

Öğrenme ve Bellek Fonksiyonlarında Histaminerjik Sistemin Rolü^[*]

The Role of Histaminergic System in Learning and Memory Functions

Turhan DOST, Zeki FIRAT, Melek TAMER, Ahmet ULUGÖL, Ç. Hakan KARADAĞ

Amaç: Fare ve sincanların öğrenme ve bellek fonksiyonlarında santral histaminerjik sistemin rolünün araştırılması amaçlandı.

Çalışma Planı: Öğrenme ve bellek fonksiyonları farelerde yükseltilmiş artı labirent testi ile, sincanlarda radyal sekiz kollu labirent ile değerlendirildi. Fareler ilk gün labirenti tanımları için 60 saniye düzenekte tutuldu; 24 saat sonra tekrar labirente konarak kapalı kola girme süreleri ölçüldü. Farklı gruplar halinde farelere labirente konmadan bir saat önce pyrilamin, ranitidin, tioperamid ve histidin uygulanarak bu ilaçların bellek performansı üzerine etkileri incelendi. Aynı ilaçlar labirente konmadan 15 dakika önce skopolamin verilerek belleği bozulan farelere de uygulandı. Sincanlar, radyal sekiz kollu labirente bir hafta süre ile dört kola konmuş yemleri bulmaları için eğitildi; sekizinci gün farklı gruplar halinde pyrilamin, ranitidin, tioperamid, histamin ve histidin verildi. Bir başka grup sincanda ise, histaminerjik nöronlarının bulunduğu tuberomamiller nükleus lezyonu oluşturulduktan sonra histidin ve histamin verilerek bellek fonksiyonları değerlendirildi. Ayrıca, histamin ile birlikte pyrilamin, ranitidin ve tioperamid verilerek bu ilaçların histaminin etkisini değiştirdip değiştirmediği incelendi.

Bulgular: Pirilamin, ranitidin, tioperamid, histidin ve histamin bellek fonksiyonları üzerinde herhangi bir etki oluşturmadı. Skopolamin verilerek labirent performansları bozulan farelerde histidin belleği güçlendirici bir etki oluşturdu; bu etki pyrilamin ile bloke edilirken, ranitidin ve tioperamiden etkilenmedi. Tuberomamiller nükleus lezyonu oluşturulan sincanlarda testi tamamlama sürelerinde uzama ve working memory hatalarında artma saptandı, reference memory hatalarında değişiklik saptanmadı. Bu bellek bozucu etki histamin ve histidin tarafından düzeltildi. Histaminin düzeltici etkisi pyrilamin tarafından antagonize edilirken, ranitidin ve tioperamiden etkilenmedi.

Sonuç: Santral histaminerjik sistemin bellek üzerinde olumlu bir etkisi olduğu ve bu etkiye H₁-histaminerjik reseptörlerin aracılık ettiği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Hippokampus; histamin/fizyoloji/farmakoloji; histamin antagonistleri/farmakoloji/terapötik kullanım; histidin/farmakoloji; öğrenme/ilaç etkileri; öğrenme bozuklukları/kimyasal yolla oluşan/önleme ve kontrol; labirent öğrenimi/ilaç etkileri; bellek/ilaç etkileri; fare; pirilamin/farmakoloji; sincan, Wistar; skopolamin/farmakoloji.

Objectives: We investigated the role of central histaminergic system on learning and memory functions in mice and rats.

Study Design: Learning and memory functions were investigated using elevated plus-maze test in mice and radial-arm maze test in rats. The mice were placed in the maze for 60 seconds on the first day to allow them to learn the maze. Twenty-four hours later, they were put in the maze again to record the time spent to enter one of the closed arms. The effects of pyrilamine, ranitidine, thioperamide and histidine injected one hour before the test were examined in diverse groups of mice whose memory functions were intact or impaired by scopolamine injection 15 minutes before the test. In the radial-arm maze test, the rats were allowed to find food placed in four arms of the maze for seven days. On the eighth day, diverse groups were assigned to receive pyrilamine, ranitidine, thioperamide, histamine, and histidine. Histidine and histamine were also given following induction of tuberomammillary nucleus lesions and the modulation of histamine effects by pyrilamine, ranitidine, and thioperamide was tested.

Results: Pyrilamine, ranitidine, thioperamide, histidine, and histamine had no effect on memory functions. Histidine increased memory retention in mice with scopolamine-induced deficits in elevated plus-maze performance; this effect was blocked by pyrilamine, but not affected by ranitidine and thioperamide. In rats with tuberomammillary nucleus region lesions, prolongation of the completion period of the test and working memory failures were observed; but there were no changes on reference memory failures. These deteriorations were improved by histamine and histidine. The enhancing effect of histamine on memory was antagonized by pyrilamine, but remained unchanged by ranitidine and thioperamide.

