

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

علی کولیوندزاده<sup>۱</sup>، فرهاد ولی زادگان<sup>۲\*</sup> و محمدرضا زرین دست<sup>۳</sup>

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

<sup>۱</sup>گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

<sup>۲</sup>گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، مازندران، ایران

<sup>۳</sup>گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

\*مستول مکاتبات: f.valizadegan@umz.ac.ir

**چکیده.** مهم‌ترین بخش مغز که در اضطراب نقش دارد، سیستم لیمبیک است که واحد سه بخش مهم هیپوکامپ، آمیگدال و سیتوم است. سیستم سیتوهیپوکامپ، نقش مهمی در تنظیم رفتارهای ترس و اضطراب برعهده دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهد 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 موش‌ها با استفاده از آزمون Elevated Plus Maze (EPM) تحت بررسی قرار گرفت. تزریق ۵ و ۱۰ هیستامین در هیپوکامپ پستی اثری بر رفتارهای شبه اضطرابی نداشت، درحالی‌که تزریق ۱۰  $\mu\text{g}/\text{rat}$  هیستامین باعث افزایش درصد زمان ورود و دفعات ورود به بازوی باز شد، که نشان‌دهنده اثر اضطراب‌زدایی هیستامین است. تزریق مورفین (آگونیست رسپتور  $\mu$ -اپیوئیدی) به درون سیتوم میانی (۱  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) باعث افزایش زمان ورود و دفعات ورود به بازوی باز شد. تزریق مقادیر ۰.۲۵ و ۰.۵  $\mu\text{g}/\text{rat}$  مورفین اثری بر اضطراب نداشت. تزریق هم‌زمان مقادیر بی‌اثر هیستامین (۱  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) به هیپوکامپ پستی و مورفین (۰.۵  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) به سیتوم میانی باعث افزایش زمان ورود و دفعات ورود به بازوی باز شد. تزریق مقادیر مختلف نالوکسان (۱، ۲ و ۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی به سیتوم میانی در حضور و غیبت مقدار مؤثر هیستامین (۱۰  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) در هیپوکامپ پستی، تحت بررسی قرار گرفت. تزریق مقدار ۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$  نالوکسان به سیتوم میانی درصد زمان گذرانده در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز را کاهش داد، که این یافته‌ها نشان‌دهنده اثر اضطراب‌زایی نالوکسان بعد از تزریق به سیتوم میانی بود. تزریق مقدار ۱۰  $\mu\text{g}/\text{rat}$  هیستامین به هیپوکامپ پستی و به‌طور هم‌زمان تزریق سه مقدار مختلف نالوکسان (۱ و ۲ و ۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) نشان داد هیستامین اثر اضطراب‌زایی نالوکسان را با افزایش زمان ورود و تعداد ورود به بازوی باز، تا حدود زیادی خنثی کرد، هرچند در مقدار ۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$  نالوکسان این اثر کمتر است. از این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ و اپیوئیدرژیک سیتوم میانی در سیستم سیتوهیپوکامپ با هم برهم‌کنش دارند و برهم‌کنش این دو سیستم در تعدیل اضطراب دخیل است.

**واژه‌های کلیدی.** هیستامین، مورفین، اضطراب، نالوکسان، رت

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

Ali Kolivandzadeh<sup>1</sup>, Farhad Valizadegan<sup>2\*</sup> & Mohammad Reza Zarrindast<sup>3</sup>

