

بررسی میان‌کنش سیستم‌های گابائریک سپتومی و دوپامینرژیک هیپوکامپی در تعدیل رفتارهای شبه اضطرابی در رت‌های نژاد ویستار

*شهربانو عریان، فرهاد ولی‌زادگان، طاهره‌السادات طباطبایی:
دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی

چکیده

سپتوم و هیپوکامپ به‌صورت توأمان در کنترل اضطراب نقش دارند. در این پژوهش، میان‌کنش احتمالی بین سیستم‌های گابائریک سپتومی و دوپامینرژیک هیپوکامپی در تست EPM به‌عنوان مدل سنجش اضطراب بررسی شده است. تزریق دوز ۱۰ نانوگرم موسیمول، آگونیست رسپتور گابا-A، در هسته سپتوم میانی، تأثیر اضطراب‌زدایی داشت، درحالی‌که دوزهای پایین‌تر آن (۲/۵ و ۵ نانوگرم)، هیچ تأثیری نداشتند. تزریق دوزهای بالاتر (۵ و ۱۰ نانوگرم) باکلوفن، آگونیست رسپتور گابا-B، در هسته سپتوم میانی، در همان جای‌گاه، حضور در بازوی باز را در تست EPM کاهش داد. اما دوز پایین‌تر (۰/۱ نانوگرم)، تأثیری نداشت. تزریق آپومورفین، آگونیست رسپتور D1/D2 دوپامین به درون هسته هیپوکامپ پشتی، تأثیرات متضادی بر رفتارهای شبه‌اضطرابی به‌صورت وابسته به دوز داشت. دوز پایین آپومورفین (۰/۰۰۵ میکروگرم) درصد حضور و ورود به بازوی باز را افزایش داد، در حالی‌که دوزهای میانی (۰/۰۱ و ۰/۰۵ میکروگرم) این پارامترها را تغییر نداد. ولی دوز ۱/۰ این پارامترها را کاهش داد. تزریق توأمان دوزهای بی‌اثر آپومورفین (۰/۰۱ میکروگرم) و موسیمول (۲/۵ نانوگرم)، به‌ترتیب به‌درون هیپوکامپ پشتی و سپتوم میانی، رفتارهای شبه‌اضطرابی را به‌صورت معنی‌داری کاهش داد. در حالی‌که تزریق توأمان دوزهای بی‌اثر آپومورفین (۰/۰۱ و ۰/۰۵ میکروگرم) و باکلوفن (۰/۱ نانوگرم) اثر اضطراب‌زایی ایجاد کرد. نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً سیستم‌های دوپامینرژیک هیپوکامپی و گابائریک سپتومی به‌صورت سینرژیک (هم‌افزا) در تعدیل اضطراب نقش داشته و دخالت دوپامین در این زمینه وابسته به دوز است.

مقدمه

شواهد متعددی ثابت کرده‌اند که سپتوم در ترس و اضطراب نقش دارد. تخریب و یا مهار فارماکولوژیکی این ناحیه، واکنش‌های ترس را در رت‌ها کاهش می‌دهد. این موضوع نشان می‌دهد که سپتوم به‌صورت طبیعی نقش تحریکی در کنترل اضطراب دارد [۱۰]، [۱۱]. به‌ویژه، آسیب‌های الکترولیتیک یا تحریلی-سمی سپتوم موجب ایجاد تأثیرات شبه اضطراب‌زدایی در تست^۱ (EPM) می‌شود (پسول^۲ و تریت^۳ ۱۹۹۰). این تأثیرات

واژه‌های کلیدی: دوپامین، گابا، هیپوکامپ پشتی، سپتوم میانی، اضطراب

پذیرش ۹۰/۷/۱۷

دریافت ۸۹/۱۲/۱

shahrbano_oryan@yahoo.com

*نویسنده مسئول

۱. elevated plus maze

۲. Pesold

۳. Treit

اضطراب‌زدایی، هنگامی‌که فعالیت سپتومی از طریق تزریقات درون سپتومی اضطراب‌زدهای نوع بنزودیازپین مثل میدازولام که يك آگونیست غیرمستقیم گاباست، مهار شود، نیز تولید می‌شود [۱۵].

به‌کارگیری موسیمول به‌عنوان يك آگونیست مستقیم نیز چنین پاسخ‌هایی را ایجاد می‌کند [۴]. هیپوکامپ نیز در تعدیل واکنش‌های ترس در رت‌ها نقش ایفا دارد [۲]، [۲۱]. از نظر ساختاری، میان‌کنش بین سپتوم و هیپوکامپ در تنظیم اضطراب، نشان‌دهنده ارتباط‌های متقابل و وسیع بین این دو ناحیه است [۱۲]. هیپوکامپ يك ارسال گابائرتریک به سپتوم میانی و يك ارسال گلوتاماترتریک به سپتوم جانبی می‌فرستد. ارسالات گابائرتریک از سلول‌های غیرهرمی در (oriens stratum) ناحیه CA1-CA3 منشأ گرفته و نورون‌های کولینرتریک و غیرکولینرتریک را عصب‌دهی می‌کنند [۱]. مسیر گلوتاماترتریک از سلول‌های هرمی برخاسته و روی نورون‌های گابائرتریک سپتوم جانبی خاتمه می‌یابد [۲۲]. مسیر اخیر ممکن است به‌ویژه حائز اهمیت زیادی باشد، زیرا تأثیرات اضطراب‌زدای تزریق میدازولام به‌درون هیپوکامپ می‌تواند با تزریق هم‌زمان گلوتامات به‌درون سپتوم جانبی آنتاگونیزه شود [۲۰].

هدف پژوهش حاضر، ارائه شواهدی برای میان‌کنش سپتومی-هیپوکامپی در تعدیل اضطراب از طریق تحریک سیستم‌های گابائرتریک سپتومی و دوپامینرتریک هیپوکامپی به‌صورت مستقل از هم یا به‌صورت هم‌زمان است.