Conclusion: These results show that central histaminergic system has an enhancing effect on memory function and this effect is mediated by histamine H₁ receptors.

Key Words: Hippocampus/drug effects; histamine/physiology/pharmacology; histamine antagonists/pharmacology/therapeutic use; histidine/pharmacology; learning/drug effects; learning disorders/chemically induced/prevention & control; maze learning/drug effects; memory/drug effects; mice; pyrilamine/pharmacology; rats; Wistar; scopolamine/pharmacology.

* Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak (TUBAP 223) desteklenmiştir.

Trakya Üniversitesi, (Dost, Fırat, Asist. Dr.; Ulugöl, Karadağ, Doç. Dr.) Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı; (Tamer, Doktora Öğrencisi, Vet. Hek.) Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı.

İletişim adresi: Dr. Ç. Hakan Karadağ. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, 22030 Edirne.

Tel: 0284 - 235 76 42 / 1434 Faks: 0284 - 235 24 76 e-posta: hkaradag@trakya.edu.tr

Beyinde tuberomamiler nükleusta yerlesim gösteren histaminerjik nöronlar, beynin hemen hemen tüm bölgelerine uzantılar göndermektedir.^[1] Kan, beyin engelini aşamadığı için intrase-rebroventriküler yolla uygulanan histaminin ve histamin antagonistlerinin kardiyovasküler kontrol, beslenme, vücut sıcaklığı, elektroense-falografik aktivite, hipofizer hormon salgılanması üzerine etkileri olduğu değişik araştırmacılar tarafından gösterilmiştir.^[2,3] Deneysel veriler, santral histaminin pasif^[4] ve aktif sakınma testlerinde^[5] belleği güçlendirdiğini göstermiştir. Histaminin belleği güçlendirici etkisi olduğunu destekleyen başka bir kanıt da, histamin prekürsörü histidinin, skopolamin ile oluşturulmuş öğrenme bozukluğu üzerine düzeltici etkinin saptanmış olmasıdır.^[6] Bununla birlikte, histaminin belleği bozucu etkisi olduğuna ilişkin veriler de bulunmaktadır. Histamin sentezi ni inhibe eden α -fluorometilhistidinin santral histamin üzerine etkisi sonucu, labirent testlerinde sincanlarda daha kolay öğrenme gözleendiği,^[7] bilateral tuberomamiler nükleus lezyonlarının öğrenmeyi kolaylaştırdığı bildirilmiştir,^[8] santral histaminerjik sistemin öğrenme ve bellek üzerinde olumsuz bir tonik etkiye sahip olduğu öne sürülmüştür.^[9]

Bu çalışmada, santral histaminerjik sistemin bellek fonksiyonundaki rolü, sincanlarda sekiz

kollu radyal labirent ve farelerde yükseltilmiş artı labirent testi kullanılarak incelemi edilen sonuçların diğer yöntemlerle bulunanlarla uyumlu olup olmadığı araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındı. Deneylerde, laboratuvarımızda 12 saat karanlık/aydınlatık siklusunda, $22 \pm 1^\circ\text{C}$ sabit sıcaklığındaki ortamda yetiştiliren, 250-300 gr ağırlığındaki Wistar albino sincanları (104 adet) ve 25-35 gr ağırlığındaki albino findik fareleri (104 adet) kullanıldı. Bellek fonksiyonları farelerde yükseltilmiş artı labirent, sincanlarda ise sekiz kollu radyal labirent kullanılarak değerlendirildi.

Yükseltilmiş artı labirent testinde her grupta sekiz fare bulunan 13 grup oluşturuldu. Uygulanan protokol Tablo 1'de gösterildi. Benzer şekilde, radyal sekiz kollu labirent testinde her grupta sekiz fare bulunan 13 grup oluşturuldu. Uygulanan protokol Tablo 2'de gösterildi.