Received 08.07.2016/ Accepted 03.09.2016/ Published 22.09.2017

<sup>1</sup>Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

<sup>3</sup>Department 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 opioidergic 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  $\mu\text{g}/\text{rat}$  histamine into dorsal hippocampus had no effect on anxiety-like behavior, while injection of 10  $\mu\text{g}/\text{rat}$  histamine increased the percentage of open arm time (%OAT) and open arm entry (%OAE), which indicated the anxiolytic effects of histamine. Microinjection of morphine,  $\mu$ -opioid receptor agonist, into the medial septum (1  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) increased the (%OAT) and (%OAE). Doses of 0.25, 0.5  $\mu\text{g}/\text{rat}$  morphine had no effect on anxiety. Co-administration of histamine ineffective dose (1  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) to the dorsal hippocampus and ineffective dose of morphine (0.25  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) to the medial septum increased the (%OAT) and (%OAE). Subsequently, injection of different doses of naloxone (1, 2, 4  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ), as an opioid receptor antagonist, into the medial septum in the presence and absence of an effective dose of histamine (10  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) in the dorsal hippocampus, was studied. Injection of naloxone (4  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) 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  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) into dorsal hippocampus with doses of naloxone (1, 2, 4  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) into the medial septum, indicate anxiolytic effects and increased %OAT and %OAE in Elevated Plus Maze, although when the dose of naloxone was 4  $\mu\text{g}/\text{rat}$ , this effect was less observed. The results indicate that hippocampus histaminergic system interact with medial septum opioidergic 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 شبه‌اضطرابی تأثیر دارد که این تأثیر در مطالعات مختلف تاحدودی متفاوت بوده است. تزریق هیستامین در هیپوکامپ پستی موش‌ها اثر شبه‌اضطراب‌زدایی را در آزمون Elvaeted Pluse Maze (EPM) به دنبال دارد، درحالی‌که تزریق آن به داخل آمیگدال مرکزی و هیپوکامپ شکمی موش‌ها باعث بروز رفتار شبه‌اضطرابی 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 فیبری است که در میان شاخ‌های قدامی بطن‌های جانبی، زیربخش میانی و قدامی کورپوس کالوزوم بین دو نیم‌کره و در قسمت پستی بخش میانی قرار می‌گیرد (Mizumori *et al.*, 1992). برطبق آخرین یافته‌های آناتومیکی و فیزیولوژیکی، 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 تلسفال، دینسفال و ساقه مغز دریافت می‌کند (Swanson & Cowan, 1979). از طرف 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 گاباثرژیک، 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-ثرژیک ختم می‌شوند. چنانچه تحریک کولینرژیک باعث فعالیت

هریک از آنها شود، درنهایت، باعث فعالیت نورون‌های گاباثرژیک و در نتیجه 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 ضداضطرابی 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 از جمله سیستم دوپامینی مزولیمبیک به تصاحب خود درآورد و از این طریق جنبه‌های ویژه اعتیاد، از جمله 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 از طریق 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 ضداضطرابی بالقوه‌ای در موش صحرایی ایجاد می‌کند (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). 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 شبه‌اضطرابی به‌وجود می‌آورد و احتمالاً از طریق تعدیل محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-آدرنال (HPA) عمل خود را به ثمر می‌رساند. بنابراین، مواد مخدر ممکن است زمینه‌ساز بیشتر آثار اضطراب‌زا در موجود زنده باشد (DeVries *et al.*, 1998). رسپتورهای اپیوئیدی گاهی آثار متفاوت و حتی متضادی در اضطراب دارند؛ برای مثال، در موش‌هایی که فاقد رسپتور کاپا هستند هیچ تغییر فنوتیپی در رفتار اضطرابی مشاهده نمی‌شود. از طرفی، 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 چهارتایی در قفس های جدا نگهداری شدند و درجه اتاق پرورش حیوانات ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد است و تنظیم نور برمبنای 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 استریوتاکسیک و کانول گذاری

این روش جراحی با استفاده از دستگاه استریوتاکس 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 استریوتاکس 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 فرورفتگی 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 غیرتداخلی را جهت بررسی اضطراب استفاده کرده اند، مشاهده کرده اند که مقادیر متوسط نالوکسان و نالتروکسان (بلوکر رسپتور $\mu$ ) اثر ضد اضطراب بنزودیازین 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 آناتومیکی، 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 زیرقشری 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

دارد و برای جلوگیری از افتادن موش صحرایی در دو طرف و انتهای راهروی باز لبه‌ای به ارتفاع ۱ cm از جنس شیشه نصب می‌شود. چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی-متر منتهی می‌شوند. Maze به وسیله پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰ cm از سطح زمین قرار می‌گیرد. موش‌ها درون محدوده مرکزی ماز قرار داده شدند، به طوری که رو به یک راهروی باز قرار می‌گرفتند. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ وات که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از مرکز ماز قرار داشت، تامین می‌شد. در مدت ۵ دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کرد. پارامترهای زیر به روش مشاهده اندازه‌گیری می‌شد. منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می‌گرفت. زمان گذرانده‌شده در راهرو بر همین اساس محاسبه شده است. برای هر حیوان درصد ورود به راهروی باز (%Open Arm Entry: %OAE) و درصد زمان گذرانده‌شده در راهروی باز (%Open Arm Time: %OAT) محاسبه می‌شود.

