

## اثر گیرنده‌های دوپامینی D1 هیپوکامپ پستی بر رفتار اضطرابی القا شده با هیستامین در موش کوچک آزمایشگاهی

دکتر مرتضی پیری<sup>۱</sup>، الهام ایازی<sup>۲</sup>، دکتر مریم بنانج<sup>۳</sup>، مریم السادات شاهین<sup>۴</sup>

نویسنده‌ی مسئول: اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، دانشکده‌ی علوم biopiri@yahoo.com

دریافت: ۹۰/۶/۶ پذیرش: ۹۰/۸/۲۳

### چکیده

**زمینه و هدف:** گیرنده‌های دوپامینی و هیستامین رفتارهای شبه اضطرابی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به علاوه برهمکنش بین هیستامین و گیرنده‌های دوپامینی D1 در زمینه‌ی تعدیل برخی رفتارها اثبات شده است. در این مطالعه برهمکنش بین هیستامین و گیرنده‌ی دوپامینی D1 در زمینه‌ی رفتار اضطرابی در هیپوکامپ پستی مورد مطالعه قرار گرفت.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی از آزمون ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع برای سنجش رفتارهای شبه اضطرابی مورد استفاده قرار گرفت. موش‌های سوری نر با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید، به علاوه زایلین بی‌هوش شدند و دو کانول در ناحیه‌ی هیپوکامپ پستی آن‌ها قرار داده شد. آنالیز واریانس دوطرفه و یکطرفه (ANOVA) و به دنبال آن تست LSD برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. تمامی آزمایشات مطابق با راهنمای اخلاقی نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت.

**یافته‌ها:** تزریق هیستامین و آگونیست (SKF 38393) و آنتاگونیست (SCH23390) گیرنده‌ی دوپامینی D1 به داخل ناحیه‌ی CA1 باعث القای اضطراب گردید. تزریق SKF 38393 و SCH23390 دو دقیقه بعد از دوز مؤثر هیستامین (۱۰ میکروگرم بر موش) اثرات اضطراب‌زای هیستامین را مهار کرد.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد علاوه بر اینکه هیستامین و گیرنده‌های دوپامینی D1 در تعدیل اضطراب در هیپوکامپ پستی موش سوری نقش دارند، بین آن‌ها یک برهمکنش پیچیده نیز وجود دارد.

**واژگان کلیدی:** SKF 38393، SCH23390، هیستامین، اضطراب، ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع، موش کوچک آزمایشگاهی

### مقدمه

هیپوتالاموس، آمیگدال و بخش میانی قشر پیش پیشانی دارد؛ که همگی از مراکز مهم کنترل اضطراب در مغز می‌باشند (۲ و ۳). همچنین هیپوکامپ با اثر مهارتی که روی محور

مطالعات نشان می‌دهد که هیپوکامپ پستی نقش مهمی در کنترل اضطراب دارد (۱). هیپوکامپ پستی ارتباطات گسترده‌ای با سپتوم، لوکوس سرولتوس، هسته‌ی رافه،

۱- دکترای فیزیولوژی جانوری، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

۲- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۳- دکترای فیزیولوژی جانوری، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۴- کارشناس زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری و عضو باشگاه پژوهشگران جوان تهران

آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی می‌باشند (۱۶). برهمکنش بین سیستم هیستامینی و دوپامینی در برخی مطالعات نشان داده شده است. شواهد بیوشیمیایی و رفتاری نشان می‌دهد که سیستم هیستامینی با عملکرد سیستم دوپامینی مزولیمیک مخالفت نموده، فرآیندهای پاداش و تقویت در مغز را مهار می‌نماید (۱۷ و ۱۵). در بیماری پارکینسون که ناشی از کاهش دوپامین در جسم سیاه است، افزایش سطح هیستامین در مغز (۱۸) و تغییر در فعالیت آنزیم هیستیدین دکروکسیلاز که آنزیم سازنده‌ی هیستامین از ال - هیستیدین می‌باشد؛ گزارش شده است. بررسی جسم سیاه افراد مبتلا به پارکینسون نیز نشان می‌دهد که میزان نورون‌های هیستامینریژیک در قسمت میانی بخش متراکم و مشبک جسم سیاه افزایش می‌یابد (۱۹). با توجه به برهمکنش بین سیستم دوپامینی و هیستامینی و با در نظر داشتن این نکته که هیپوکامپ پستی (۲۰) و گیرنده‌های دوپامینی (۲۱) در تعدیل رفتارهای شبه اضطرابی نقش دارند، در این مطالعه برای اولین بار نقش احتمالی گیرنده‌های دوپامینی D1 هیپوکامپ پستی بر روی اثرات اضطراب‌زای هیستامین با استفاده از ماز به‌علاوه‌ی شکل مرتفع مورد بررسی قرار گرفته است.

### روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی که در گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت، از موش کوچک آزمایشگاهی به وزن تقریبی ۲۲ تا ۲۵ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند؛ استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوانخانه‌ی تحقیقاتی منتقل و در هر قفس ۵ سر موش قرار داده شد. در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت و هر سه روز یکبار قفس موش‌ها تمیز شد. دمای حیوانخانه بین  $22 \pm 3$  درجه‌ی سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. هر حیوان

هیپوتالاموس هیپوفیز دارد، میزان تولید گلوکوکورتیکوئیدها را که مهم‌ترین هورمون استرس در بدن می‌باشند، کاهش می‌دهد (۴). هیپوکامپ پستی ورودی‌های دوپامینریژیک زیادی را از ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی دریافت می‌کند و دارای گیرنده‌های دوپامینی زیادی می‌باشد (۵). مشخص شده است که در شرایط استرس‌زا سطح دوپامین در هیپوکامپ افزایش می‌یابد (۶). دوپامین به ویژه مسیر دوپامینی مزولیمیک نقش مهمی در فرایند ترس و اضطراب دارد (۷ و ۸). دوپامین اثرات خود را از طریق دو دسته گیرنده‌ی دوپامینی D1 و D2 اعمال می‌نماید. گیرنده‌های گروه D1 شامل گیرنده‌ی D1 و D5 و گیرنده‌های گروه D2 شامل گیرنده‌ی D2، D3 و D4 می‌باشند. فعال شدن گیرنده‌های D1 باعث افزایش آدنوزین مونوفوسفات حلقوی در داخل سلول می‌گردد، در حالی که فعال شدن گیرنده‌های D2، سطح آدنوزین مونوفوسفات حلقوی را کاهش می‌دهد (۹ و ۱۰). از طرف دیگر اهمیت سیستم هیستامینی در رفتار اضطرابی در مطالعات پیشین نشان داده شده است. تخریب نورون‌های هیستامینریژیک واقع در قسمت پستی هیپوتالاموس یا تزریق درون بطنی کلروفنیرامین (Chlorpheniramine) که به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های هیستامینی H1 عمل می‌نماید، باعث مهار اضطراب و ترس می‌شود (۱۱). سطح هیستامین در مغز می‌تواند به‌عنوان یک شاخص، نشان دهنده‌ی میزان استرس وارد شده به جاندار باشد، چرا که سرعت ساخت و میزان رهایش هیستامین در بسیاری از مراکز مغزی نظیر دیانسفال، هسته‌ی آکومبوس و هیپوکامپ در پاسخ به محرک‌های استرس‌زا نظیر شوک الکتریکی یا استرس بی‌حرکتی افزایش می‌یابد (۱۲ و ۱۳). جمع بندی مطالعات فوق نشان می‌دهد که تقویت انتقال پیام‌های هیستامینریژیک در مغز باعث افزایش اضطراب و تضعیف انتقال این پیام‌ها باعث کاهش رفتار اضطرابی می‌شود (۱۴ و ۱۵). هر چند گزارشاتی نیز وجود دارد که نشان‌دهنده‌ی اضطراب‌زا بودن برخی از

(OAT%) در ثبت رفتارهای اضطرابی و ضد اضطرابی حیوان دارای حساسیت کمتری است.

**داروها:** داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از هیستامین و آگونیست (SKF 38393) و آنتاگونیست (SCH23390) گیرنده‌ی دوپامینی D1 که از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه گردید. داروها بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل حل شدند و همگی به ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ پشتی تزریق شدند.

**روش جراحی و کانول گذاری در ناحیه‌ی هیپوکامپ پشتی (CA1):** موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به علاوه‌ی زایلزین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. کانول‌های راهنما (۲۳ G) به صورت دو طرفه یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (۲۰۰۱) قرار داده شدند. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی عبارت بود از  $AP = -2$ ،  $ML = +1/6$ ،  $V = -1/5$  (۲۲). بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سمان دندان پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده شد ۵ تا ۷ روز دوره‌ی بهبودی پس از جراحی را به منظور 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 ۳۰ G دندانپزشکی که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد (شماره‌ی ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما ۲۳ G قرار داده شده، در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۶۰ تا ۹۰ ثانیه تزریق شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

فقط یک بار استفاده شد و در گروه هشت‌تایی قرار گرفت. همه‌ی آزمایش‌ها در طول روز انجام شد.

**دستگاه تست اضطراب و نحوه‌ی انجام تست رفتاری:** برای سنجش اضطراب از مدل رفتاری ماز به‌علاوه‌ی شکل مرتفع (Elevated Plus-Maze) استفاده شد. این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت به‌علاوه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته  $40 \times 7$  است که در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیوارهایی به بلندی ۱۰ سانتی‌متر قرار دارد. برای جلوگیری از سقوط موش‌های کوچک آزمایشگاهی، در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه‌هایی به ارتفاع یک سانتی‌متر از جنس شیشه تعبیه شده است. ماز به وسیله‌ی پایه‌هایی در ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر از سطح زمین قرار می‌گیرد. موش‌ها درون محدوده‌ی مرکزی و رو به یک بازوی باز قرار گرفتند. در مدت پنج دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کرد، چهار پارامتر به روش مشاهده اندازه‌گیری شد. 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. مجموع ورود حیوان به بازوهای باز و بسته در مدت پنج دقیقه نشانگر فعالیت حرکتی حیوان بود. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز [Open Arm Entries (%OAE)] و درصد زمان ماندن در بازوی باز [Open Arm Times (%OAT)] نیز به طریق زیر محاسبه شد (۱۳، ۱۵).