Yükseltilmiş artı labirent testi: Deneyde, ahşaptan yapılmış, beyaza boyanmış iki açık (10×50 cm) ve siyaha boyanmış iki kapalı ($10 \times 50 \times 30$ cm) koldan oluşan, artı işaretti şeklindeki ve yerden 50 cm yükseğe konan bir labirent kullanıldı. İlk gün fareler, kuyrukları

Tablo 1. Yükseltilmiş artı labirent testinde kullanılan denek grupları ve tedavi protokolü

Grup	Sayı	Tedavi
1	8	Kontrol
2	8	Pirilamin (20 mg/kg, i.p.)
3	8	Ranitidin (100 mg/kg, i.p.)
4	8	Tioperamid (5 mg/kg, i.p.)
5	8	Histidin (500 mg/kg, i.p.)
6	8	Skopolamin (0.5 mg/kg, i.p.)
7	8	Skopolamin + pirilamin
8	8	Skopolamin + ranitidin
9	8	Skopolamin + tioperamid
10	8	Skopolamin + histidin
11	8	Skopolamin + histidin + pirilamin
12	8	Skopolamin + histidin + ranitidin
13	8	Skopolamin + histidin + tioperamid

Tablo 2. Radyal sekiz kollu labirent testinde kullanılan denek grupları ve tedavi protokolü

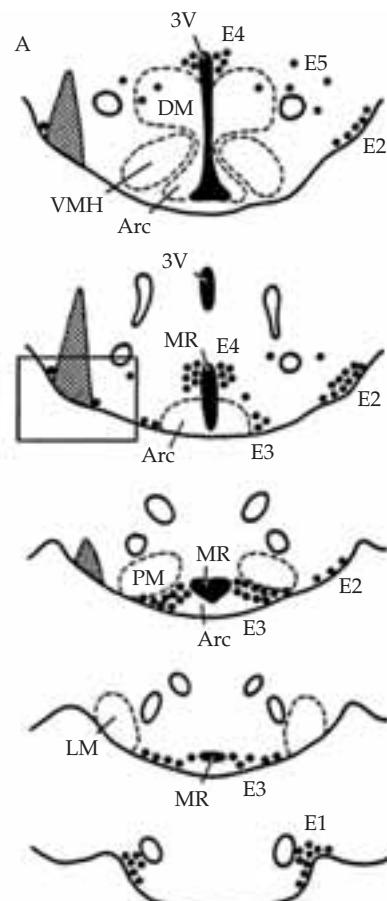
Grup	Sayı	Tedavi
1	8	Kontrol
2	8	Pirilamin (20 mg/kg, i.p.)
3	8	Ranitidin (100 mg/kg, i.p.)
4	8	Tioperamid (5 mg/kg, i.p.)
5	8	Histidin (500 mg/kg, i.p.)
6	8	Histamin (10 ng/kg, i.c.v.)
7	8	Sham
8	8	Tuberomamiler nükleus (TMN) lezyonu
9	8	TMN lezyonu + histidin
10	8	TMN lezyonu + histamin
11	8	TMN lezyonu + histamin + pirilamin
12	8	TMN lezyonu + histamin + ranitidin
13	8	TMN lezyonu + histamin + tioperamid

kapalı kollara gelecek şekilde, açık uçlardan birinin üç kısmına kondu ve kapalı kollardan birine girene kadar geçen süre kaydedildi. Kapalı kollardan herhangi birine 90 saniye içinde girmeyen fareler, hafifçe ittilererek kapalı bir kola sokuldu ve bu hayvanların test süreleri 90 saniye olarak kaydedildi. Hayvanlar kapalı kola girdikten sonra, labirenti tanıdıklarını sağlamak için 60 saniye kalmalarına izin verildi. İlk testten 24 saat sonra, ilk gün konuldukları yere aynı şekilde bırakılan hayvanların kapalı kola girme süreleri ölçüldü. Labirent, her ölçümden sonra alkol ile temizlendi. Deneyler süresince labirent ve çevresindeki objeler sabit tutuldu.

Sekiz kollu radyal labirent: Deneyde, aşıptan yapılmış, sekizgen şeklinde merkezi bir platform (37 cm çap) ve ona 45'er derecelik eşit açılarla bağlı, üstü açık sekiz kapalı koldan (genişlik 8, uzunluk 75, yükseklik 30 cm) oluşan bir labirent kullanıldı. Test, vücut ağırlıkları başlangıç değerinin %80'ine indirilmiş sıçanların, düzenek kollarının üç kısımlarında gizlenmiş yem parçalarını bulmaları esasına dayanıyordu. İlk iki gün beş dakika labirentte bırakılan hayvanların, ortama alışmaları sağlandı. Üçüncü günden itibaren beş gün boyunca, rastgele seçilmiş dört kola yiyecek konularak bu kollar açık tutuldu; diğer dört kol kapatıldı. Merkezi kola bırakılan sıçanlardan kollardaki yemleri bulmaları beklandı. Test, deneğin dört koldaki yiyeceği bulması ya da 10 dakikalık sürenin tamamlanması ile sonlandırıldı. Sekizinci günden itibaren, kapalı tutulan diğer dört kol da açıldı; ancak bu kollara yem konmadı. Testlerin bu aşamasında, sıçanlar merkezi platforma konularak, giriş yaptıkları kollar ve test süresi kaydedildi. Hayvanlar, üç gün üst üste, ilk dört girişin üçü doğru olana kadar eğitildi. Bu ölçütleri 15. gün sonunda sahlayamamış sıçanlar çalışma dışı bırakıldı. İlaçların bellek üzerine etkisinin araştırıldığı deneyerde, eğitilmiş sıçanlar ilaç enjeksiyonundan sonra labirente konularak aşağıdaki ölçütlere göre değerlendirildi: Yem konulmuş kola ikinci kez giriş, working memory hatası; yiyecek konmamış kola ilk giriş, reference memory hatası; ikinci giriş hem working memory, hem de