برای نشان دادن میان‌کنش، دوزهای بی‌اثر موسیمول و آپومورفین را به‌ترتیب در سپتوم و هیپوکامپ به‌صورت هم‌زمان و دوزهای بی‌اثر باکلوفن و آپومورفین را در همان جای‌گاه‌ها و به‌صورت هم‌زمان تزریق شد. اگر سپتوم و هیپوکامپ، متفقاً در کنترل اضطراب نقش داشته باشند، پس دوزهای بی‌اثر باید به‌صورت سینرژیک عمل کرده و اضطراب را تعدیل کنند.

مواد و روش‌ها

۱. حیوانات مورد آزمایش

رت‌های نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور؛ تهران؛ ایران) با وزن 20 ± 220 گرم در زمان جراحی استفاده شدند. حیوانات به‌صورت گروه‌های چهارتایی در يك قفس و در اتاق حیوانات با چرخه نور/ تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت (دوره روشنایی از ۷ تا ۱۹) و دمایی معادل 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات به‌جز در زمان آزمایش‌ها، آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. به رت‌ها اجازه داده می‌شد که خود را به‌مدت حداقل يك هفته قبل از جراحی با شرایط آزمایشگاه سازگار کنند. همه آزمایش‌ها بین ساعات ۹ و ۱۳ انجام گرفت. رت‌ها حدود ۵ دقیقه در هر روز و قبل از تست رفتاری مورد نوازش (handling) قرار می‌گرفتند. شش حیوان در هر گروه آزمایشی استفاده می‌شد.

۲. جراحی استریوتاکسیک و ریزتزریقات

رت‌ها با ترکیب کتامین هیدروکلراید به نسبت (۱۰ میلی لیتر) و نسبت زایلین (۲ میلی لیتر) که به صورت درون صفاتی تزریق می‌شود، بیهوش شدند. سپس در یک دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند (USA, *stoelting co, Illinois*). مختصات استریوتاکسی برای تزریق به‌درون سپتوم میانی بر اساس اطلس پاکسینوس^۱ و واتسون^۲ (۲۰۰۷) عبارت است از $1/2+$ قدام برگما، در بخش جانبی خط میانی و $5/5$ میلی‌متر در بخش شکمی سطح پشتی مجمه. یک کانول راهنما از جنس استیل ضد زنگ (۲۲ گیج) به‌صورت یک‌طرفه در سپتوم میانی کاشته شد، به‌طوری‌که ۱ میلی‌متر بالای جای‌گاه تزریق قرار گرفت. مختصات استریوتاکسیک برای هیپوکامپ پشتی (CA1) به‌صورت $3/3-$ به‌صورت شکمی از سطح مجمه، $2/2$ میلی‌متر خلف نقطه برگما و $4/2 \pm$ میلی‌متر در بخش جانبی خط میانی است. انتهای کانول راهنما، ۱ میلی‌متر بالای نقطه تزریق قرار گرفت. سپس کانول‌های کاشته شده در مجمه با سیمان اکریلیک دندانپزشکی ثابت شدند. برای جلوگیری از بسته شدن کانال‌های راهنما از سر سوزن‌های ۲۷ گیج استفاده شد، به‌طوری‌که آن‌ها تا زمان انجام تست در درون کانول‌های راهنما قرار داشتند. حیوانات به مدت ۷ روز قبل از تست دوره ریکاوری را طی کردند. برای تزریق دارو، سرسوزن مذکور برداشته شد و با یک واحد تزریق (شامل یک سر سوزن ۲۷ گیج دندانپزشکی همراه با تیوب لازم برای تزریق) جای‌گزین گشت. انتهای واحد تزریق مذکور در $0/5$ و ۱ میلی‌متری پایین کانول راهنما به‌ترتیب برای سپتوم میانی و هیپوکامپ پشتی قرار گرفت. هر واحد تزریق که واجد یک تیوب پلی‌اتیلن است از ماده تزریقی مورد نظر پر شده و با سرنگ $2/5$ میکرولیتری همیلتون تزریق شد. حیوانات تزریقی معادل ۱ میکرولیتر در طی بیش از ۶۰ ثانیه دریافت کردند.

در مورد تزریقات دوتایی (به‌درون CA1)، $0/5$ میکرولیتر در هر طرف تزریق شد. در پایان بررسی، تزریق ۱ میکروگرم محلول ۱ درصد متیلن‌بلو انجام گرفت. سپس رنگ تزریق شده در هیپوکامپ و سپتوم میانی بررسی شد تا مورد شناسایی و تأیید درستی جای‌گاه تزریق قرار گیرد.

۳. ماز به‌اضافه بالارونده^۳

EPM یک تست مفید برای بررسی اثرات عناصر اضطراب‌زا و اضطراب‌زدا در جوندگان است [۶]، [۹]، [۱۴]. حیوانات، یک ساعت قبل از تست با اتاق تست سازگار شدند. EMP ۵۰ سانتی‌متر طول $10 \times$ سانتی‌متر عرض دارد و واجد دو بازوی باز و دو بازوی بسته است. دو بازوی بسته دارای دیواره‌های سیاه‌رنگ با ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر است. بازوها به‌وسیله یک محوطه مرکزی با ابعاد $10 \times$ سانتی‌متر $10 \times$ سانتی‌متر به هم مربوط هستند. برای جلوگیری از سقوط حیوان، نواری از جنس پلکسی گلاس (با ارتفاع $0/5$ سانتی‌متر) در دور بازوهای باز نصب می‌شود. ۷ روز پس از کاشت کانول‌ها، اثرات تزریق داروها به‌درون سپتوم و هیپوکامپ

