

میان کنش سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ پستی و اپیوئیدرژیک سیتوم میانی بر رفتارهای شبه-اضطرابی

علی کولیوندزاده^۱، فرهاد ولی زادگان^{۲*} و محمدرضا زرین دست^۳

دریافت: ۱۳۹۵/۴/۱۸ | پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۱۳ | چاپ: ۱۳۹۶/۶/۳۱

^۱گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

^۲گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، مازندران، ایران

^۳گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: f.valizadegan@umz.ac.ir

چکیده. مهم ترین بخش مغز که در اضطراب نقش دارد، سیستم لیمبیک است که واجد سه بخش مهم هیپوکامپ، آمیگدال و سیتوم است. سیستم سیتوهیپوکامپ، نقش مهمی در تنظیم رفتارهای ترس و اضطراب برعهده دارد. بررسی ها نشان می دهد که سیستم اپیوئیدرژیک نیز در رفتارهای شبه اضطرابی دخیل است. در این مطالعه اثر تزریق هیستامین به هیپوکامپ پستی و تزریق مواد اپیوئیدرژیک به سیتوم میانی بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش ها با استفاده از آزمون Elevated Plus Maze (EPM) تحت بررسی قرار گرفت. تزریق $5 \mu\text{g/rat}$ و $1 \mu\text{g/rat}$ هیستامین در هیپوکامپ پستی اثری بر رفتارهای شبه اضطرابی نداشت، درحالی که تزریق $10 \mu\text{g/rat}$ هیستامین باعث افزایش درصد زمان ورود و دفعات ورود به بازوی باز شد، که نشان دهنده اثر اضطراب زدایی هیستامین است. تزریق مورفین (آگونیست رسپتور μ -اپیوئیدی) به درون سیتوم میانی ($1 \mu\text{g/rat}$) باعث افزایش زمان ورود و دفعات ورود به بازوی باز شد. تزریق مقادیر $25 \mu\text{g/rat}$ و $5 \mu\text{g/rat}$ مورفین اثری بر اضطراب نداشت. تزریق هم زمان مقادیر بی اثر هیستامین ($1 \mu\text{g/rat}$) به هیپوکامپ پستی و مورفین ($5 \mu\text{g/rat}$) به سیتوم میانی باعث افزایش زمان ورود و دفعات ورود به بازوی باز شد. تزریق مقادیر مختلف نالوکسان ($1, 2, 4 \mu\text{g/rat}$) به عنوان آنتاگونیست گیرنده های اپیوئیدی به سیتوم میانی در حضور و غیبت مقدار مؤثر هیستامین ($10 \mu\text{g/rat}$) در هیپوکامپ پستی، تحت بررسی قرار گرفت. تزریق مقدار $4 \mu\text{g/rat}$ نالوکسان به سیتوم میانی درصد زمان گذرانده در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز را کاهش داد، که این یافته ها نشان دهنده اثر اضطراب زایی نالوکسان بعد از تزریق به سیتوم میانی بود. تزریق مقدار $10 \mu\text{g/rat}$ هیستامین به هیپوکامپ پستی و به طور هم زمان تزریق سه مقدار مختلف نالوکسان ($1, 2, 4 \mu\text{g/rat}$) نشان داد هیستامین اثر اضطراب زایی نالوکسان را با افزایش زمان ورود و تعداد ورود به بازوی باز، تا حدود زیادی خنثی کرد، هرچند در مقدار $4 \mu\text{g/rat}$ نالوکسان این اثر کمتر است. از این یافته ها می توان نتیجه گرفت که سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ و اپیوئیدرژیک سیتوم میانی در سیستم سیتوهیپوکامپ با هم برهم کنش دارند و برهم کنش این دو سیستم در تعدیل اضطراب دخیل است.

واژه های کلیدی. هیستامین، مورفین، اضطراب، نالوکسان، رت

Interaction between dorso-hippocampal histaminergic and medio-septal opiodergic systems in anxiety behavior

Ali Kolivandzadeh¹, Farhad Valizadegan^{2*} & Mohammad Reza Zarrindast³

Received 08.07.2016/ Accepted 03.09.2016/ Published 22.09.2017

¹Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

²Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

³Deptment of Pharmacology, Faculty of Medicine, Medical Sciences University of Tehran, Tehran, Iran

*Correspondent author: f.valizadegan@umz.ac.ir

Abstract. Septohippocampal system plays an important role in regulating fear and anxiety behaviors. In this study, the effects of histamine injected into the dorsal hippocampus and opiodergic agents into medial septum on the anxiety-like behaviors in rats were analyzed, using the Elevated Plus-Maze (EPM) test. Injection of 1 and 5 $\mu\text{g/rat}$ histamine into dorsal hippocampus had no effect on anxiety-like behavior, while injection of 10 $\mu\text{g/rat}$ histamine increased the percentage of open arm time (%OAT) and open arm entry (%OAE), which indicated the anxiolytic effects of histamine. Microinjection of morphine, μ -opioid receptor agonist, into the medial septum ($1 \mu\text{g/rat}$) increased the (%OAT) and (%OAE). Doses of 0.25, 0.5 $\mu\text{g/rat}$ morphine had no effect on anxiety. Co-administration of histamine ineffective dose ($1 \mu\text{g/rat}$) to the dorsal hippocampus and ineffective dose of morphine (0.25 $\mu\text{g/rat}$) to the medial septum increased the (%OAT) and (%OAE). Subsequently, injection of different doses of naloxone (1, 2, 4 $\mu\text{g/rat}$), as an opioid receptor antagonist, into the medial septum in the presence and absence of an effective dose of histamine (10 $\mu\text{g/rat}$) in the dorsal hippocampus, was studied. Injection of naloxone (4 $\mu\text{g/rat}$) into medial septum decreased the (%OAT) and (%OAE), but did not alter the locomotor activity, which indicated the anxiogenic effects of naloxone. Simultaneous injection of histamine (10 $\mu\text{g/rat}$) into dorsal hippocampus with doses of naloxone (1, 2, 4 $\mu\text{g/rat}$) into the medial septum, indicate anxiolytic effects and increased %OAT and %OAE in Elevated Plus Maze, although when the dose of naloxone was 4 $\mu\text{g/rat}$, this effect was less observed. The results indicate that hippocampus histaminergic system interact with medial septum opiodergic system and the interaction of these systems modulates anxiety behavior.

Keywords. histamine, morphine, anxiety, naloxan, rat

مقدمه

مطالعات الکتروفیزیولوژی و بیوشیمیایی وجود سیستم هیستامینرژیک را در اعصاب مرکزی اثبات کرده‌اند (Panula et al., 1984). هیستامین بر رفتار شبه اضطرابی تأثیر دارد که این تأثیر در مطالعات مختلف تاحدودی متفاوت بوده است. تزریق هیستامین در هیپوکامپ پستی موش‌ها اثر شبه اضطراب‌زدایی را در آزمون Elvaeted Pluse Maze (EPM) به دنبال دارد، درحالی که تزریق آن به داخل آمیگدال مرکزی و هیپوکامپ شکمی موش‌ها باعث بروز رفتار شبه اضطرابی می‌شود (Zarrindast et al., 2006). مطالعات نشان می‌دهد که تخریب زیر ناحیه E2 در بخش قدامی شکمی هسته برآمده پستانی، که منشأ نورون‌های هیستامینرژیک است، باعث کاهش اضطراب در مدل Plus-Maze می‌شود (Frisch et al., 1998). همچنین در برخی مطالعات مشخص شده است فشارهای عصبی که باعث القای اضطراب می‌شوند می‌توانند میزان رهایش هیستامین از نورون‌های هیستامینرژیک را افزایش دهند (Yamatodani et al., 1985).