$$\text{درصد ورود به بازوی باز} = \left( \frac{\text{تعداد ورود به بازوی باز}}{\text{تعداد ورود به بازوی بسته} + \text{تعداد ورود به بازوی باز}} \right) \times 100$$

$$\text{درصد ماندن در بازوی باز} = \left( \frac{\text{مدت ماندن در بازوی باز}}{\text{مدت ماندن در بازوی بسته} + \text{مدت ماندن در بازوی باز}} \right) \times 100$$

افزایش معنادار این دو پارامتر نشان دهنده‌ی کاهش اضطراب در این تست است. البته عامل درصد ورود به بازوی باز (OAE%) نسبت به فاکتور درصد زمان حضور در بازوی باز

**بافت شناسی:** پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفورم با تزریق رنگ متیلن بلو ۴ درصد (۱ میکرولیتر) به داخل هر دو کانول، مغز از درون مجسمه بیرون آورده شده، و درون فرمالین ۱۰ درصد 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 به وسیله‌ی میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه‌ی مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده شد. 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 همه‌ی آزمایش‌ها درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز به عنوان ملاک رفتار اضطرابی اندازه‌گیری شد. همچنین میزان فعالیت حرکتی حیوان نیز به صورت همزمان اندازه‌گیری گردید. نمره‌ی هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد (Mean  $\pm$  SD) ثبت گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنادار بین گروه‌های آزمایش، از روش تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون مکمل LSD استفاده گردید. اختلاف در سطح  $P < 0.05$  به عنوان تفاوت معنادار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Sigma plot استفاده شد.

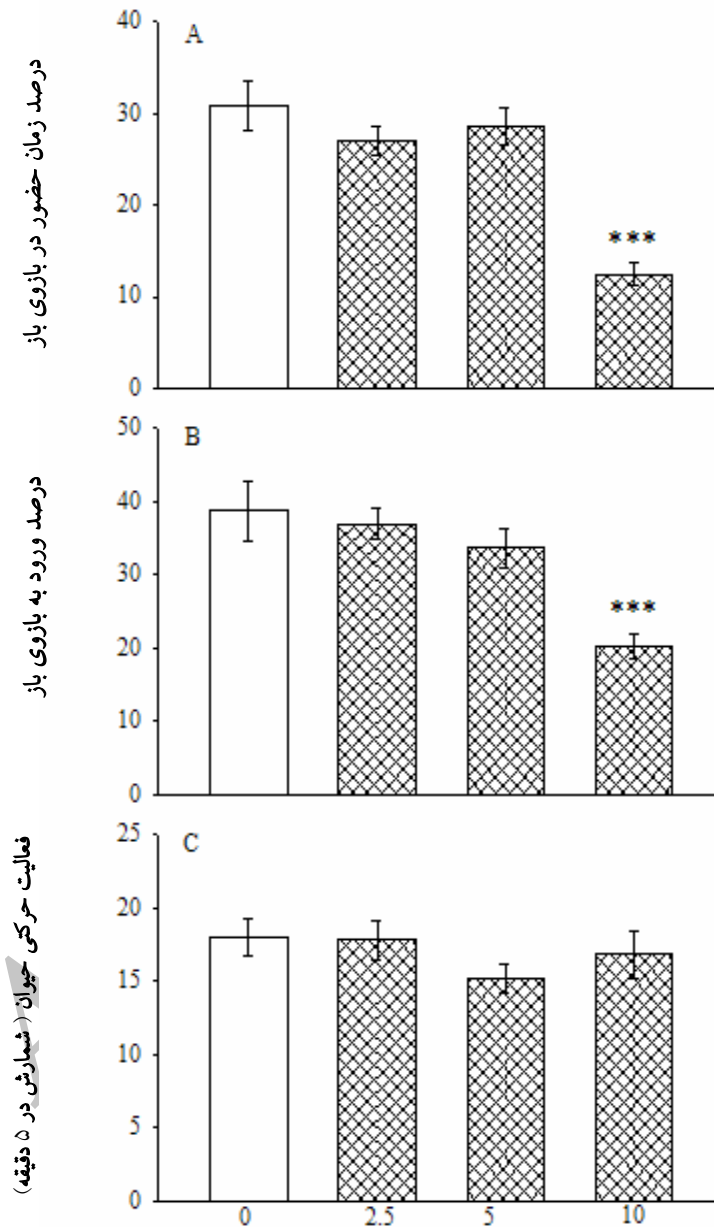
#### یافته‌ها

**آزمایش اول:** اثر هیستامین در هیپوکامپ پستی بر روی رفتار اضطرابی در موش کوچک آزمایشگاهی نتایج آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مکمل LSD نشان داد که تزریق هیستامین (۱۰ میکروگرم) به ناحیه‌ی هیپوکامپ پستی موش کوچک آزمایشگاهی به صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز  $[F(3/28) = 9/61, P < 0.001]$  و درصد ورود به بازوی باز  $[F(3/28) = 11/27, P < 0.001]$  را کاهش می‌دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان

اثر معنی‌داری ندارد  $[F(3/28) = 0/85, P > 0.05]$ .  
**آزمایش دوم:** اثر تزریق SKF 38393 به هیپوکامپ پستی در حضور و غیاب هیستامین بر روی رفتار اضطرابی نتایج تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد که فاکتور اول (هیستامین) به صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز  $[F(1/27) = 7/17, P < 0.01]$  را تغییر می‌دهد، اما اثر معنی‌داری بر روی درصد ورود به بازوی باز  $[F(1/27) = 0/56, P > 0.05]$  و فعالیت حرکتی حیوان  $[F(1/27) = 0/54, P > 0.05]$  ندارد. آنالیز واریانس دو طرفه همچنین مشخص نمود که فاکتور دوم (مقادیر مختلف SKF 38393) به صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز  $[F(3/72) = 11/21, P < 0.001]$  را تغییر می‌دهد، اما اثر معنی‌داری بر روی درصد ورود به بازوی باز  $[F(3/72) = 2/05, P > 0.05]$  و فعالیت حرکتی  $[F(3/72) = 0/36, P > 0.05]$  ندارد. آنالیز واریانس دو طرفه همچنین مشخص نمود که بین فاکتور اول و دوم (مقادیر مختلف SKF 38393  $\times$  هیستامین) در زمینه‌ی درصد زمان حضور در بازوی باز  $[F(3/72) = 9/80, P < 0.001]$  و درصد ورود به بازوی باز  $[F(3/72) = 7/97, P < 0.001]$  برهمکنش وجود دارد ولی این دو فاکتور حتی همراه با هم نیز اثر معنی‌داری بر روی فعالیت حرکتی  $[F(3/72) = 1/22, P > 0.05]$  ندارند. در ادامه نتایج آنالیز واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف SKF 38393 در غیاب هیستامین به صورت معنی‌دار درصد زمان حضور در بازوی باز  $[F(3/36) = 12/62, P < 0.001]$  و درصد ورود به بازوی باز  $[F(3/36) = 3/83, P < 0.05]$  را کاهش می‌دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد  $[F(3/36) = 0/63, P > 0.05]$  (نمودار ۲). از طرف دیگر نتایج آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مکمل LSD نشان داد که در حضور دوز موثر هیستامین، تزریق SKF 38393 به هیپوکامپ پستی اثر اضطراب‌زای هیستامین را مهار می‌نماید و

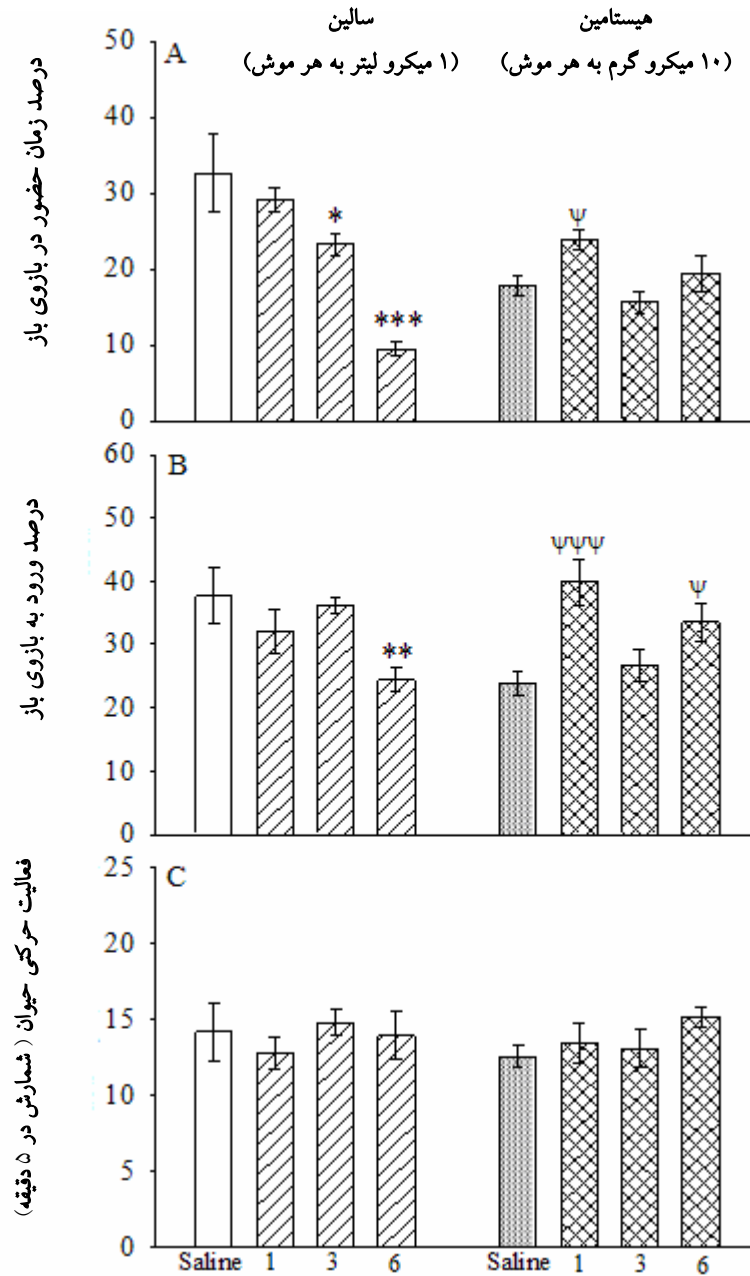
هیستامین را به تنهایی دریافت کرده است، افزایش می‌دهد بدون اینکه بر روی فعالیت حرکتی حیوان [F (۳/۳۶)= ۰/۸۶, P>۰/۰۵] اثری داشته باشد.

به صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز [F (۳/۳۶)= ۴/۳۲, P<۰/۰۵] و درصد حضور در بازوی باز را در مقایسه با گروهی که [F (۳/۳۶)= ۶/۳۳, P<۰/۰۱]



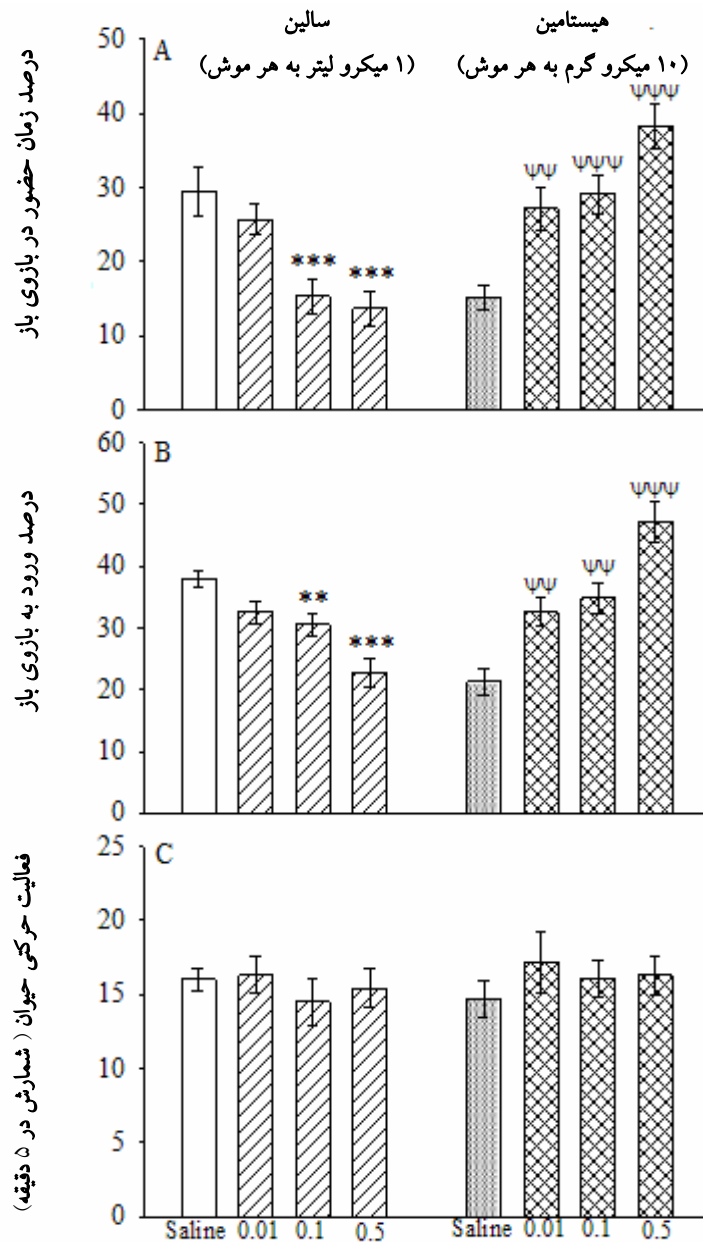
هیستامین (میکروگرم به هر موش)

نمودار ۱: اثر تزریق هیستامین به ناحیه‌ی هیپوکامپ پشتی بر روی درصد حضور در بازوی باز، درصد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان  $P < ۰/۰۰۱$  در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.



### SKF 38393 (میکروگرم به هر موش)

نمودار ۲: اثر تزریق SKF 38393 به ناحیه‌ی هیپوکامپ پشتی بر روی درصد حضور در بازوی باز، درصد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان  $P < 0.001$ ،  $P < 0.01$ ،  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه سالیین و  $P < 0.001$ ،  $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$  در مقایسه با هیستامین می‌باشد.



### SCH 23390 (میکروگرم به هر موش)

نمودار ۳: اثر تزریق SCH 23390 به ناحیه هیپوکامپ پستی بر روی درصد حضور در بازوی باز، درصد ورود به بازوی باز و فعالیت حرکتی حیوان  $P < 0.001$ ،  $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه سالین و  $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$  در مقایسه با هیستامین می‌باشد.

تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد که فاکتور اول (هیستامین) به صورت معنی‌داری در صد زمان حضور در بازوی باز

آزمایش سوم: اثر تزریق SCH 23390 به هیپوکامپ پستی در حضور و غیاب هیستامین بر روی رفتار اضطرابی نتایج

حرکتی حیوان  $[F(3/36) = 0/70, P > 0/05]$  اثری داشته باشد.