#### برش بافتی به منظور تعیین موقعیت تزریق

پس از انجام آزمون رفتاری و ثبت داده‌ها 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 می‌شود. سپس، حیوان با کلروفرم کشته می‌شود و با جدا کردن سر، مغز آن را از جمجمه خارج می‌کنیم و آن را در شیشه حاوی فرمالین قرار می‌دهیم. پس از گذشت ۴۸ ساعت، برش‌های عرضی با استفاده از تیغ جراحی در محل کاشت کانول تهیه می‌شود و در صورتی که جایگاه تزریق مطابق با مختصات مورد نظر با توجه به اطلس پاکسینوس نباشد، داده‌های مربوط به حیوان از بررسی آماری حذف می‌شود.

#### 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

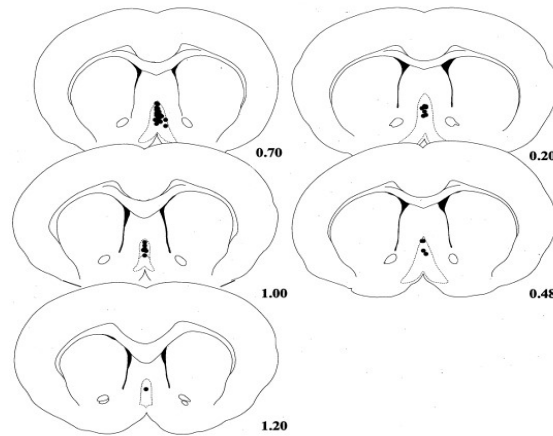
بر اساس اطلس پاکسینوس، مختصات محل کانول گذاری در ناحیه CA<sub>1</sub> هیپوکامپ پشتی (فدامی - خلفی (AP): ۲/۳ mm-)، میانی جانبی (ML): ±۲ mm، عمق (DV): ۱/۶ mm-) و سپتوم میانی (فدامی - خلفی (AP): ۱/۲ mm+)، میانی جانبی (ML): mm ±۰/۱، عمق (DV): ۵/۵ mm-) را مشخص می‌کنیم. بعد از مشخص شدن مختصات دقیق نواحی هیپوکامپ پشتی و سپتوم میانی، با استفاده از مته‌های کوچک، جمجمه را در این نواحی سوراخ می‌کنیم. در مرحله بعد، کانول راهنما (تهیه شده از سر سوزن ۲۲ گیج) با استفاده از دستگاه استریوتاکس (شکل‌های ۱ و ۲) در درون سوراخ قرار داده می‌شود. به کمک خط کش عمودی دستگاه، مختصات نقطه عمقی را به دست می‌آوریم و به کمک خط کش عمودی کانول راهنما را تا عمق مورد نظر فرو می‌بریم. سپس کانول‌های دیگر را (بسته به گروه آزمایشی) در نقاط مورد نظر به همین صورت قرار می‌دهیم. در مرحله بعد، اطراف کانول یا کانول‌ها با آکريل دندان پزشکی مخلوط شده با محلول مونومر پوشانده می‌شود تا کانول راهنما در محل مورد نظر محکم شود. بعد از سفت شدن سیمان، سوزن را از منفذ خارج می‌کنیم. بعد از اطمینان از سفت شدن سیمان، حیوان را از دستگاه خارج می‌کنیم. همه حیوانات یک هفته پس از جراحی دوره بهبودی پس از بیهوشی را طی می‌کنند.