۱. Paxinos

۲. Watson

۳. Elevated plus maze

پشتی در EMP بررسی شد. رت‌ها به‌صورت انفرادی در مرکز ماز قرار داده شدند به‌طوری‌که روبه‌روی بازوی بسته باشد. به رت‌ها اجازه داده شد که مدت ۵ دقیقه آزادانه در EMP گردش کنند. تعداد ورود به بازوهای باز و تعداد ورود به بازوهای بسته و کل زمان گذرانده شده در بازوهای باز و بازوهای بسته اندازه‌گیری شد. ورود، عبارت است از قرار داشتن هر چهار پنجه در بازوها. درصد ورود به بازوهای باز و درصد زمان گذرانده شده در بازوهای باز به‌عنوان شاخص‌های استاندارد اضطراب هستند و به‌صورت زیر محاسبه می‌شوند: (a) OAE% (نسبت ورودها به بازوی باز به کل ورودها $\times 100$) (b) OAT% (نسبت زمان گذرانده شده در بازوهای باز به کل زمان گذرانده شده در هر یک از بازوها)؛ (C) کل ورودها به بازوها به‌عنوان یک شاخص نسبی از فعالیت حرکتی در نظر گرفته شد [۱۷].

۴. داروها

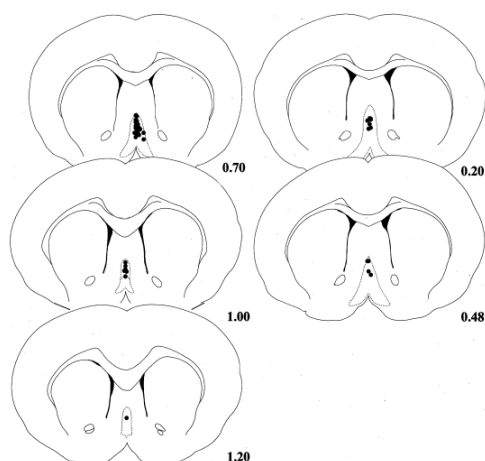
داروهای استفاده شده در پژوهش حاضر شامل باکلوفن (شرکت تمد، تهران، ایران)، آپومورفین (شرکت شیمیایی سیگما، سنت لوئیز، کالیفرنیا، آمریکا) و موسیمول (تاکریس، انگلستان) است. همه داروها درست پیش از آزمایش در سالین ۰/۹٪ استریل حل شدند. آپومورفین (آگونیست رسپتور دوپامینرژیک) به‌درون هیپوکامپ پشتی تزریق شد و باکلوفن (آگونیست رسپتورگابا B) و موسیمول (آگونیست رسپتورگابا A) به‌درون سپتوم میانی تزریق شد.

۵. تعیین درستی جایگذاری کانول‌ها

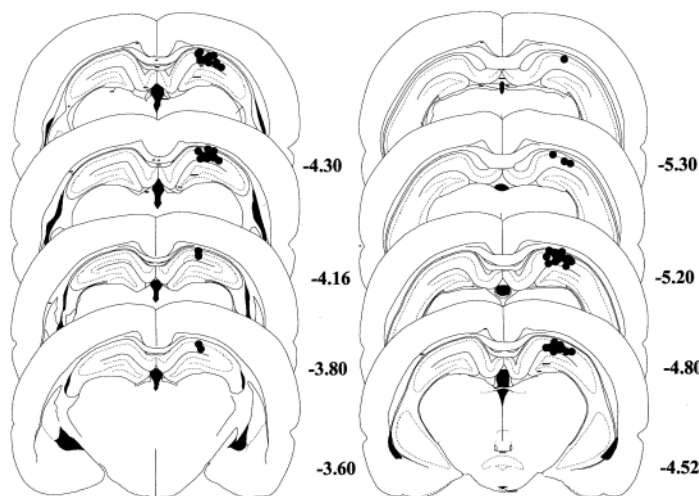
بعد از تکمیل مراحل آزمایش، هر حیوان با دوز بالایی از کلروفرم کشته شد. متعاقباً، ۱ میکرولیتر از جوهر (محلول آبی متیلن بلوی ۱ درصد) با یک کانول تزریق ۲۷ گیج به‌درون سپتوم میانی و هیپوکامپ پشتی تزریق شد. انتهای کانول ۲۷ گیج به‌ترتیب، ۱ و ۰/۵ میلی‌متر پایین‌تر از انتهای کانول راهنمای سپتوم و هیپوکامپ قرار گرفت. مغزهای برداشته شده و در محلول فرمالین ۱۰ درصد به‌مدت ۱۰ روز قبل از برش‌گیری قرار داده شدند، قرارگیری صحیح کانول‌ها با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون بررسی شد.

۶. آنالیز آماری

داده‌ها به‌صورت Mean \pm S.E.M بیان شده‌اند. آنالیز داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه یا دوطرفه واریانس انجام گرفت (ANOVA). در پی یک مقدار F معنی‌دار، آنالیز Post-hoc (Test-Tukey) برای مقایسه گروه ویژه انجام گرفت. تفاوت‌های با $P < 0/05$ میان گروه‌های آزمایشی در هر هفته از نظر آماری، معنی‌دار تلقی گردید.



شکل ۱. شکل شماتیک از برش‌های کنترل مغز رت نشان دهنده موقعیت نسبی جایگاه‌های تزریق در سپتوم میانی در آزمایش ۱ و ۲



شکل ۲. شکل شماتیک از برش‌های کنترل مغز رت نشان دهنده موقعیت نسبی جایگاه‌های تزریق در هیپوکامپ پشتی در آزمایش ۳

۷. تیمارهای دارویی

در آزمایش ۱، دوزهای مختلفی از موسیمول (۲/۵، ۵ و ۱۰ نانوگرم) به‌درون سپتوم میانی تزریق شد و اثرات آن در EPM بررسی شد. هدف این آزمایش، مشخص کردن ارتباط دوز و تأثیر موسیمول در این تست و به‌ویژه تشخیص دوزهای مؤثر و بی‌اثر موسیمول بود (شکل ۳).