ناحیه سیتوم مجموعه‌ای از هسته‌ها و دسته‌های فیری است که در میان شاخ‌های قدامی بطن‌های جانبی، زیربخش میانی و قدامی کورپوس کالوزوم بین دو نیم کره و در قسمت پستی بخش میانی قرار می‌گیرد (Mizumori et al., 1992). برطبق آخرین یافته‌های آناتومیک و فیزیولوژیک، این ناحیه به سه بخش سیتوم پستی، سیتوم جانبی و سیتوم میانی تقسیم می‌شود (Paxinos, 1994). سیتوم جانبی بزرگ‌ترین بخش ناحیه سپتال بوده که آوران‌های فراوانی را از نواحی گوناگون در تلنسفال، دینسفال و ساقه مغز دریافت می‌کند (Swanson & Cowan, 1979). ازطرف دیگر، ناحیه سیتوم میانی منشأ فیبرهای سپتوهیپوکامپ است که مسیری مهم برای حافظه کاری محسوب می‌شود (Givens & Olten, 1990). مطالعات نشان می‌دهد که تخریب سیتوم باعث کاهش ترس و اضطراب می‌شود. ارتباط بین سیتوم و هیپوکامپ به گونه‌ای است که نورون‌های گابائریژیک، که از سلول‌های غیرهرمی منشأ می‌گیرند، از نورون‌های کولینرژیک عصب‌دار می‌شوند (Amaral, 1995) و نورون‌های گلوتا-ماترژیک که از سلول‌های هرمی منشأ می‌گیرند نیز با نورون‌های کولینرژیک عصب‌دار می‌شوند که آنها نیز به نورون‌های گابا-ئرژیک ختم می‌شوند. چنانچه تحریک کولینرژیک باعث فعالیت

هریک از آنها شود، درنهایت، باعث فعالیت نورون‌های گابائریژیک و درنتیجه کاهش عمل سیتوم و کاهش اضطراب می‌شود (Degroot et al., 2001). تزریق بنزودیازپین‌ها و میدازولام (آگونست گیرنده‌های GABA) به سیتوم میانی اثر اضطراب-زدایی در آزمون EPM نشان می‌دهد (Pesold & Treit, 1994). همچنین، تزریق آگونست گابا A (موسیمول) به این ناحیه باعث ایجاد اثر ضد اضطرابی شده است (Drugan & Skolnick, 1986). وجود اپیوئیدهای آندوژن و توزیع گسترده گیرنده‌های متنوع آنها در قسمت‌های مختلف بدن، به خصوص دستگاه عصبی مرکزی، بر پیچیدگی‌های عمل کرد آنها افزوده است. مواد مخدر می‌تواند سازوکارهای شکل‌پذیری سیناپسی را در مدارهای کلیدی مغز ازجمله سیستم دوپامینی مزولیمبیک به تصاحب خود درآورد و از این طریق جنبه‌های ویژه اعتیاد، ازجمله اشتیاق به دارو، سیستم یادگیری، حساسیت رفتاری، حالت‌های مختلف هیجان و پاسخ استرسی را تحت تأثیر قرار دهند. تجویز حاد و مزمن مورفین آثار مختلفی بر فرآیند اضطراب دارد. بخشی از اثر تسکین‌دهندگی مواد اپیوئیدی ازطریق کاهش قابل پیش‌بینی اضطراب است (Bartoletti et al., 1990). تزریق مقدار واحدی از مورفین به داخل صفاق و هسته مرکزی آمیگدال موجب افزایش معنی‌دار فعالیت جستجوگرانه موش‌های صحرایی در ماز به‌علاوه-ای شکل مرتفع می‌شود. به‌عبارتی دیگر، اثر ضد اضطرابی بالقوه‌ای در موش صحرایی ایجاد می‌کند (Koks et al., 1999). این عمل ممکن است ازطریق کاهش درآزادسازی نورآدرنالین در نواحی متعدد مغزی ازجمله هسته مرکزی آمیگدال باشد (Tanaka et al., 2000). کوکائین که از دسته اوپیات‌ها است، یک تقویت‌کننده قوی سیستم پاداشی مغز است که در انسان اضطراب ایجاد می‌کند و در جانوران آزمایشگاهی نیز در مدل ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع رفتار شبه اضطرابی به‌وجود می‌آورد و احتمالاً ازطریق تعدیل محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-آدرنال (HPA) عمل خود را به ثمر می‌رساند. بنابراین، مواد مخدر ممکن است زمینه‌ساز بیشتر آثار اضطراب‌زا درموجود زنده باشد (DeVries et al., 1998). رسپتورهای اپیوئیدی گاهی آثار متفاوت و حتی متضادی در اضطراب دارند؛ برای مثال، در موش‌هایی که فاقد رسپتورکاپا هستند هیچ تغییر فنوتیپی در رفتار اضطرابی مشاهده نمی‌شود. ازطرفی، موش‌هایی که فاقد رسپتور دلتا اپیوئید یا انکفالین هستند،

در صورت ایفای نقش، نوع و نتیجه برهم کنش این سیستم با سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ پستی بر روی رفتار شبه اضطرابی چگونه است.

مواد و روش ها

حیوانات مورد آزمایش

در این تحقیق از موش های صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. موش ها در گروه های چهار تایی در قفس های جدا نگهداری شدند و درجه اتاق پرورش حیوانات ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد است و تنظیم نور بر مبنای سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. غذای مخصوص موش و آب کافی در تمام مدت نگهداری به جز زمان آزمایش در اختیار حیوان قرار داشت. انتخاب موش های نر برای این آزمایش ها به دلیل تداخل کمتر هورمون های جنسی با داروها و نداشتن سیستم ریتمیک هورمون های جنسی در موش های نر نسبت به موش های ماده بود.