#### تزریق داخل هیپوکامپی و داخل سپتومی

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

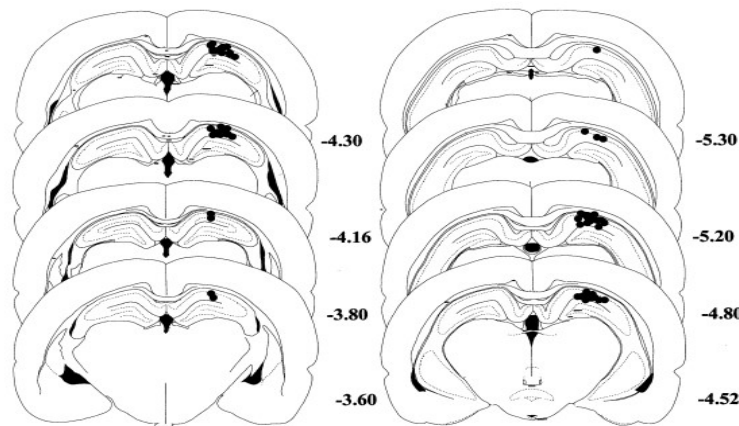
#### دستگاه سنجش اضطراب

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



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. مقدارهای 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 [F(3,20)= 10.74,  $p < 0.001$ ] OAE شده 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 هر یک 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 سپتوم میانی بر اضطراب

شکل ۴ نشان دهنده اثر تزریق مقادیر مختلف مورفین به سپتوم میانی بر رفتارهای شبه اضطرابی است. مقادیر مختلف مورفین (0.25, 0.5, 1 µg/rat) به سپتوم میانی موشها 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 سپتوم میانی به صورت بارزی %OAT و %OAE را افزایش می دهد که نشان از اثر اضطراب زدایی مورفین در سپتوم میانی دارد.

### اثر تزریق هیستامین و مورفین به ترتیب به هیپوکامپ پشتی و سپتوم 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 پشتی و سپتوم 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] در حالی 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 سپتومی 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 پشتی و تزریق نالوکسان به سپتوم میانی بر رفتارهای شبه اضطرابی

شکل ۶ نشان دهنده اثر تزریق درون هیپوکامپی هیستامین در مقدار مؤثر (10µg/rat) و تزریق هم زمان درون سپتومی 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 سپتوم میانی بر اضطراب نیز نشان داده شده است. ANOVA یک طرفه تزریق مقادیر مختلف نالوکسان به سپتوم 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 سپتوم 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 سپتومی 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.

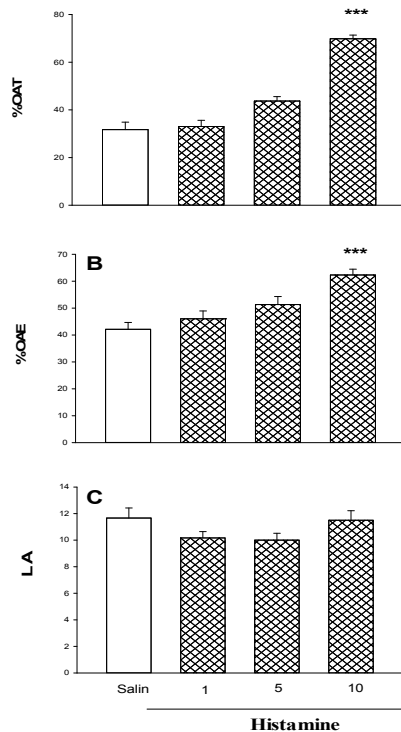
%OAT: [Factor A: F(3,48)= 6.86, p<0.01], [Factor B: F(1,48)= 82.26, p<0.001], [Factor (A\*B): F(3,48)= 1.14, p>0.05].  
%OAE: [Factor A: F(3,48)= 4.38, p<0.001], [Factor B: F(1,48)= 23.03, p<0.001], [Factor (A\*B): F(3,48)= 0.30, p>0.05].  
LOC: [Factor A: F(3,48)= 2.64, p>0.05], [Factor B: F(1,48)= 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 پشتی 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 سپتوم میانی و مقدار ۱۰ میکروگرم هیستامین به هیپوکامپ پشتی 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 سپتوم میانی اثر اضطراب زدایی هیستامین را تعدیل کرده است.