در آزمایش ۲، حیوانات دوزهای مختلف باکلوفن (۰/۱، ۰/۵ و ۱ نانوگرم) را به‌منظور بررسی تأثیراتشان بر رفتار رت‌ها در EPM دریافت کردند (شکل ۴).

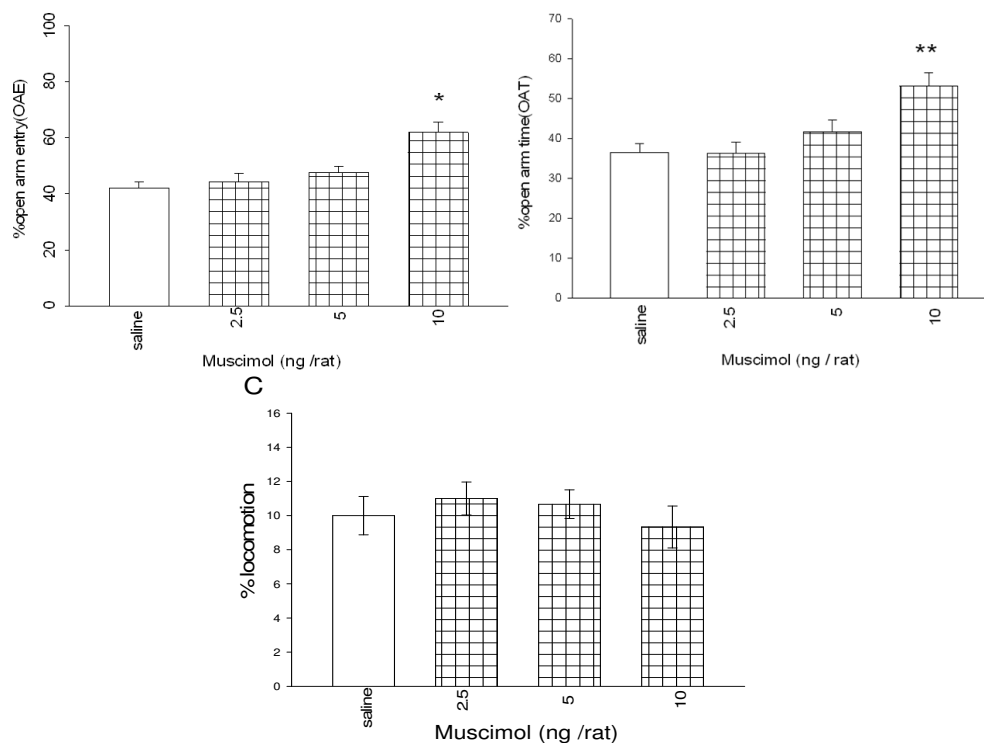
حیوانات در آزمایش ۳، تزریق درون CA1 با آپومورفین (۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۵ میکروگرم) را دریافت کردند (شکل ۵). هدف از این آزمایش مانند دو آزمایش قبلی بررسی اثر آپومورفین روی رفتار شبه اضطرابی در تست EPM بود.

آزمایش ۴، تأثیر تزریق توأم دوزهای بی‌اثر آپومورفین (۰/۰۱ میکروگرم) و موسیمول (۲/۵ نانوگرم) به‌ترتیب در هیپوکامپ و سیتوم بررسی شد. هدف از این آزمایش به‌کارگیری هم‌زمان دو داروی مذکور است که به‌نظر می‌رسد که احتمالاً منجر به میان‌کنشی سینرژیستیک از تحریک هم‌زمان زیرآستانه‌ای دو دارو گشت. تزریق توأم دوزهای زیر آستانه‌ای باید حضور در بازوی باز را افزایش دهد (شکل ۶). در آزمایش ۵، دوزهای بی‌اثر آپومورفین (۰/۰۱ میکروگرم) و باکلوفن (۰/۱ نانوگرم) به‌ترتیب در هیپوکامپ و سیتوم تزریق شد. به‌کارگیری توأم این دو دارو، حضور در بازوی باز را کاهش داد، و تأثیرات اضطراب‌زایی داشت (شکل ۷).

نتایج

آزمایش ۱

شکل ۳ نشان می‌دهد که تزریق موسیمول به‌درون سیتوم میانی، اثر شبه‌اضطراب‌زدایی را در EPM ایجاد می‌کنند. به‌ویژه رت‌های تزریق شده با ۱۰ نانوگرم موسیمول در سیتوم میانی پارامترهای (زمان بازوی باز) ^۱(OAT) و (ورود به بازوی باز) ^۲(OAE) بیش‌تری در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. این اثرات بدون تغییر در فعالیت حرکتی حیوان بود. تزریقات ۲/۵ و ۵ نانوگرم موسیمول، تفاوتی را با گروه کنترل نشان نمی‌دهد.



شکل ۳. Mean ± SEM. OAT (A) OAE (B) LA (C) در تست EPM پس از تزریق ۲/۵، ۵ و ۱۰ نانوگرم موسیمول و ۱ میکرولیتر سالین (**p < ۰/۰۱, * p < ۰/۰۵)

