند، را کاهش دهد. این یافته‌ها حاکی از اثر اضطراب‌زای هیستامین می‌باشد [۱۸-۱٦]. 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 صحرایی و موش کوچک آزمایشگاهی را کاهش می‌دهند [۱۹]. بر خلاف اکثر گزارش‌هایی که نشان می‌دهند فعال شدن سیستم هیستامینرژیک در مغز باعث القاء اضطراب و تخریب مراکز هیستامینرژیک باعث کاهش اضطراب می‌شود [۱٤]، گزارشی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد هیستامین در ناحیه هیپوکامپ پشتی موش صحرایی دارای اثرات ضد اضطرابی می‌باشد [۲۰]. هیستامین اثر خود را در هیپوکامپ پشتی به‌صورت مستقیم یا غیر مستقیم اعمال می‌نماید. نشان داده شده است که هیپوکامپ، ورودی‌های هیستامینرژیک را از هسته tuberomammillaris دریافت نموده و این ورودی‌ها اثرات تحریکی زیادی بر روی نورون‌های هیپوکامپ دارند. از طرف دیگر نورون‌های هیستامینرژیک می‌توانند به‌صورت غیر مستقیم از طریق نورون‌های کولینرژیک ناحیه سپتوم، عملکرد نورون‌های هیپوکامپ را تحت تأثیر قرار دهند [۲۱] . علاوه بر گزارشات فوق، برخی مطالعات نیز

www.SID.ir

نشان می‌دهند که هیستامین با اثر بر روی گیرنده‌های هیستامینی H3 و به‌واسطه کاهش ساخت و افزایش رهایش هیستامین می‌تواند رفتارهای اضطرابی را تحت تأثیر قرار دهد [٦]. 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 دراین 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 اضطراب‌زای آپومورفین در هیپوکامپ پشتی می‌باشد. در راستای نتایج ما برخی از مطالعات پیشین نیز گزارش نموده‌اند اثر اضطراب‌زای آپومورفین توسط سولپیراید (آنتاگونیست 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 [٢٤]. نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی، نواحی مختلف مغز مانند هسته آکومبنس، پالیدیوم شکمی و هیپوکامپ را عصب دهی می‌کنند [۲۵]. مشخص شده است که مسیرهای ورودی‌های دوپامینرژیک هیپوکامپ پشتی می‌توانند رفتار اضطرابی را تحت تأثیر قرار دهند [۲۷،۲٦]. 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 [٢٦]. 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 اضطراب زایی هر دو برای آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های دوپامینی گزارش شده‌اند. این اختلاف پاسخ مشاهده شده در مورد آپومورفین می‌تواند، به‌صورت اصلی نتیجه تفاوت در دوز دارو و محل تزریق دارو در مغز باشد، هر چند نباید عواملی مانند نوع حیوان به‌کار رفته و نوع تست اضطراب استفاده شده را نیز از نظر دور داشت. با توجه به اینکه هیپوکامپ پشتی ورودی‌های دوپامینرژیک را از ناحیه تگمنتوم شکمی و ورودی‌های هیستامینرژیک را از هسته tuberomammillaris دریافت می‌دارد و هر دو دسته این ورودی‌ها می‌توانند فعالیت نورون‌های هیپوکامپ و رفتار اضطرابی را تحت تاثیر قرار دهند، در بخش آخر این مطالعه برهمکنش 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، به‌صورت معنی‌داری از القاء اضطراب توسط هیستامین جلوگیری می‌کند. به‌عبارت ساده‌تر با وجود اینکه آپومورفین به‌تنهایی باعث القاء اضطراب می‌شود ولی وقتی همراه با هیستامین تزریق می‌گردد، باعث خنثی نمودن اثر اضطراب‌زای 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 شده است؛ به‌عنوان 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 سپتوم، با پیش تیمار با آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی D1 مهار می‌گردد [۳۰]. علت این برهمکنش‌ها اثر متقابل این دو سیستم بر یکدیگر می‌باشد. مدارک موجود نشان می‌دهند که هیستامین می‌تواند فعالیت دوپامینرژیکی را که از ناحیه تگمنتوم 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 حالی‌که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی H1 بازجذب دوپامین از فضای سیناپسی را مهار نموده و از این طریق باعث فعال‌تر شدن سیستم دوپامینی می‌شوند. این یافته‌ها می‌توانند به‌خوبی توجیه‌کننده نتایج به‌دست آمده در این مطالعه باشند، چرا که می‌توانند بیان‌گر این مسئله باشند که پیش تیمار با هیستامین میزان رهایش دوپامین را کاهش داده و تزریق آپومورفین در دوزهای معمولی عملا اثر هیستامین تزریق شده را به واسطه تقویت انتقال پیام‌های دوپامینرژیک خنثی می‌نماید.

نتیجه گیری

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهند که علاوه بر اینکه سیستم دوپامینی و هیستامینی می‌توانند رفتار اضطرابی را در هیپوکامپ پشتی تحت تاثیر 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 قبلا هیستامین دریافت کرده‌اند، باعث مهار اضطراب القاء شده توسط هیستامین می‌شود. به احتمال قوی علت اصلی پاسخ مشاهده شده

www.SID.ir

کاهش رهایش دوپامین توسط هیستامین می‌باشد، به‌عبارت ساده‌تر تزریق اولیه هیستامین باعث کاهش رهایش دوپامین شده و این تضعیف سیستم دوپامینی توسط تزریق آگونیست غیراختصاصی دوپامین (آپومورفین) خنثی می‌گردد. همچنین، این یافته می‌تواند بیان‌گر این مطلب باشد که بخشی از اثرات اضطراب‌زای هیستامین در هیپوکامپ پشتی توسط سیستم دوپامینی میانجی‌گری می‌شود. با وجود نتایج این پژوهش به‌نظر می‌رسد برای اظهار نظر قطعی‌تر در مورد برهمکنش بین این دو سیستم باید از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های اختصاصی دوپامینی به همراه هیستامین در هیپوکامپ پشتی استفاده گردد، که نویسندگان این مقاله در ادامه این پژوهش برای روشن‌تر شدن ابعاد مختلف این برهمکنش پیچیده قصد انجام آن را دارند.

تشکر و قدردانی

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

References:

[1] Leurs R, Traiffort E, Arrang JM, Tardivel-Lacombe 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 micro-dialysis 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

Archive of SID

www.SID.ir

anxiolysis in the elevated plus-maze in rats. ***Basic Clin Pharmacol Toxicol*** 2005; 97(5): 276-81.
[19] Yamatodani A, Fukuda H, Wada H, Iwaeda T, Watanabe T. High performance liquid chromate-graphic determination of plasma and brain histamine without previous purification of biological samples: cation-exchange chromate-graphy 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, Malek-mohammadi 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.

Archive of SID

www.SID.ir