جراحی استریوتاکیک و کانول گذاری

این روش جراحی با استفاده از دستگاه استریوتاکیس و به کمک اطلس پاکسینوس انجام می شود که در آن می توانیم مختصات نواحی مختلف مغز موش صحرایی را تعیین کنیم. هر موش ابتدا وزن می شود و توسط محلول کتامین ۱۰ درصد و زایلین ۲ درصد (Alpason, Woerdem, Holand) بیهوش می شود. موش را پس از بیهوش شدن در دستگاه استریوتاکیس قرار می دهیم. این دستگاه دارای میله های تثبیت کننده سر است که مجموعه جانور را در وضعیت مناسب نگه می دارد. ابتدا میله های گوش را در فرو رفتگی مربوط به استخوان گیجگاهی قرار می دهیم و پس از اطمینان از تقارن دو طرف آن، پیچ های مربوط به آن را محکم می کنیم. سپس، پوزه حیوان را در میله پوزه بند قرار می دهیم و پیچ آن را نیز محکم می کنیم. در مرحله بعد، توسط قیچی موهای سر جانور چیده می شود. سپس، با استفاده از اسکالپل یک برش طولی در امتداد شیار ساژیتال میانی مجموعه در پوست سر ایجاد می شود. محل شکاف ضد عفونی و با استفاده از پنبه استریل آغشته به الکل سفید تمیز می شود تا نقاط برگما و لامبدا مشخص شود. برگما محل اتصال درز تاجی و درز سهمی است و لامبدا محل تقاطع درز تاجی با درز لامبدا است. پس از مشخص شدن برگما و لامبدا،

افزایش شاخص های اضطرابی را نشان می دهند (Filliol *et al.*, 2000). محققانی که روش های غیر تداخلی را جهت بررسی اضطراب استفاده کرده اند، مشاهده کرده اند که مقادیر متوسط نالوکسان و نالتروکسان (بلوکر رسپتور μ) اثر ضد اضطراب بنزودیازپین ها را افزایش می دهند (Nobre *et al.*, 2000).

هیپوکامپ دارای ارتباطات متعددی با قسمت های زیادی از قشر مخ، دستگاه لیمبیک یعنی آمیگدال، هیپوتالاموس، سپتوم و اجسام پستانی است. هیپوکامپ در فرایندهای حافظه و یادگیری درگیر است. در واقع می توان گفت تقریباً هرگونه تجربه حسی باعث فعال شدن دست کم بخشی از هیپوکامپ می شود (Gorden, 2000). مطالعات قبلی نشان می دهد که هیپوکامپ در پردازش اطلاعات و تعدیل حرکتی و اضطراب دخیل است. تحریک شدید سلول های هیپوکامپ باعث اختلال در برخی اعمال هیپوکامپ از جمله پردازش محرک های حسی می شود. گزارش هایی وجود دارد که بیان می کند حالت تحریک بیش از حد طبیعی هیپوکامپ در بیماری اسکیزوفرنی و برخی اختلالات اضطرابی وجود دارد (Moghaddam *et al.*, 2003). از نظر آناتومیک، سپتوم به طور گسترده ای با هیپوکامپ در ارتباط است و آنها با هم بخش درخور توجهی از دستگاه لیمبیک را تشکیل می دهند (Degroot *et al.*, 2001). ارتباط گسترده ای بین سپتوم میانی و تشکیلات هیپوکامپی وجود دارد، به طوری که سپتوم میانی بیشترین عصب رسانی به هیپوکامپ را در میان هسته های زیر قشری دارد و عصب دهی کولینرژیک اصلی به هیپوکامپ را تشکیل می دهد. سپتوم میانی به طور مؤثر فعالیت هیپوکامپی را تنظیم می کند (Mizumori *et al.*, 1992). استیل کولین از جمله نوروترانسمیترهای ارتباطی بین سپتوم و هیپوکامپ است. تخریب مسیر سیتوهیپوکامپ سبب کاهش استیل کولین در سطح سلول های هیپوکامپ می شود. نوروترانسمیتر گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) با اثر بر سیستم سیتوهیپوکامپ نقش مهمی را ایفا می کند. گیرنده های GABA در سپتوم و هیپوکامپ یافت شده اند که نشان دهنده وجود مسیر گابائرژیک در هر دو مسیر سپتوم به هیپوکامپ و در داخل خود سپتوم است. گلو تامات، ماده P، بتا اندورفین ها و مت انکفالین ها نیز در تعدیل این مسیر نقش دارند (Lamour *et al.*, 1989).

هدف این مطالعه بررسی این موضوع است که آیا اساساً سیستم اپیوئیدرژیک سپتوم میانی بر رفتار شبه اضطرابی تأثیر دارد یا نه و

بر اساس اطلس پاکسینوس، مختصات محل کانول گذاری در ناحیه CA₁ هیپوکامپ پشتی (قدامی - خلفی (AP): ۲/۳ mm -، میانی جانبی (ML): ± ۲ mm، عمق (DV): ۱/۶ mm -) و سپتوم میانی (قدامی - خلفی (AP): ۱/۲ mm +، میانی جانبی (ML): mm ± ۰/۱، عمق (DV): ۵/۵ mm -) را مشخص می کنیم. بعد از مشخص شدن مختصات دقیق نواحی هیپوکامپ پشتی و سپتوم میانی، با استفاده از مته های کوچک، مجموعه را در این نواحی سوراخ می کنیم. در مرحله بعد، کانول راهنما (تهیه شده از سر سوزن ۲۲ گیج) با استفاده از دستگاه استریوتاکس (شکل های ۱ و ۲) در درون سوراخ قرار داده می شود. به کمک خط کش عمودی دستگاه، مختصات نقطه عمقی را به دست می آوریم و به کمک خط کش عمودی کانول راهنما را تا عمق مورد نظر فرو می بریم. سپس کانول های دیگر را (بسته به گروه آزمایشی) در نقاط مورد نظر به همین صورت قرار می دهیم. در مرحله بعد، اطراف کانول یا کانول ها با آکريل دندان پزشکی مخلوط شده با محلول مونومر پوشانده می شود تا کانول راهنما در محل مورد نظر محکم شود. بعد از سفت شدن سیمان، سوزن را از منفذ خارج می کنیم. بعد از اطمینان از سفت شدن سیمان، حیوان را از دستگاه خارج می کنیم. همه حیوانات یک هفته پس از جراحی دوره بهبودی پس از بیهوشی را طی می کنند.

تزریق داخل هیپوکامپی و داخل سپتومی

برای تزریق دارو، حیوانات به آرامی با دست مهار می شوند. سپس، کانول تزریق ۲۷ گیج، که بایستی یک میلی متر از کانول راهنما بلندتر باشد، به درون کانول راهنما فرستاده می شود. کانول تزریق به وسیله لوله پلی اتیلنی به طول ۲۰ سانتی متر یا بیشتر به سرنگ همیلتون ۲ میکرولیتری متصل می شود. سپس، محلول تزریق سالین یا دارو به حجم کل ۱ μl/rat 0.5 μl/rat در هر طرف برای هیپوکامپ (به آرامی به کانول ها تزریق می شود. در طول تزریق باید سعی کرد که فشار عصبی به حیوان وارد نشود.