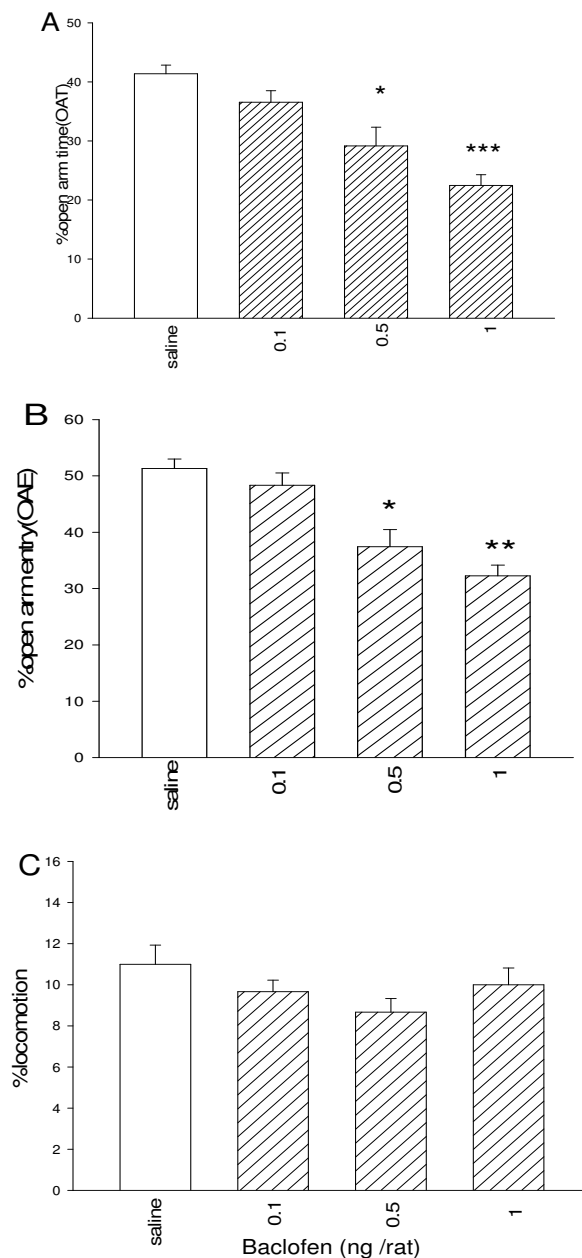
۱. Open Arm Time

۲. Open Arm Entries

۳. locomotor activity

آزمایش ۲

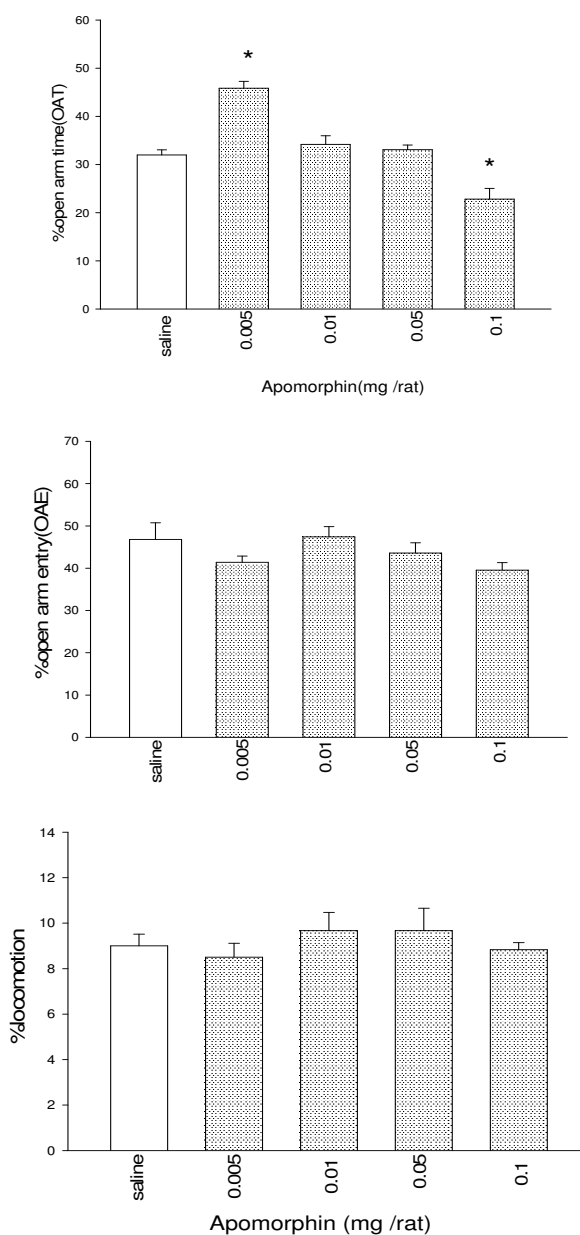
شکل ۴ نشان می‌دهد که تزریق باکلوفن به‌درون سیتوم میانی واجد تأثیرات اضطراب‌زایی در تست EPM است. تزریق ۱ نانوگرم باکلوفن در سیتوم میانی موجب کاهش ورود به بازوی بازمی‌شود. تزریق ۰/۵ و ۰/۱ نانوگرم باکلوفن تفاوتی را با گروه‌های کنترل ایجاد نکرد.



شکل ۴. Mean \pm SEM در پارامترهای OAT (A)، OAE (B) و LA (C) در تست EPM شامل دوزهای ۰/۱، ۰/۵ و ۱ نانوگرم باکلوفن و ۱ میکرولیتر سالین ($P < 0.001$ ***، $P < 0.05$ *، $P < 0.01$ **)