### بحث

در مطالعه‌ی حاضر برهمکنش هیستامین و گیرنده‌های دوپامینی D1 در هیپوکامپ پستی در زمینه‌ی رفتار اضطرابی با استفاده از ماز به علاوهای شکل مرتفع مورد بررسی قرار گرفته است. همسو با مطالعات قبلی ما نتایج این پژوهش نیز تاکید کننده‌ی اضطراب‌زا بودن هیستامین در ناحیه‌ی هیپوکامپ پستی موش کوچک آزمایشگاهی می‌باشد (۱۳-۱۵)، (۱). مطالعات پیشین نشان می‌دهد که تزریق هیستامین به بخش مرکزی آمیگدال و بخش شکمی هیپوکامپ باعث القای اضطراب در تست ماز به علاوهای شکل مرتفع می‌شود (۲۳). همچنین نشان داده شده است که طیف وسیعی از استرس‌ها که باعث القای اضطراب می‌شوند، رهایش هیستامین در مغز را افزایش می‌دهند، درحالی‌که مصرف داروهای ضد اضطراب مانند دیازپام، بنزودیازپین‌ها و بوسپیرون سرعت turnover هیستامین در مغز موش‌های صحرایی و موش کوچک آزمایشگاهی را کاهش می‌دهند (۲۴). در ادامه این مطالعه اثر آگونیست و آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌ی D1 دوپامینی بر رفتار اضطرابی و اضطراب القا شده با هیستامین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که آگونیست (SKF 38393) و آنتاگونیست (SCH 23390) گیرنده‌ی دوپامینی D1 هنگام تزریق به ناحیه‌ی هیپوکامپ باعث القای اضطراب می‌شوند. همسو با نتایج به دست آمده در این مطالعه گزارشاتی مبنی بر اضطراب‌زا بودن آپومورفین (آگونیست غیراختصاصی گیرنده‌های دوپامینی D1 و D2) منتشر شده است (۱۵ و ۲۵). مطالعات پیشین همچنین نشان می‌دهند که میزان رهایش دوپامین در پی قرارگیری در معرض طیف وسیعی از استرس‌های حاد و مزمن افزایش می‌یابد (۲۶). اکثر مطالعات پیشین نشان می‌دهند که فعال شدن بیش از حد مسیر

$[F(1/72) = 12/46, P < 0/01]$  و درصد ورود به بازوی باز  $[F(1/72) = 4/53, P < 0/05]$  را تغییر می‌دهد، بدون اینکه فعالیت حرکتی حیوان  $[F(1/72) = 0/28, P > 0/05]$  را تغییر دهد. آنالیز واریانس دو طرفه همچنین مشخص نمود که فاکتور دوم (مقادیر مختلف SCH 23390) به تنهایی اثر معنی‌داری بر روی در صد زمان حضور در بازوی باز  $[F(3/72) = 1/58, P > 0/05]$ ، درصد ورود به بازوی باز  $[F(3/72) = 1/79, P > 0/05]$  و فعالیت حرکتی  $[F(3/72) = 0/47, P > 0/05]$  ندارد. در ادامه آنالیز واریانس دو طرفه مشخص نمود که بین فاکتور اول و دوم (مقادیر مختلف SCH 23390 × هیستامین) در زمینه‌ی درصد زمان حضور در بازوی باز  $[F(3/27) = 21/33, P < 0/001]$  و درصد ورود به بازوی باز  $[F(3/27) = 26/98, P < 0/001]$  برهمکنش وجود دارد، ولی این دو فاکتور حتی همراه با هم نیز اثر معنی‌داری بر روی و فعالیت حرکتی واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق مقادیر مختلف SCH 23390 در غیاب هیستامین به ناحیه‌ی هیپوکامپ پستی به صورت معنی‌دار درصد زمان حضور در بازوی باز  $[F(3/36) = 9/24, P < 0/001]$  و درصد ورود به بازوی باز  $[F(3/36) = 11/38, P < 0/001]$  را کاهش می‌دهد، اما بر روی فعالیت حرکتی حیوان اثر معنی‌داری ندارد  $[F(3/36) = 0/40, P > 0/05]$  (نمودار ۳). از طرف دیگر نتایج آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مکمل LSD نشان داد که در حضور دوز موثر هیستامین، تزریق SCH 23390 به هیپوکامپ پستی اثر اضطراب‌زای هیستامین را مهار می‌نماید و به صورت معنی‌داری درصد زمان حضور در بازوی باز  $[F(3/36) = 13/64, P < 0/05]$  و درصد ورود به بازوی باز  $[F(3/36) = 15/88, P < 0/01]$  را در مقایسه با گروهی که هیستامین را به تنهایی دریافت کرده است، افزایش می‌دهد بدون اینکه بر روی فعالیت



اثرات رفتاری القا شده با داروهای هیستامینی می‌باشند، به‌عنوان نمونه گزارش شده است که حساسیت القا شده با آگونیست گیرنده‌ی دوپامینی (آپومورفین) بر روی فراموشی القا شده با هیستامین اثر نموده، باعث بهبود حافظه‌ی تخریب شده با هیستامین می‌شود (۲۹). مطالعات فارماکولوژیکی نشان می‌دهد که هیستامین آزاد سازی دوپامین را مهار می‌نماید (۱۵ و ۳۰). در حالی که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی H1 به واسطه‌ی مهار بازجذب دوپامین از فضای سیناپسی باعث فعال‌تر شدن سیستم دوپامینی می‌شوند. با توجه به اینکه هیستامین باعث کاهش رهایش دوپامین می‌شود، می‌توان این احتمال را مطرح کرد که آگونیست گیرنده‌های D1 یعنی SKF 38393 با تقویت عملکرد سیستم دوپامینی اثر القا شده با هیستامین را خنثی نموده، جلوی اثرات اضطراب‌زای هیستامین را می‌گیرد. از طرف دیگر با توجه به اینکه آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌ی دوپامینی D1 اثر یکسانی را بر روی پاسخ اضطرابی القا شده با هیستامین اعمال نموده‌اند، دو احتمال مطرح می‌شود. احتمال اول این است که دوپامین نقش تعدیل‌کننده بر روی رفتار اضطرابی داشته باشد و احتمال دوم این است که آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی D1 با اثر بر روی اتورسپتورهای پیش‌سیناپسی باعث افزایش رهایش دوپامین شده و اثر تضعیفی هیستامین بر روی سیستم دوپامینی را جبران نموده است. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه چنین به نظر می‌رسد که آگونیست‌های گیرنده‌ی دوپامینی D1 با اثر بر روی گیرنده‌های پس‌سیناپسی دوپامینی و آنتاگونیست‌های D1 با اثر بر روی اتورسپتورهای پیش‌سیناپسی عملکرد سیستم دوپامینی را تقویت نموده، با اثر تضعیف‌کننده‌ی هیستامین بر روی سیستم دوپامینی مقابله نموده است.

### نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که علاوه

دوپامینی مزولیمبیک باعث القای ترس و اضطراب می‌شود و مهار این مسیر پاسخ ترس و اضطراب را کاهش می‌دهد (۲۷). با توجه به اینکه استرس‌های حاد باعث افزایش سطح دوپامین در قشر پیش‌پیشانی (۲۸) و هیپوکامپ (۶) می‌شوند، به نظر می‌رسد که آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی دوپامینی باید خاصیت ضد اضطرابی داشته باشند، اما شواهد به‌دست آمده در این مطالعه و برخی مطالعات دیگر نشان می‌دهد که نقش سیستم دوپامینی در اختلالات اضطرابی بسیار پیچیده می‌باشد. در مطالعات رفتاری انجام شده اثرات ضد اضطرابی و اضطراب‌زایی برای آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های دوپامینی گزارش شده‌اند. این اختلاف پاسخ مشاهده شده در مورد آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی دوپامینی D1، به صورت اصلی می‌تواند نتیجه‌ی تفاوت در دوز 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 پستی ورودی‌های دوپامینرژیک را از ناحیه‌ی تگمیتوم شکمی و ورودی‌های هیستامینرژیک را از قسمت خلفی هیپوتالاموس دریافت می‌کند و هر دو دسته این ورودی‌ها می‌توانند فعالیت نورون‌های هیپوکامپ و رفتار اضطرابی را تحت تاثیر قرار دهند (۵ و ۱۵)، در بخش آخر این مطالعه برهمکنش هیستامین با گیرنده‌های دوپامینی D1 در زمینه‌ی رفتار اضطرابی در هیپوکامپ پستی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ما در این مطالعه نشان داد که تزریق آگونیست (SKF 38393) و آنتاگونیست (SCH 23390) گیرنده‌ی دوپامینی D1 به موش‌هایی که تحت تاثیر دوز موثر هیستامین بوده‌اند، قادر به مهار اضطراب القا شده با هیستامین می‌باشند. این یافته نشان دهنده‌ی برهمکنش بین گیرنده‌ی دوپامینی D1 و سیستم هیستامینی در زمینه‌ی رفتار اضطرابی در هیپوکامپ پستی می‌باشد. همسو با نتایج به‌دست آمده در این مطالعه گزارشات و وجود دارد که نشان می‌دهد داروهای دوپامینی قادر به مهار

باعث مهار اضطراب القا شده توسط هیستامین می‌شوند.

### تقدیر و تشکر

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

### References

- 1- Shahab Z, Bananej M, Piri M, Shahin M-s, Zarrindast MR. Influence of nicotine and nitric oxide on anxiety behavior in mice. *Pejouhesh*. 2011; 35: 106-13.
- 2- Piri M, Nasehi M, Zarrindast M. Influence of Intracerebral Administration of L-Arginine in Dorsal Hippocampus (CA1) on WIN55, 212-2 Induced State-Dependent Memory. *J Zanzan Uni Med Sci*. 2010; 18: 10-21.
- 3- Amaral DG. The primate amygdala and the neurobiology of social behavior: implications for understanding social anxiety. *Biol Psychiatry*. 2002; 51: 11-7.
- 4- de Kloet ER. Hormones, brain and stress. *Endocr Regul*. 2003; 37: 51-68.
- 5- Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine. *Prog Neurobiol*. 2001; 63: 637-72.
- 6- Yamato T, Yamasaki S, Misumi Y, Kino M, Obata T, Aomine M. Modulation of the stress response by coffee: an in vivo microdialysis study of hippocampal serotonin and dopamine levels in rat. *Neurosci Lett*. 2002; 332: 87-90.
- 7- Millan MJ. The neurobiology and control of anxious states. *Prog Neurobiol*. 2003; 70: 233-44.
- 8- Stein DJ, Westenberg HG, Liebowitz MR. Social anxiety disorder and generalized anxiety disorder: serotonergic and dopaminergic neurocircuitry. *J Clin Psychiatry*. 2002; 63 Suppl 6: 12-9.
- 9- Sealfon SC, Olanow CW. Dopamine receptors: from structure to behavior. *Trends Neurosci*. 2000; 23: S34-40.
- 10- Nasehi M, Piri M, Shahin M, Zarrindast M. Involvement of D1/D2 receptors on 1-methyl- $\hat{1}$ '-carboline (Harmane) induced-amnesia in the step-down passive avoidance test. *J Zanzan Uni Med Sci*. 2010; 18: 1-12.
- 11- Hasenohrl RU, Weth K, Huston JP. Intraventricular infusion of the histamine H(1) receptor antagonist chlorpheniramine improves maze performance and has anxiolytic-like effects in aged hybrid Fischer 344xBrown Norway rats. *Exp Brain Res*. 1999; 128: 435-40.
- 12- Westerink BH, Cremers TI, De Vries JB, Liefers H, Tran N, De Boer P. Evidence for activation of histamine H3 autoreceptors during