دستگاه سنجش اضطراب

برای سنجش اضطراب دستگاه Elevated Plus Maze استفاده می شود. این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت مثبت (+) است. ابعاد راهروی باز و بسته ۵۰×۱۰ cm (-) است و دو طرف و انتهای راهروی بسته دیواره ای به بلندی ۴۰ cm

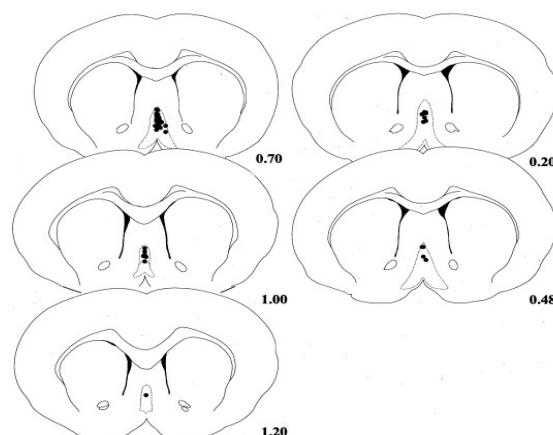
دارد و برای جلوگیری از افتادن موش صحرایی در دو طرف و انتهای راهروی باز لبه ای به ارتفاع ۱ cm از جنس شیشه نصب می شود. چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی متر منتهی می شوند. Maze به وسیله پایه هایی در ارتفاع ۵۰ cm از سطح زمین قرار می گیرد. موش ها درون محدوده مرکزی ماز قرار داده شدند، به طوری که رو به یک راهروی باز قرار می گرفتند. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ وات که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی متری از مرکز ماز قرار داشت، تامین می شد. در مدت ۵ دقیقه ای که حیوان آزادانه در قسمت های مختلف ماز حرکت می کرد. پارامترهای زیر به روش مشاهده اندازه گیری می شد. منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می گرفت. زمان گذرانده شده در راهرو بر همین اساس محاسبه شده است. برای هر حیوان درصد ورود به راهروی باز (%Open Arm Entry: %OAE) و درصد زمان گذرانده شده در راهروی باز (%Open Arm Time: %OAT) محاسبه می شود.

برش بافتی به منظور تعیین موقعیت تزریق

پس از انجام آزمون رفتاری و ثبت داده ها به منظور تعیین درست بودن محل تزریق، لازم است مقاطعی از ناحیه مورد نظر تهیه شود و از نظر آناتومیکی تحت بررسی قرار گیرد. بدین منظور، ابتدا رنگ متیلن بلو ۱ درصد به درون نواحی مورد نظر تزریق می شود. سپس، حیوان با کلروفرم کشته می شود و با جدا کردن سر، مغز آن را از مجموعه خارج می کنیم و آن را در شیشه حاوی فرمالین قرار می دهیم. پس از گذشت ۴۸ ساعت، برش های عرضی با استفاده از تیغ جراحی در محل کاشت کانول تهیه می شود و در صورتی که جایگاه تزریق مطابق با مختصات مورد نظر با توجه به اطلس پاکسینوس نباشد، داده های مربوط به حیوان از بررسی آماری حذف می شود.

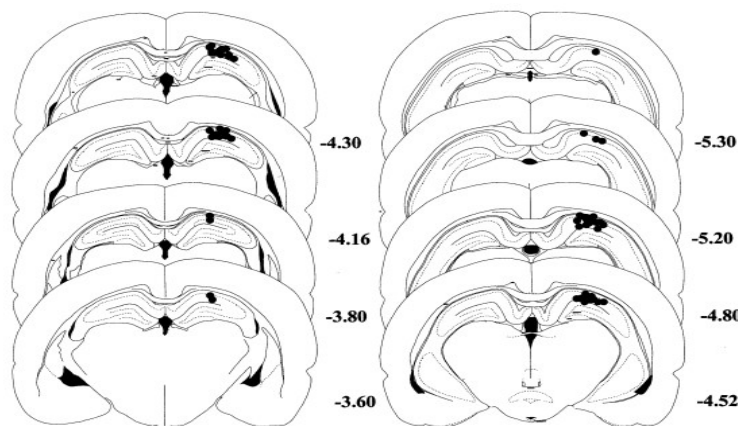
تحلیل آماری

افزایش زمان حضور در بازوهای باز و تعداد ورود به بازوهای باز معیار کاهش اضطراب در نظر گرفته شد. اطلاعات از طریق تحلیل واریانس ANOVA تحت بررسی قرار گرفت. ANOVA یک طرفه برای مقایسه مقادیر مختلف هیستامین در هیپوکامپ و مورفین و نالوکسان در سپتوم میانی و همچنین، برای ارزیابی برهم کنش بین



شکل ۱- شکل های شماتیک از برش های کنترل مغز موش نشان دهنده موقعیت نسبی جایگاه های تزریق در سپتوم میانی.

Fig. 1. Schematic figures of slices of rat brain indicating the relative positions of injections in medial septum.



شکل ۲ - شکل شماتیک از برش های کنترل مغز موش نشان دهنده موقعیت نسبی جایگاه های تزریق در هیپوکامپ پشتی.

Fig. 2. Schematic figures of slices of rat brain indicating the positions of injections sites in dorsal hippocampus.

شکل ۳ نشان دهنده اثر تزریق مقادیر مختلف هیستامین به هیپوکامپ پشتی بر رفتارهای شبه اضطرابی است. مقادیر مختلف هیستامین (1, 5, 10 $\mu\text{g}/\text{rat}$) به هیپوکامپ پشتی تزریق شد. ANOVA یک طرفه نشان داد که مقدار 10 $\mu\text{g}/\text{rat}$ هیستامین باعث تغییر در %OAT [$F(3,20)= 55.97$, $p<0.001$] و %OAE [$F(3,20)= 10.74$, $p<0.001$] است، ولی تغییری در فعالیت حرکتی [$F(3,20)= 1.91$, $p>0.05$] مشاهده نشد. تحلیل Post hoc نشان می دهد مقدار 10 $\mu\text{g}/\text{rat}$ هیستامین به صورت بارزی %OAT و %OAE را افزایش می دهد که بر اثر اضطراب زدایی هیستامین دلالت دارد.

هیستامین و مورفین مورد استفاده قرار گرفت. ANOVA دو طرفه نیز برای ارزیابی برهم کنش هیستامین و نالوکسان استفاده شد. به دنبال F-value معنادار، تحلیل Post-hoc (آزمون Tukey) برای مقایسه گروه ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. تفاوت با $p<0.05$ بین گروه های آزمایشی در هریک از نقاط به منزله آمار معنی دار تلقی شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Sigma Plot رسم شدند.

نتایج

اثر تزریق درون هیپوکامپی هیستامین بر اضطراب

اثر تزریق مورفین به سیتوم میانی بر اضطراب

شکل ۴ نشان دهنده اثر تزریق مقادیر مختلف مورفین به سیتوم میانی بر رفتارهای شبه اضطرابی است. مقادیر مختلف مورفین (0.25, 0.5, 1 µg/rat) به سیتوم میانی موش ها تزریق شد. یک-طرفه نشان می دهد که تزریق مقدار 1 µg/rat مورفین باعث تغییر در %OAT $[F(3,20)= 6.32, p<0.05]$ و %OAE $[F(3,20)= 5.23, p<0.01]$ می شود ولی تغییری در فعالیت حرکتی $[F(3,20)= 2.21, p>0.05]$ ایجاد نمی کند. تحلیل Post hoc نشان می دهد تزریق مقدار 1 µg/rat مورفین به سیتوم میانی به صورت بارزی %OAT و %OAE را افزایش می دهد که نشان از اثر اضطراب زدایی مورفین در سیتوم میانی دارد.