آزمایش ۳

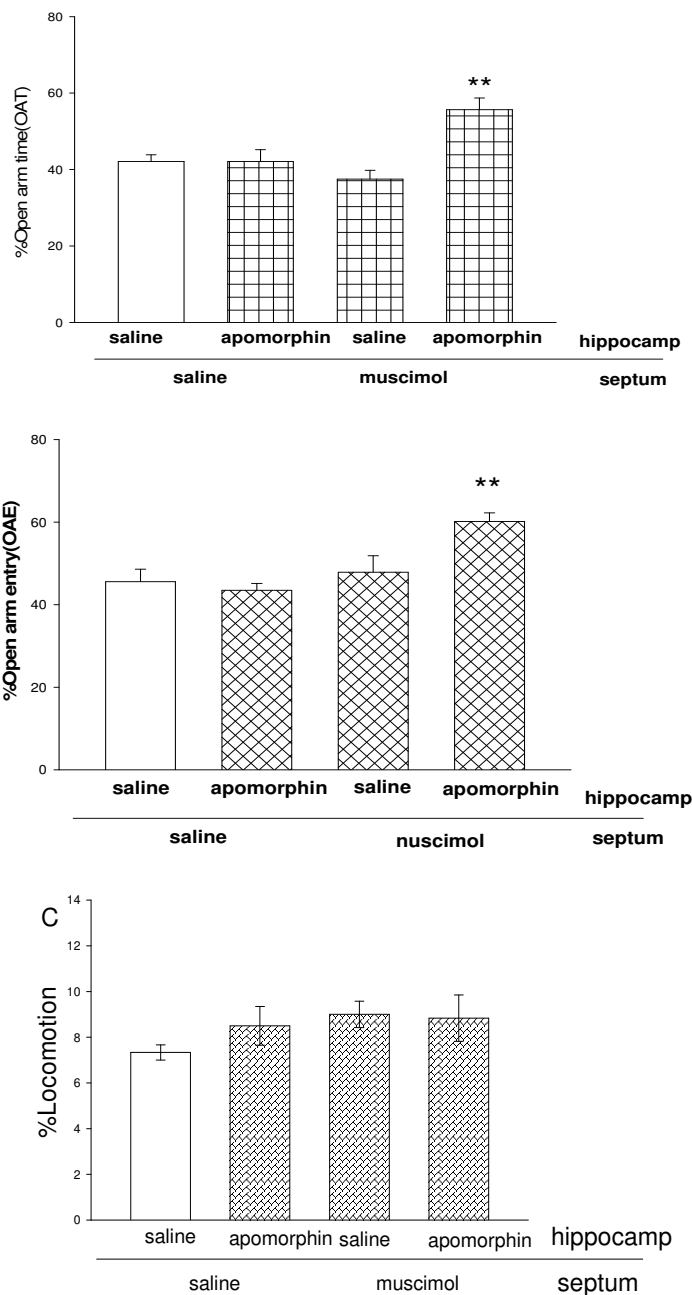
با توجه به شکل ۵، تزریق آپومورفین به هیپوکامپ پستی دارای اثرات متضاد است. تزریق دوز ۰/۰۰۵ میکروگرم آپومورفین درصد حضور در بازوی باز را افزایش داد. در حالی‌که دوزهای بالاتر (۰/۰۱ و ۰/۰۵ میکروگرم) این پارامترها را تغییری نداد.



شکل ۵. Mean± SEM برای پارامترهای OAT (A)، OAE (B) و LA (C) در تست EPM شامل دوزهای ۰/۰۰۵ ، ۰/۰۱ ، ۰/۰۵ و ۱ میکروگرم آپومورفین و ۱ میکرولیتر سالین به‌عنوان گروه کنترل (*p<۰/۰۵)

آزمایش ۴

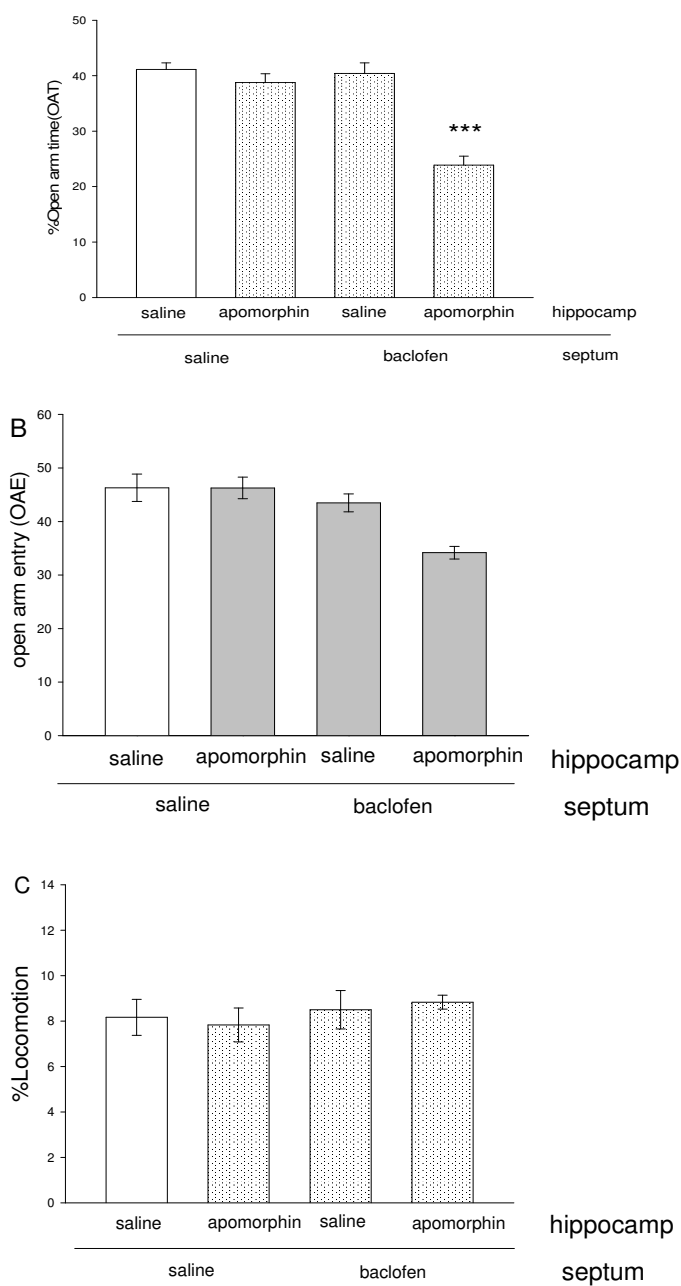
با توجه به شکل ۶، تزریق توآمان دوزهای بی‌اثر آپومورفین و موسیمول، رفتارهای شبه‌اضطرابی را به‌صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد. این موضوع حاکی از تأثیر سینرژیک دو داروی مذکور در ایجاد اثر اضطراب‌زدایی است.