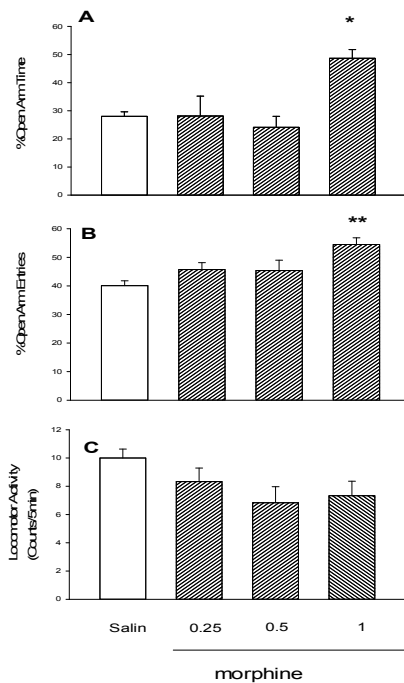
### بحث

سیستم سپتوهیپوکامپ 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 گاباثرژیک،



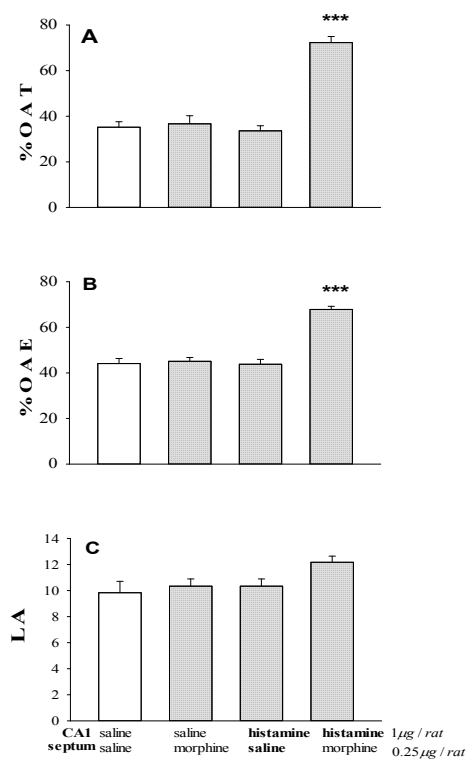
شکل ۳ - اثر تزریق هیستامین به هیپوکامپ پشتی بر اضطراب.

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

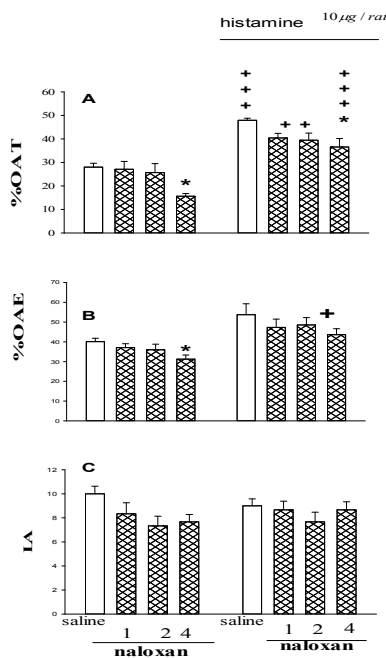


شکل ۴ - اثر تزریق مورفین به سیتوم میانی بر اضطراب.

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 naloxone microinjection into dorsal hippocampus and medial septum and - micro injection into medial septum only on naloxone anxiety behavior.



هیپوکامپ شکمی باعث افزایش اضطراب و ترس می شود (Rostami *et al.*, 2006). در مطالعه حاضر سیستم اپیوئیدریک سپتوم میانی نیز تحت بررسی قرار گرفت. تزریق مورفین (آگونیست رسپتور  $\mu$  اپیوئیدی) به سپتوم میانی در مقادیر زیاد (1  $\mu$ 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 سپتوم 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 در آزادسازی 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 سپتوم میانی، که به هیپوکامپ پروجکت می شوند، از طریق رسپتورهای  $\mu$  و  $\delta$  اپیوئیدی در سپتوم 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 پشتی اضطراب را کاهش می دهد.