اثر تزریق هیستامین و مورفین به ترتیب به هیپوکامپ پستی و سیتوم میانی بر روی رفتار شبه اضطرابی

شکل ۵ نشان دهنده اثر تزریق مقادیر بی اثر هیستامین (1 µg/rat) و مورفین (0.25 µg/rat) به ترتیب به هیپوکامپ پستی و سیتوم میانی بر پارامترهای مرتبط با اضطراب در آزمون EPM است. تحلیل ANOVA یک طرفه نشان دهنده تغییر بارزی %OAT $[F(3,20) = 45.31, p<0.001]$ و %OAE $[F(3,20) = 39.22, p<0.001]$ است، درحالی که هیچ تغییری در فعالیت حرکتی $[F(3,20)= 2.61, p>0.05]$ مشاهده نشد. تحلیل Post hoc نشان می دهد که تزریق درون هیپوکامپی هیستامین (1µg/rat) و تزریق درون سیتومی مورفین (0.25µg/rat) به صورت بارزی %OAT و %OAE را افزایش می دهد که بر اثر سینرژستی هیستامین و مورفین در کاهش اضطراب دلالت دارد.

اثر تزریق هیستامین به هیپوکامپ پستی و تزریق نالوکسان به سیتوم میانی در مقایسه با تزریق نالوکسان به تنهایی به سیتوم میانی بر رفتارهای شبه اضطرابی

شکل ۶ نشان دهنده اثر تزریق درون هیپوکامپی هیستامین در مقدار مؤثر (10µg/rat) و تزریق هم زمان درون سیتومی مقادیر مختلف نالوکسان (1,2,4µg/rat) بر پارامترهای مرتبط با اضطراب در آزمون EPM است. در سمت چپ این نمودار همچنین، اثر تزریق مقادیر مختلف نالوکسان به سیتوم میانی بر اضطراب نیز نشان داده شده است. ANOVA یک طرفه تزریق مقادیر مختلف نالوکسان به سیتوم میانی نشان دهنده کاهش معنی دار %OAT $[F(3,20)= 4.44, p<0.05]$ و %OAE $[F(3,20)= 0.06, p<0.05]$ در مقدار مؤثر آن (4µg/rat) است، ولی تغییری در

فعالیت حرکتی $[F(3,20)= 2.48, p>0.05]$ دیده نشد. تحلیل Post hoc نشان می دهد که تزریق این مقدار نالوکسان به سیتوم میانی به صورت بارزی %OAT و %OAE را کاهش می دهد، که بر اثر اضطراب زایی نالوکسان دلالت دارد. در سمت راست این نمودار اثر تزریق درون هیپوکامپی هیستامین در مقدار مؤثر 10 µg/rat و تزریق هم زمان درون سیتومی مقادیر مختلف نالوکسان (1,2,4 µg/rat) بر پارامترهای مرتبط با اضطراب در آزمون EPM است. ANOVA دوطرفه بیان کننده برهم کنش مقادیر مختلف نالوکسان (فاکتور A) و مقدار مؤثر هیستامین (فاکتور B) است. ANOVA دوطرفه نشان دهنده تغییرات بارزی در افزایش %OAT و حاکی از اثر اضطراب زدایی است. ANOVA دوطرفه تغییری در پارامترهای %OAE و فعالیت حرکتی (LOC) نشان نداد.

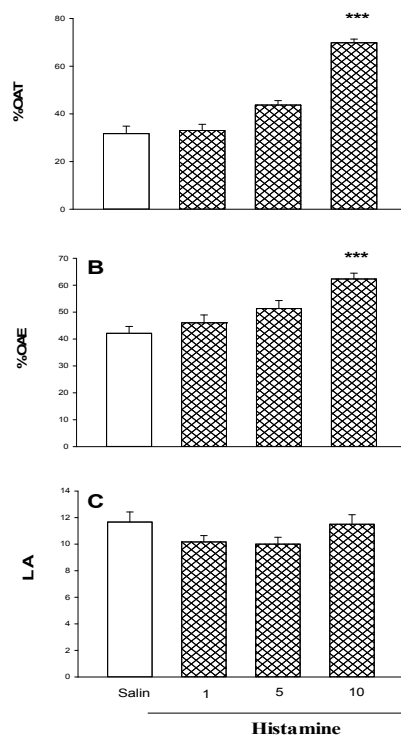
%OAT: [Factor A: $F(3,48)= 6.86, p<0.01$], [Factor B: $F(1,48)= 82.26, p<0.001$], [Factor (A*B): $F(3,48)= 1.14, p>0.05$].
%OAE: [Factor A: $F(3,48)= 4.38, p<0.001$], [Factor B: $F(1,48)= 23.03, p<0.001$], [Factor (A*B): $F(3,48)= 0.30, p>0.05$].
LOC: [Factor A: $F(3,48)= 2.64, p>0.05$], [Factor B: $F(1,48)= 0.10, p>0.05$], [Factor (A*B): $F(3,48)= 0.67, p>0.05$].

تحلیل Post hoc نشان می دهد تزریق مقدار ۱۰ میکروگرم هیستامین به هیپوکامپ پستی باعث برگرداندن اثر اضطراب زایی نالوکسان می شود.

همچنین، در این نمودار ANOVA یک طرفه نشان داد که برهم کنش تزریق مقدار ۴ میکروگرم نالوکسان به سیتوم میانی و مقدار ۱۰ میکروگرم هیستامین به هیپوکامپ پستی باعث کاهش %OAT $[F(3,20)= 3.51, p<0.05]$ شده است، در صورتی-که تغییر معنی داری در %OAE و فعالیت حرکتی مشاهده نشده است. تحلیل Post hoc نشان دهنده کاهش معنی دار %OAT بود که حاکی از این است که مقدار مؤثر نالوکسان در سیتوم میانی اثر اضطراب زدایی هیستامین را تعدیل کرده است.

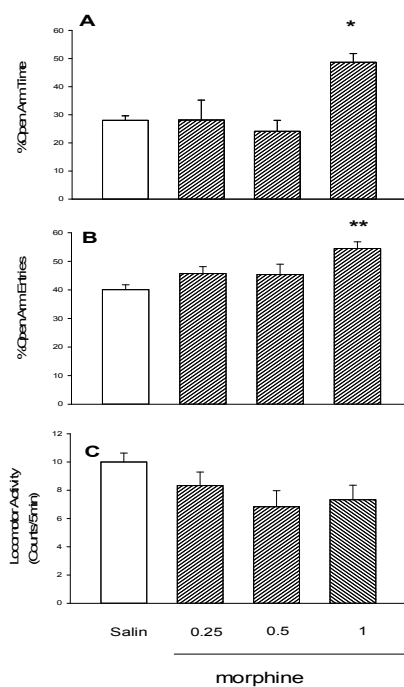
بحث

سیستم سیتوهیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک است که در رفتارهای مختلف از جمله اضطراب نقش به سزایی دارد. این سیستم پروجکشن های فراوانی به نواحی مختلف مغز ارسال می کند و بر عمل کرد این نواحی در زمینه رفتار ترس و اضطراب تأثیر می گذارد. هیپوکامپ از دو طریق به وسیله نورون های گابائرنژیک،



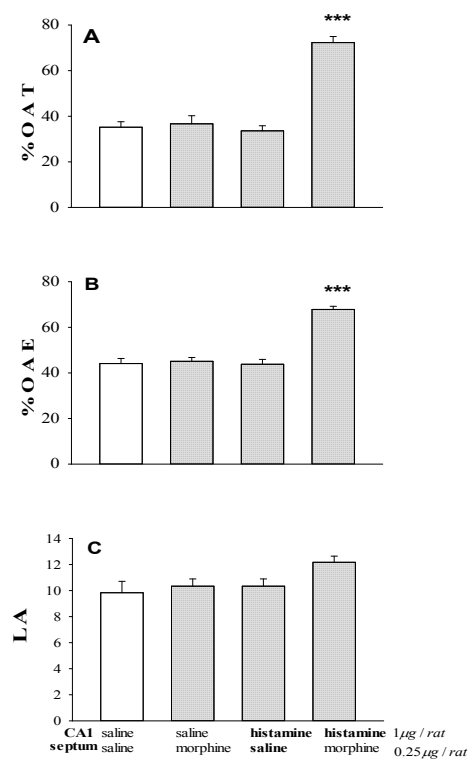
شکل ۳ - اثر تزریق هیستامین به هیپوکامپ پشتی بر اضطراب.