- handling stress in the prefrontal cortex of the rat. *Synapse*. 2002 15; 43: 238-43.
- 13- Asgarian M, Piri M, Benanj M, Shahin MS, Zarin Dast MR. Role of nitric oxide system of dorsal hippocampus in the histamine-induced anxiogenic-like response. *Kowsar Medical Journal*. 2011; 16: 137-43.
- 14- 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: 387-96.
- 15- Ayazi E, Piri M, Bananej M, Shahin M, Zarrindast M. Interaction between apomorphine and histaminergic system of mouse dorsal hippocampus in the elevated plus-maze test of anxiety. *Feyz*. 2011; 15: 105-13.
- 16- 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; 71: 313-8.
- 17- Korotkova TM, Haas HL, Brown RE. Histamine excites GABAergic cells in the rat substantia nigra and ventral tegmental area in vitro. *Neurosci Lett*. 2002; 320: 133-6.
- 18- Rinne JO, Anichtchik OV, Eriksson KS, et al. Increased brain histamine levels in parkinson's disease but not in multiple system atrophy. *J Neurochem*. 2002; 81: 954-60.
- 19- Anichtchik OV, Rinne JO, Kalimo H, Panula P. An altered histaminergic innervation of the substantia nigra in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2000; 163: 20-30.
- 20- Bannerman DM, Grubb M, Deacon RM, Yee BK, Feldon J, Rawlins JN. Ventral hippocampal lesions affect anxiety but not spatial learning. *Behav Brain Res*. 2003; 139: 197-213.
- 21- Corrigall WA, Franklin KB, Coen KM, Clarke PB. The mesolimbic dopaminergic system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. *Psychopharmacol (Berl)*. 1992; 107: 285-9.
- 22- Paxinos G, Franklin KBJ. The mouse brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press; 2001.
- 23- 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: 891-6.
- 24- 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; 344: 115-23.
- 25- Del Arco A, Mora F. Prefrontal cortex-nucleus accumbens interaction: in vivo modulation by dopamine and glutamate in the prefrontal cortex. *Pharmacol Biochem Behavior*. 2008; 90: 226-35.
- 26- 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: 4787-98.

27- Pezze MA, Feldon J. Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Prog Neurobiol.* 2004; 74: 301-20.

28- Dazzi L, Spiga F, Pira L, et al. Inhibition of stress- or anxiogenic-drug-induced increases in dopamine release in the rat prefrontal cortex by long-term treatment with antidepressant drugs. *J Neurochem.* 2001;76: 1212-20.

29- 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: 108-16.

30- Prast H, Heistracher M, Philippu A. Modulation by dopamine receptors of the histamine release in the rat hypothalamus. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1993; 347: 301-5.

Archive of SID

## ***Influence of Dopamine D1 Receptors of the Dorsal Hippocampus on the Histamine-Induced Anxiety Behavior in Mice***

Piri M<sup>1</sup>, Ayazi E<sup>2</sup>, Bananej M<sup>2</sup>, Shahin MS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biology, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, Iran

<sup>2</sup>Dept. of Biology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Young Researchers Club, Islamic Azad University Shahr-e-rey Branch, Tehran, Iran

***Corresponding Author:*** Piri M, Dept. of Biology, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, Iran

***E-mail:*** biopiri@yahoo.com

**Received:** 28 Aug 2011      **Accepted:** 14 Nov 2011

***Background and Objective:*** Dopamine receptors and histamine influence anxiety-like behaviors. Furthermore, interaction between histamine and dopaminergic D1 receptors has been demonstrated in the modulation of some behavior. In the present study, we investigated the interaction between histamine and dopaminergic D1 receptors in the dorsal hippocampus in the anxiety behavior in mice.

***Materials and Methods:*** In this experimental study, the elevated plus maze test was used to test anxiety-like behaviors. Mice were anesthetized with intra-peritoneal injection of ketamine hydrochloride, plus xylazine, and two stainless-steel cannulae were placed in the CA1 region of the hippocampus. Two- and one-way analyses of variance (ANOVAs), followed by LSD test, were used for data analysis. All experiments were performed in accordance with the institutional guidelines for animal care and use.

***Results:*** Intra-CA1 injection of histamine and D1 dopamine agonist (SKF 38393) and antagonist (SCH23390) induced anxiety. Intra-CA1 injection SKF 38393 or SCH23390 2 min after of effective dose of histamine (10µg/mouse) inhibited anxiogenic effects of histamine.

***Conclusion:*** It seems that both histamine and dopaminergic D1 receptors play a role in the modulation of anxiety in the dorsal hippocampus of mice, and there is a complex interaction between them.

***Keywords:*** SKF 38393, SCH23390, Histamine, Anxiety, Elevated plus-maze, Mouse