شکل ۶. Mean±SEM در پارامترهای OAT (A)، OAE (B) و LA (C) در تست EPM پس از تزریق موسیمول (۲/۵ نانوگرم) به‌درون سیتوم میانی آپومورفین (۰/۰۱ میکروگرم) به‌درون هیپوکامپ پشتی و تزریقات توآمان این دوزها (**P<۰/۰۱)

آزمایش ۵

شکل ۷ نشان می‌دهد که تزریق توأم دوزهای بی‌اثر آپومورفین باکلوفن، رفتارهای شبه‌اضطرابی را به‌صورت معنی‌داری افزایش می‌دهد. در حقیقت تأثیرات سینرژیک این دوزها موجب کاهش پارامترهای رفتاری مربوطه به اضطراب در تست EPM می‌شود.



شکل ۷. SEM±Mean در پارامترهای OAT (A)، OAE (B) و LA (C) در تست EPM پس از تزریق باکلوفن ۰/۱ نانوگرم به‌درون سیتوم میانی، آپومورفین (۰/۰۱ میکروگرم) به‌درون هیپوکامپ پشتی و تزریقات توأم این دوز (***)
 (***) $P < 0.001$

بحث و تفسیر

نتایج حاصل از آزمایش‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد که دوزهای بالای موسیمول و باکلوفن به‌درون سیتوم میانی به‌ترتیب موجب کاهش و افزایش رفتارهای اضطرابی می‌شود. در حالی‌که دوزهای پایین این داروها چنین اثری ندارند. پیش از این دگروت^۱ و همکارانش در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که تزریق دوز واحد موسیمول به‌درون سیتوم میانی اثرات شبه‌اضطراب‌زدائی دارد. به‌کارگیری آپومورفین در هیپوکامپ پشتی اثرات متضاد دارد. به‌طوری‌که در دوز پایین، اثرات اضطراب‌زا و در دوز بالا اثرات اضطراب‌زدا دارد. هر چند علت این تأثیرات دوگانه باید در آزمایش‌های دیگری مشخص گردد، می‌توان دو فرض را در این مورد محتمل دانست: فرض اول این است که دوپامین دارای دو دسته رسپتور D1 و D2 است. رسپتورهای D1 مسیر cAMP را فعال کرده و سطوح آن را افزایش می‌دهند و اثر تحریکی دارند، در صورتی‌که D2 اثر مهاری دارد، به این صورت که موجب کاهش سطوح CAMP می‌شود. بر اساس این فرض، آپومورفین در دوزهای پایین تنها روی رسپتورهای D1 اثر می‌گذارد و موجب تحریک خروجی‌های گابا از هیپوکامپ می‌شود. ولی تزریق آپومورفین در دوزهای بالا علاوه بر تحریک رسپتورهای D1 روی D2 نیز اثر گذاشته و نقش مهاری روی خروجی‌های گابائریک اعمال می‌کند. شاید تفاوت در فراوانی این دو رسپتور باعث ایجاد پاسخ‌های متضاد می‌شود، به‌طوری‌که می‌توان گفت اثر آپومورفین بر روی اضطراب وابسته به دوز است. فرض دوم این است که هیپوکامپ پشتی علاوه بر ورودی‌ها و خروجی‌های اصلی، دارای اینترنورون‌های مهاری گابائریک به تعداد بسیار زیاد است. لذا احتمالاً اعمال آپومورفین در دوزهای بالا علاوه بر نورون‌های خروجی گابا، نورون‌های بینابینی گابا را نیز فعال می‌کند که به نوبه خود نورون‌های گابا را مهار می‌کند.

تزریق آگونسیت کولینرژیک باعث کاهش اضطراب می‌شود [۳]، [۴]، [۶]. در حالی‌که تزریق درون هیپوکامپی آنتاگونسیت‌های کولینرژیک موجب افزایش اضطراب می‌شود [۸]. نتایج حاصل از آزمایش‌های ۴ و ۵ نشان می‌دهد که سیستم‌های دوپامینرژیک هیپوکامپی و گابائریک سیتومی می‌توانند به‌صورت سینرژیک میان‌کنش کرده و اضطراب را تعدیل کنند. تزریقات هم‌زمان دوزهای بی‌اثر آپومورفین در هیپوکامپ و موسیمول و باکلوفن در سیتوم میانی با هم جمع شده و به‌ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری در رفتار اضطرابی ایجاد می‌کنند.

بر اساس نظریه گری^۲ که در سال ۱۹۸۲ ارائه شده و به سیستم سیتوهیپوکامپ معروف است، مدار نورونی که میان‌کنش سینرژیک را بین سیستم‌های کولینرژیک هیپوکامپی و گابائریک سیتومی ایجاد می‌کند، باید بیش‌تر بررسی شود. بر اساس این فرضیه هم تزریقات هیپوکامپی و هم تزریقات سیتومی موسیمول و باکلوفن باید تأثیرات یکسانی مانند سرکوب نورون‌های سیتوم میانی داشته باشد. هیپوکامپ می‌تواند سیتوم میانی را از طریق دو مسیر مستقیم و غیرمستقیم مهار کند. مسیر مستقیم پروجکشن‌های گابائریکی است که از هیپوکامپ به سیتوم

۱. Degroot

۲. Gray

میانی می‌رود [۱]. مسیر غیرمستقیم، پروجکشن تحریکی گلوتاماترتریک است که از هیپوکامپ برخاسته و به سپتوم میانی می‌رود. این پروجکشن‌های تحریکی به نوبه خود، یک پروجکشن گابائرتریک مهاری را به سپتوم میانی می‌فرستند.

بنا بر این، رسپتورهای تحریک کننده دوپامینرتریک هیپوکامپی می‌توانند پروجکشن‌های گابائرتریک هیپوکامپی مستقیم را تحریک کنند یا به صورت غیرمستقیم مسیره‌های گلوتاماترتریک را تحریک کنند. مهار گابائرتریک سپتوم میانی نیز در ادامه حاصل می‌شود.