Fig. 3. Effects of histamine microinjection into dorsal hippocampus on anxiety.



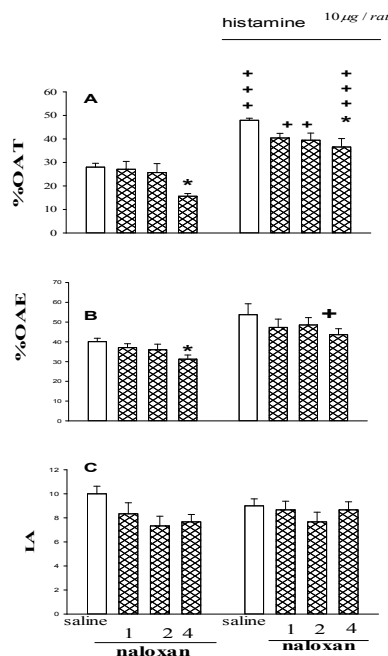
شکل ۴ - اثر تزریق مورفین به سیتوم میانی بر اضطراب.

Fig. 4. Effects of morphine microinjection into medial septum on anxiety.



شکل ۵- اثر تزریق هیستامین و مورفین به ترتیب به هیپوکامپ پستی و سیتوم میانی بر رفتار شبه اضطرابی.

Fig. 5. Effects of histamine and morphine into dorsal hippocampus and medial septum on anxiety.



شکل ۶- اثر تزریق هیستامین به هیپوکامپ پستی و تزریق نالوکسان به سیتوم میانی در مقایسه با تزریق نالوکسان به تنهایی به سیتوم میانی بر رفتارهای شبه اضطرابی.

Fig. 6. Effects of histamine and nolozone microinjection into dorsal hippocampus and medial septum and - micro injection into medial septum only on nolozone anxiety behavior.

هیپوکامپ شکمی باعث افزایش اضطراب و ترس می شود (Rostami *et al.*, 2006). در مطالعه حاضر سیستم اپیوئیدریک سیتوم میانی نیز تحت بررسی قرار گرفت. تزریق مورفین (آگونیست رسپتور μ اپیوئیدی) به سیتوم میانی در مقادیر زیاد (1 μ g/rat OAT و %OAE را در آزمون EPM افزایش داد، بدون اینکه تأثیری بر فعالیت حرکتی حیوانات آزمودنی داشته باشد. این نتایج نشان دهنده این موضوع است که تزریق مورفین به سیتوم میانی باعث کاهش رفتارهای شبه اضطرابی شده است. در تأیید نتایج آزمایش حاضر گزارش های دیگری نیز حکایت از این دارند که مورفین اثر ضد اضطراب خود را پس از تجویز محیطی و همچنین، مرکزی اعمال می کند (Shin *et al.*, 2003). از طرف دیگر تجویز نالوکسان، که یک آنتاگونیست اپیوئیدی است، موجب افزایش رفتار اضطرابی در موش های صحرایی می شود (Zhang *et al.*, 1996).

تزریق مقدار واحدی از مورفین به داخل صفاق و هسته مرکزی آمیگدال موجب افزایش معنی دار فعالیت جستجوگرانه موش های صحرایی در ماز به علاوه ای شکل مرتفع می شود. به عبارت دیگر، اثر ضد اضطرابی بالقوه ای را در موش صحرایی ایجاد می کند (Koks *et al.*, 1999). این عمل ممکن است از طریق کاهش درآزادسازی نورآدرنالین در نواحی متعدد مغزی از جمله هسته مرکزی آمیگدال باشد (Tanaka *et al.*, 2000). نشان داده شده است که رسپتورهای اپیوئیدی مهار آزادسازی استیل کولین را در CNS میانجی گری می کنند. همچنین، مشخص شده است که مهار آزادسازی استیل کولین از نورون های کولینرژیک سیتوم میانی، که به هیپوکامپ پروجکت می شوند، از طریق رسپتورهای μ و δ اپیوئیدی در سیتوم میانی میانجی گری می شود (Gazyakan *et al.*, 2000). بر خلاف این یافته ها Degroot و همکاران (2001) نشان دادند که افزایش سطوح استیل کولین در هیپوکامپ پستی اضطراب را کاهش می دهد.

تا این مرحله از آزمایش های حاضر مشخص شد که سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ پستی و سیستم اپیوئیدریک سیتوم میانی هرکدام به صورت جداگانه در تعدیل اضطراب مؤثرند. در مرحله بعدی، برهم کنش بین سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ پستی و سیستم اپیوئیدریک سیتوم میانی تحت بررسی قرار گرفت. از آنجا که هیستامین و مورفین هرکدام به تنهایی اضطراب-

سیتوم میانی را مهار می کند: یک مسیر، ورودی های مستقیم گابائترژیک از هیپوکامپ به سیتوم میانی و دیگری، مسیر گلوتاماترژیک به سیتوم جانبی و سپس، مسیر گابائترژیک از سیتوم جانبی به سیتوم میانی است. سیتوم اصلی ترین ورودی های کولینرژیک به هیپوکامپ را فراهم می کند. همچنین، نورون های گابائترژیک از سیتوم میانی به هیپوکامپ ارسال می شوند (Mizumori *et al.*, 1999). با توجه به اینکه سیستم گلوتاماترژیک اصلی ترین سیستم دخیل در هیپوکامپ است و بیشتر نورون های موجود در هیپوکامپ گلوتاماتی هستند، این احتمال وجود دارد که تزریق داروهای مختلف به داخل هیپوکامپ، میزان رهایش گلوتامات از این نورون ها را تغییر دهد و به تبع آن باعث تغییر در فعالیت گیرنده های گلوتاماتی شود. نتایج این مطالعه نشان می دهد که تزریق دوطرفه هیستامین به هیپوکامپ پستی به صورت وابسته به مقدار سبب افزایش OAT و %OAE در آزمون EPM بدون هیچ گونه اثری بر فعالیت حرکتی می شود، که نشان دهنده اثر اضطراب زدایی آن است. Zarrindast و همکاران (2006) با تزریق هیستامین به هیپوکامپ پستی به نتایج مشابه تحقیق حاضر رسیدند. به نظر می رسد اثر اضطراب زدایی هیستامین در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی از طریق اثر آن بر رسپتور هیستامینی H2 است. به طوری که در مطالعات قبلی تزریق رانیتیدین (آنتاگونیست گیرنده H2) به هیپوکامپ پستی اثر اضطراب زایی داشته است و این بدین معنی که گیرنده H2 در پی فعال شدن توسط هیستامین عموماً اضطراب زدا است. Santos و همکاران (2001) گزارش کرد که تزریق رانیتیدین به درون IC (Inferior Colliculus) رفتارهای مربوط به ترس و اضطراب را در موش ها افزایش می دهد. آنتاگونیست های رسپتور H2 می توانند استیل کولین استراز را مهار کنند و بدین ترتیب باعث افزایش استیل کولین شوند. از آنجا که استیل کولین احتمالاً رفتارهای مرتبط با اضطراب را تعدیل می کند، احتمالاً پاسخ آنتاگونیست های هیستامین توسط تغییرات در سطوح استیل کولین میانجی گری می شود. همچنین، احتمال می رود، مقادیر زیاد هیستامین بر گیرنده های پیش سیناپسی H3 عمل نموده و باعث ایجاد پاسخ های اضطراب زدا شود (Zarrindast *et al.*, 2006). باید توجه داشت که اثر هیستامین بر رفتارهای شبه اضطرابی شدیداً به مکان تزریق وابسته است. برای مثال، تزریق هیستامین به آمیگدال