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

سپتوم میانی را مهار می کند: یک مسیر، ورودی های مستقیم گابائوژیک از هیپوکامپ به سپتوم میانی و دیگری، مسیر گلوتاماترژیک به سپتوم جانبی و سپس، مسیر گابائوژیک از سپتوم جانبی به سپتوم میانی است. سپتوم اصلی ترین ورودی های کولینرژیک به هیپوکامپ را فراهم می کند. همچنین، نورون های گابائوژیک از سپتوم 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 پشتی 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 پشتی به نتایج مشابه تحقیق حاضر رسیدند. به نظر می رسد اثر اضطراب زدایی هیستامین در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی از طریق اثر آن بر رسپتور هیستامینی H2 است. به طوری که در مطالعات قبلی تزریق رانیتیدین (آنتاگونیست گیرنده H2) به هیپوکامپ پشتی 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 تواند 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 سپتوم میانی، باعث بروز رفتارهای شبه اضطرابی شد. به عبارت دیگر تزریق نالوکسان به سپتوم میانی اضطراب‌زا بود. در مطالعات قبلی گزارش شده است که مقادیر زیاد آنتاگونیست اپیوئیدها (نالوکسان)، با اثر ضد اضطرابی بنزو-دیازپین‌ها در آزمون‌هایی که شاخص‌های ضد اضطرابی را نشان می‌دهند تداخل دارند. این امر می‌تواند به این دلیل باشد که نالوکسان بیشتر به بلوک‌رستپورهای  $\mu$  و  $\delta$  تمایل دارد تا رستپور  $\kappa$ . از سوی دیگر، مقادیر زیاد نالوکسان که بیشتر سبب بلوک رستپورهای  $\kappa$  می‌شوند تا رستپورهای  $\mu$  و  $\delta$ ، سبب کاهش اثر ضد اضطراب بنزودیازپین‌ها می‌شوند (Tsuda *et al.*, 1996).

محققان دیگری که روش‌های غیرتداخلی را جهت بررسی اضطراب به کار برده‌اند، مشاهده کرده‌اند که مقادیر متوسط نالوکسان و نالتروکسان (بلوک‌کننده رستپور  $\mu$ ) اثر ضد اضطراب بنزودیازپین‌ها را افزایش می‌دهند (Nobre *et al.*, 2000).

در این مطالعه، اثر تزریق مقادیر مختلف نالوکسان به سپتوم میانی و تزریق هم‌زمان مقدار مؤثر هیستامین ( $10\mu\text{g}/\text{rat}$ ) به هیپوکامپ پشتی بررسی شد و نتایج با اثر تزریق مقادیر نالوکسان به تنهایی در سپتوم میانی مقایسه شد. همان‌طور که در بخش نتایج مشاهده شد، با وجود اینکه تزریق مقادیر زیاد نالوکسان اثر اضطرابی در پی داشت، مقدار مؤثر هیستامین در هیپوکامپ پشتی این اثر را برگرداند. در مطالعه اخیر علیرغم بسته‌شدن گیرنده‌های اپیوئیدی توسط نالوکسان، هیستامین باعث کاهش اضطراب شده است که نشان می‌دهد هیستامین مغزی گاهی به‌طور غیرمجزا و غیر وابسته به سیستم اپیوئیدی می‌تواند واکنش‌های اضطرابی را کاهش دهد. البته، باید توجه داشت که مقدار  $4$  میکروگرم نالوکسان باعث کاهش OAT% در موش‌هایی شد که مقدار مؤثر هیستامین دریافت کرده بودند، اما قدرت اضطراب‌زدایی هیستامین به مراتب بیشتر از اثر نالوکسان بود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که در حضور مورفین اثر ضد اضطرابی هیستامین تقویت می‌شود. همچنین، در هنگام بلوک‌شدن گیرنده‌های اپیوئیدی توسط نالوکسان، مقدار مؤثر هیستامین می‌تواند اثر ضد اضطرابی را اعمال کند.