البته این سؤال مطرح است که چگونه اثرات دوزهای بی‌اثر داروهای مذکور می‌توانند با هم جمع شده و یک اثر اضطراب‌زایی یا اضطراب‌زدایی ایجاد کنند.

درواقع نقش باکلوفن تزریق شده به سپتوم میانی در ایجاد اضطراب باید بیش‌تر بررسی شود. هر چند نمی‌توان نقش اینترنورون‌های مهاری در سپتوم میانی در ایجاد اضطراب را نادیده گرفت.

در سطح تئوری، نتایج ما پیشنهاد می‌کند که سیستم‌های دوپامینرتریک هیپوکامپی و گابائرتریک سپتومی در یک روش سینرژستیک عمل کرده و اضطراب را تعدیل می‌کنند. هر چند لازم است مسیرهای دقیقی که از طریق آن‌ها هیپوکامپ و سپتوم با یکدیگر میان‌کنش می‌کنند تا اضطراب را تعدیل کنند بیش‌تر بررسی شود، یافته‌ها نشان می‌دهد که تزریق گلوتامات به‌درون سپتوم می‌تواند تأثیرات اضطراب‌زدایی میدازولام به‌درون هیپوکامپ را معکوس کند [۱۱]. این موضوع پیشنهاد کننده یک استراتژی جالب توجه در این مورد است. این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که مهار مسیرهای وابران از هیپوکامپ، به موازات تحریک هم‌زمان ساختارهای هدف نظیر سپتوم می‌تواند دقیقاً نشان‌دهنده وجود یک مدار ویژه باشد که طی آن هیپوکامپ و سپتوم با هم در کنترل اضطراب نقش دارند.

نتیجه نهایی این پژوهش این است که سیستم‌های دوپامینرتریک هیپوکامپی و گابائرتریک سپتومی نقش سینرژستیک در تعدیل اضطراب دارند. با توجه به این‌که اثرات دوپامین در این مورد وابسته به دوز است، تأثیر دوپامین می‌تواند در طیفی از تغییرات رفتاری یعنی از اضطراب‌زایی تا اضطراب‌زدایی متفاوت باشد. نقش سیستم گابائرتریک نیز در این زمینه هم از طریق رسپتورهای نوع A و هم نوع B اعمال می‌شود.

منابع

1. D. G. Amaral, M. P. Witter, "Hippocampal formation. In: The rat nervous system (Paxinos G, ed)", San Diego: Academic Press. (1995) 443-493.
2. S. Cheeta, P. J. Kenny, S. E. File, "Hippocampal and septal injections of nicotine and 8-OH-DPAT distinguish among different animal tests of anxiety", Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 24 (2000) 1053-1067.

3. A. Degroot, M. B. Parent, "Increasing acetylcholine levels in the hippocampus or the entorhinal cortex reverses the impairing effects of septal GABA receptor activation on spontaneous alternation", *Learn Mem*, 7 (2000) 293-302.
4. A. Degroot, S. Kashluba, D. Treit, "Septal GAB Aergic and hippocampalcholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests", *Pharmacol Biochem Behav*. 69 (2001) 391-399.
5. A. Degroot, D. Treit, "Stimulating cholinergic receptors in the dorsal or ventral hippocampus modulates anxiety in the plus-maze and shock-probe tests", *Brain Res*, 25 (2002) 212-230.
6. S. E. File, P. J. Kenny, A. M. Ougazzal, "Bimodal modulation by nicotine of anxiety in the social interaction test: role of the dorsal hippocampus", *Behav Neurosci*. 112 (1998) 1423-1429.
7. J. A. Gray, "The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the function of the septo-hippocampal system", Oxford: Oxford University Press (1982).
8. C. Hass and D. Blozovski, "Hippocampal muscarinic cholinergic mediation of spontaneous alternation and fear in the developing rat. *Behav Brain Res*", 24 (1987) 203-214.
9. R. G. Lister, "The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)*", 92 (1987) 180-185.
10. J. Menard, D. Treit, "Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety", *Neurosci Biobehav Rev*, 23 (1999) 591-613.
11. J. Menard, D. Treit, "The anxiolytic effects of intra-hippocampal midazolam are antagonized by intra-septal L-glutamate", *Brain Res*, 88 (2001) 163-166.
12. W. J. Nauta, V. B. Domesick, "Afferent and efferent relationships of the basal ganglia", *Ciba Found Symp* 107 (1984) 3-29.
13. G. Paxinos, C. Watson, "The rat brain in stereotaxic coordinates", 6th ed. San Diego, CA: Academic Press (2007).
14. S. Pellow, P. Chopin, S. E. File, M. Briley, "Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat", *J Neurosci Methods*, 14 (1985) 149-157.
15. C. Pesold, D. Treit, "The septum and the amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines", *Brain Res*, 638 (1994) 295-301.

16. C. Pesold, D. Treit, "The neuroanatomical specificity of the anxiolytic effects of intra-septal infusions of midazolam", *Brain Res*, 710 (1996) 161-168.
17. R. J. Rodgers, N. J. T. Johnson, "Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety", *Pharmacol Biochem Behav*; 52 (1995) 297-303.
18. L.W. Swanson, W. M. Cowan, "An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat", *J Comp Neurol*, 172 (1977) 49-84.
19. D Treit, C Pesold, "Septal lesions inhibit fear reactions in two animal models of anxiolytic drug action", *Physiol Behav*, 47 (1990) 365-371.
20. D. Treit, J Menard, "The septum and anxiety. In: The behavioral neuroscience of the septal region" (Numan R, ed) (2000) 210-233. New York: Springer.
21. M. R. Trimble, "The neurology of anxiety", *Postgrad. Med. J*, 64 supp (1988) 222-226.
22. I. Walass, F. Fonnum, "Biochemical evidence for glutamate as a transmitter in hippocampal efferents to the basal forebrain and hypothalamus in the rat brain", *Neuroscience*, 5 (1980) 1691-1698.