زیادی نالوکسان در تزریق به سیتوم میانی، باعث بروز رفتارهای شبه اضطرابی شد. به عبارت دیگر تزریق نالوکسان به سیتوم میانی اضطراب را بود. در مطالعات قبلی گزارش شده است که مقادیر زیاد آنتاگونیست اپیوئیدها (نالوکسان)، با اثر ضد اضطرابی بنزو-دiazepin ها در آزمون هایی که شاخص های ضد اضطرابی را نشان می دهند تداخل دارند. این امر می تواند به این دلیل باشد که نالوکسان بیشتر به بلوکر سیتورهای μ و δ تمایل دارد تا رسپتور K. از سوی دیگر، مقادیر زیاد نالوکسان که بیشتر سبب بلوک رسپتورهای K می شوند تا رسپتورهای μ و δ ، سبب کاهش اثر ضد اضطراب بنزودیازپین ها می شوند (Tsuda et al., 1996). محققان دیگری که روش های غیرتداخلی را جهت بررسی اضطراب به کار برده اند، مشاهده کرده اند که مقادیر متوسط نالوکسان و نالتروکسان (بلوک کننده رسپتور μ) اثر ضد اضطراب بنزودیازپین ها را افزایش می دهند (Nobre et al., 2000).

در این مطالعه، اثر تزریق مقادیر مختلف نالوکسان به سیتوم میانی و تزریق هم زمان مقدار مؤثر هیستامین ($10\mu\text{g}/\text{rat}$) به هیپوکامپ پستی بررسی شد و نتایج با اثر تزریق مقادیر نالوکسان به تنهایی در سیتوم میانی مقایسه شد. همان طور که در بخش نتایج مشاهده شد، با وجود اینکه تزریق مقادیر زیاد نالوکسان اثر اضطرابی در پی داشت، مقدار مؤثر هیستامین در هیپوکامپ پستی این اثر را برگرداند. در مطالعه اخیر علیرغم بسته شدن گیرنده های اپیوئیدی توسط نالوکسان، هیستامین باعث کاهش اضطراب شده است که نشان می دهد هیستامین مغزی گاهی به طور غیرمجاز و غیر وابسته به سیستم اپیوئیدی می تواند واکنش های اضطرابی را کاهش دهد. البته، باید توجه داشت که مقدار ۴ میکروگرم نالوکسان باعث کاهش OAT % در موش هایی شد که مقدار مؤثر هیستامین دریافت کرده بودند، اما قدرت اضطراب زدایی هیستامین به مراتب بیشتر از اثر نالوکسان بود. این یافته ها نشان می دهند که در حضور مورفین اثر ضد اضطرابی هیستامین تقویت می شود. همچنین، در هنگام بلوک شدن گیرنده های اپیوئیدی توسط نالوکسان، مقدار مؤثر هیستامین می تواند اثر ضد اضطرابی را اعمال کند.

از این یافته ها می توان نتیجه گرفت که سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ و اپیوئیدرژیک سیتوم میانی در سیستم سیتو هیپوکامپ با هم برهم کنش دارند و بر هم کنش این دو سیستم در تعدیل اضطراب دخیل است.

زدا بودند، به منظور بررسی برهم کنش این دو سیستم با هم، مقادیر بی اثر این دو ماده که به تنهایی اثری بر رفتار شبه اضطرابی نداشتند، هم زمان به هیپوکامپ پستی و سیتوم میانی تزریق شد. بدین منظور، مقدار بی اثر هیستامین ($1\mu\text{g}/\text{rat}$) به هیپوکامپ پستی و مقدار بی اثر مورفین ($0.25\mu\text{g}/\text{rat}$) به سیتوم میانی تزریق شد که اثر اضطراب زدا مشاهده شد. از این آزمایش می توان نتیجه گرفت که هیستامین و مورفین به صورت سینرژستی عمل نموده و اضطراب را کاهش داده اند که نشان دهنده برهم کنش هیپوکامپ و سیتوم میانی در تعدیل رفتارهای شبه اضطرابی است. مورفین در آزاد شدن هیستامین مغزی نقش دارد، زیرا مشخص شده است که مورفین از طریق گیرنده μ -اپیوئیدی و همچنین، برخی استرس ها موجب آزاد شدن هیستامین مغزی می شود (Hough et al., 2000). به علاوه، مورفین در نورون های هیستامینرژیک هسته توبرومامیلاری موجب دپلاریزاسیون نورون ها و افزایش تحریک پذیری آنها و آزاد شدن هیستامین شده است (Eriksson et al., 2000). بررسی ها نشان می دهند که ترشح نورآدرنالین به واسطه استرس بی حرکتی، می تواند توسط آنتاگونیست گیرنده اپیوئیدی (نالوکسان) افزایش یابد، در حالی که پپتیدهای شبه اپیوئیدی آزاد شده، در هنگام استرس بی حرکتی باعث کاهش سطح نورآدرنالین در هیپوتالاموس، آمیگدال و تالاموس می شود (Tanaka et al., 1998). مورفین و بعضی پپتیدهای اپیوئیدی، می توانند نه تنها میزان نورآدرنالین را کاهش دهند، بلکه پاسخ های هیجانی را نیز کم می کنند. علاوه بر این، پاسخ های هیجانی همچون جنگ و ستیز، فرار کردن و کاهش وزن ناشی از استرس، به وسیله به کارگیری مورفین کاهش می یابد و این اثر به وسیله نالوکسان از بین می رود. از طرف دیگر، میان کنش بین اپیوئیدها و نورآدرنالین وجود دارد و اپیوئیدها به صورت پیش سیناپسی باعث کاهش ترشح نورآدرنالین می شوند. دلایلی وجود دارد که اپیوئیدها بیان ترس را کاهش می دهند، به طوری که تزریق آگونیست گیرنده μ به درون آمیگدال، باعث کاهش بروز شاخص های مربوط به ترس می شود. مشخص شده است تزریق مورفین به درون آمیگدال بیان ترس را کاهش می دهد. نهایتاً اینکه مورفین آزادسازی هیستامین را در مغز افزایش می دهد. در این مطالعه اثر تزریق نالوکسان (آنتاگونیست رسپتور μ اپیوئیدی) به سیتوم میانی بر رفتارهای شبه-اضطرابی تحت بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقادیر

REFERENCES

- Bartoletti, M., Gaiardi, M., Gubellini, C., Bacchi, A. and Babbini, M.** 1990. Morphine attenuation of a conditioned emotional response in postdependent rats. – *Eur. J. Pharmacol.* 185: 163-167.
- Degroot, A. and Kashluba, S.** 2001. Septal GABAergic and hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. – *Pharmacol. Biochem. Behav.* 69: 391-399.
- DeVries, A.C., Taymans, S.E., Sundstrom, J.M. and Pert, A.** 1998. Conditioned release of corticosterone by contextual stimuli associated with cocaine is mediated by corticotropin-releasing factor. – *Brain Res.* 786: 39-46.
- Drugan, R.C. and Skolnick, P.** 1986. Low doses of muscimol produce anticonflict actions in lateral septum of the rat. – *Neuropharm.* 25: 203-205.
- Eriksson, K.S., Stevens, D.R. and Haas, H.L.** 2000. Opposite modulation of histaminergic neurons by nociceptin and morphine. – *Neuropharm.* 39: 2492-2498.
- Filliol, D., Ghazland, S., Chluba, J., Martin, M., Matthes, H.W. and Simonin, F.** 2000. Mice deficient for delta- and mu-opioid receptors exhibit opposing alterations of emotional responses. – *Nat. Genet.* 25: 195-200.
- Frisch, C., Hasenohrl, R.U., Krauth, J. and Huston, J.P.** 1998. Anxiolytic-like behavior after lesion of the tuberomammillary nucleus E2-region. – *Exp. Brain Res.* 119: 260-264.
- Gazyakan, E., Disko, U., Haaf, A., Heimrich, B. and Jackisch, R.** 2000. Postnatal development of opioid receptors modulating acetylcholine release in hippocampus and septum of the rat. – *Dev. Brain Res.* 123: 135-141.
- Givens, B.S. and Olten, D.S.** 1990. Cholinergic and Gabaergic modulation of medial septal area: effect on working memory. – *Behave. Neurosci.* 104: 849-855.
- Gorden, M.S.** 2000. *Neurobiology*. Third edition. – Oxford University Press. 34- 618 pp.
- Hough, L.B., Nalwalk, J.W., Barnes, W.G., Leurs, R., Menge, W.M., Timmerman H. and Wentland, M.** 2000. A third life for burimamide. Discovery and characterization of a novel class of non-opioid analgesics derived from histamine antagonists. – *Ann. NY Acad. Sci.* 909: 25-40.
- Köks, S., Soosaar, A., Võikar, V., Bourin, M. and Vasar, E.** 1999. BOC-CCK-4, CCK (B) receptor agonist, antagonizes anxiolytic-like action of morphine in elevated plus-maze. – *Neuropeptides* 33: 63-69.
- Lamour, Y., Bassant, M.H., Jobert, A. and Joly, M.** 1989. Septo-hippocampal neurons in the aged rat: relation between their electrophysiological and pharmacological properties and behavioral performances. – *Neurobiol. Aging.* 10: 181-186.
- Mizumori, S.J.Y., Ward, K.E. and Lavoie, A.M.** 1992. Medial septal modulation of entorhinal single unit activity in anesthetized and freely moving rat. – *Brain Res.* 570: 188-197.
- Moghaddam, B.** 2003. Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. – *Neuron* 40: 881-884.
- Nobre, M.J., Ribeiro, D.S.N., Aguiar, M.S. and Brandao, M.L.** 2000. Blockade of and activation of opioid receptors in the dorsal periaqueductal gray matter produ-

سپاسگزاری

از همکاری بخش فیزیولوژی دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی در انجام این تحقیق سپاسگزاریم.

- ce defensive behavior in rats in the elevated plus-maze. – Eur. J. Pharmacol. 404: 145-151.
- Panula, P., Yang, H.P. and Costa, E.** 1984. Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 2572-2576.
- Paxinos, G. and Watson, C.** 1998. The rat brain in stereotaxic coordinates. – Accademic Press. New York: USA. 28-31 pp.
- Pesold, C. and Treit, D.** 1994. The septum and amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. – Brain Res. 638: 295- 301.
- Rostami, P., Hajizadeh-Moghaddam, A. and Zarrindast, M.R.** 2006. The effects of histaminergic agents in the ventral hippocampus of rats in the plus-maze test of anxiety-like behaviors. – Physiol. Behavior. 87: 891-896.
- Santos, N.R., Huston, J.P. and Brandao, M.L.** 2003. Blockade of histamine H2 receptors of the periaqueductal gray and inferior colliculus induces fearlike behaviors. – Pharmacol. Biochem. Behav. 75: 25-33.
- Shin, I.C., Kirn, H.C., Swanson, J., Hong, J.T. and Oh, K.W.** 2003. Anxi-lyic effects of acute morphine can be modulate by nitric oxide systems. – Pharmacol. 68: 183-189.
- Swanson L.W. and Cowan W.M.** 1979. The connections of the septal region in the rat. – J. Comp. Neurol. 186: 621-656.
- Tanaka M., Yoshida, M., Emoto, H. and Ishii, H.** 2000. Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. – Eur. J. Pharmacol. 405: 397-406.
- Tsuda, M., Suzuki, T., Misawa, M. and Nagase, H.** 1996. Involvement of the opioid system in the anxiolytic effect of diazepam in mice. – Eur. J. Pharmacol. 307: 7-14.
- Yamatodani, A., Fukuda, H., Wada, H., Iwaeda, T. and Watanabe, T.** 1985. 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. 8: 115-23.
- Zarrindast, M.R., Torabi, M., Rostami, P. and Fazli-Tabaei, S.** 2006. The Effects of histaminergic agents in the dorsal hippocampus of rats in the elevated plus-maze test of anxiety. – Pharmacol. Biochem. Behav. 85: 500-506.
- Zarrindast, M.R., Valizadegan, F., Rostami, P. and Rezayof, A.** 2006. Histaminergic receptors of medial septum and conditioned place preference: D1 dopamine receptor mechanism. – Brain Res. 1109: 108-116.
- Zhang, H.T., Xu, Z.M., Luo, Z.P. and Qin, B.Y.** 1996. Anxiogenic effect of naltrexone in socialinteraction test in rats. – Zhongguo Yao Li Xue Bao.17: 314-317.

How to cite this article:

Kolivandzadeh, A., Valizadegan, F. and Zarrindast, M.R. 2017. Interaction between dorso-hippocampal histaminergic and medio-septal opioidergic systems in anxiety behavior. – Nova Biologica Rep. 4: 189-200.

کولیوندزاده، ع.، ولی زادگان، ف. و زرین دست، م. ر. ۱۳۹۶. میان کنش سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ پشتی و اپیوئیدرژیک سبتوم میانی بر رفتارهای شبه-اضطرابی. – یافته های نوین در علوم زیستی ۴: ۱۸۹-۲۰۰.