از این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ و اپیوئیدرژیک سپتوم میانی در سیستم سپتو هیپوکامپ با هم برهم‌کنش دارند و بر هم‌کنش این دو سیستم در تعدیل اضطراب دخیل است.

زدا بودند، به‌منظور بررسی برهم‌کنش این دو سیستم با هم، مقادیر بی‌اثر این دو ماده که به‌تنهایی اثری بر رفتار شبه اضطرابی نداشتند، هم‌زمان به هیپوکامپ پشتی و سپتوم میانی تزریق شد. بدین‌منظور، مقدار بی‌اثر هیستامین ( $1\mu\text{g}/\text{rat}$ ) به هیپوکامپ پشتی و مقدار بی‌اثر مورفین ( $0.25\mu\text{g}/\text{rat}$ ) به سپتوم میانی تزریق شد که اثر اضطراب‌زدا مشاهده شد. از این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که هیستامین و مورفین به‌صورت سینرژستی عمل نموده و اضطراب را کاهش داده‌اند که نشان‌دهنده برهم‌کنش هیپوکامپ و سپتوم میانی در تعدیل رفتارهای شبه اضطرابی است. مورفین در آزادشدن هیستامین مغزی نقش دارد، زیرا مشخص شده است که مورفین از طریق گیرنده  $\mu$ -اپیوئیدی و همچنین، برخی استرس‌ها موجب آزادشدن هیستامین مغزی می‌شود (Hough *et al.*, 2000). به-علاوه، مورفین در نورون‌های هیستامینرژیک هسته توبرومامیلاری موجب دپلاریزاسیون نورون‌ها و افزایش تحریک‌پذیری آنها و آزادشدن هیستامین شده است (Eriksson *et al.*, 2000).

بررسی‌ها نشان می‌دهند که ترشح نورآدرنالین به واسطه استرس بی‌حرکتی، می‌تواند توسط آنتاگونیست گیرنده اپیوئیدی (نالوکسان) افزایش یابد، درحالی‌که پپتیدهای شبه اپیوئیدی آزادشده، در هنگام استرس بی‌حرکتی باعث کاهش سطح نورآدرنالین در هیپوتالاموس، آمیگدال و تالاموس می‌شود (Tanaka *et al.*, 1998). مورفین و بعضی پپتیدهای اپیوئیدی، می‌توانند نه تنها میزان نورآدرنالین را کاهش دهند، بلکه پاسخ‌های هیجانی را نیز کم می‌کند. علاوه‌براین، پاسخ‌های هیجانی همچون جنگ و ستیز، فرارکردن و کاهش وزن ناشی از استرس، به وسیله به‌کارگیری مورفین کاهش می‌یابد و این اثر به وسیله نالوکسان از بین می‌رود. از طرف دیگر، میان‌کنش بین اپیوئیدها و نورآدرنالین وجود دارد و اپیوئیدها به‌صورت پیش‌سیناپسی باعث کاهش ترشح نورآدرنالین می‌شوند. دلایلی وجود دارد که اپیوئیدها بیان ترس را کاهش می‌دهند، به‌طوری‌که تزریق آگونیست گیرنده  $\mu$  به درون آمیگدال، باعث کاهش بروز شاخص‌های مربوط به ترس می‌شود. مشخص شده است تزریق مورفین به درون آمیگدال بیان ترس را کاهش می‌دهد. نهایتاً اینکه مورفین آزادسازی هیستامین را در مغز افزایش می‌دهد. در این مطالعه اثر تزریق نالوکسان (آنتاگونیست رستپور  $\mu$  اپیوئیدی) به سپتوم میانی بر رفتارهای شبه-اضطرابی تحت بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقادیر

## سپاسگزاری

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

## 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., Ghozland, 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-

- 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. Anxiolytic 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 Rezaiof, 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.، ولی‌زادگان، ف. و زرین‌دست، م. ر. ۱۳۹۶. میان‌کنش سیستم هیستامینرژیک هیپوکامپ پشتی و اپیوئیدرژیک سپتوم میانی بر رفتارهای شبه-اضطرابی. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۴: ۱۸۹-۲۰۰.