reference memory hatası; testi tamamlama süresi (dört koldaki yiyeceği bulma süresi). Deneyler süresince labirent ve çevresindeki nesnelerin yerleri sabit tutuldu.

Kanül implantasyonu: Sıçanlar, anestezi altında (ketamin 90 mg/kg, ksilazin 8 mg/kg, i.p.) stereotaksi düzeneğine (Stoelting Stellar Rat Stereotaxic Instrument, Stoelting, ABD) yerleştirildi. İntraserebroventriküler (icv) enjeksiyon yapılacak sıçanların lateral ventriküllüne rehber kanül (22 gauge guide cannula, C313G, Plastics One Company, ABD) yerleştirildi. Koordinatlar, Paxinos ve Watson^[10] tarafından hazırlanan sıçan stereotaksik atlasına



Şekil 1. Posterior hipotalamusdan geçen frontal kesitlerde tuberomamiller nükleustaki histaminerjik nöron alt grupları (E1-E5). (Taranı bölge ibotenik asit ile lezyon oluşturulan bölgeyi temsil etmektedir. Arc: Arkuat nükleus; DM: Dorsomedial hipotalamik nükleus; LM: Lateral mamiller nükleus; PM: Premamiller nükleus; VMH: Ventromedial hipotalamik nükleus.)

göre, bregmadan AP (anteroposterior) (-) 0.9, L (lateral) 1.5 ve H (horizontal) (-) 3.8 mm olarak belirlendi. Rehber kanüller, tuberomamiler nükleus lezyonu yapılacak sığanlarda bilateral bregmadan AP 4.2, L ±1.4 ve H (-) 8.1 koordinatlarına yerleştirildi. Kanüller, çevrelerinden kafatasına tutturulan paslanmaz çelik vidalar (CAT# 0-80x1/8, Plastics One Company) ve akrilik ile sabitlendi; dışarıyla bağlantıyi önlemek için içlerine kör kanül (dummy cannula, D313DC, Plastics One Company) takılarak kapatıldı. Kanüller testlerden 10 gün önce yerleştirildi. İlaç enjeksiyonları, rehber kanül içine sokulan enjeksiyon kanülü (28 gauge internal cannula, C313I, Plastics One Company) aracılığıyla, Hamilton mikroenjektör kullanılarak yapıldı.

İntraserebroventriküler kanüllerin doğru yerleştirilip yerleştirilmemişinin anlaşılması

icin, testlerin bitiminden sonra, derin anestezi altında 10 µl mavi mürekkep icv yolla enjekte edildi; birkaç dakika beklenmedi ve kanları akitilarak öldürülen sığanların kafatasları açıldı, beyinleri çıkarılarak bistüri ile birkaç milimetre kalınlığında kesitler alındı. İntraserebroventriküler kanül yerleştirilmiş tüm sığanlarda mürekkebin ventrikül boşluklarına dağıldığı makroskopik olarak görüldü.

Tuberomamiler nükleus lezyonu yapılacak sığanlarda kanül implantasyonunun doğruluğunu saptamak için, deneyler tamamlandıktan sonra derin anestezi altında 5 µl mavi mürekkep her iki tarafa enjekte edilip birkaç dakika beklenmedi; yukarıdaki işlemler tekrarlanarak beyinler çıkarıldı ve birkaç milimetre kalınlığında kesitler alınarak, mürekkep lokalizasyonunun makroskopik olarak tuberomamiler nukleusa uyup uymadığı incelendi (Şekil 1). Tuberoma-

Tablo 3. Yükseltilmiş artı labirent testinde deneklerin kapalı kola girme sürelerine ilaç etkileri

Kullanılan ilaç	Denek sayısı	İlk gün (ort.±SS) (acquisition)	İkinci gün (ort.±SS) (retrieval)
Kontrol	8	60.1±8.2	41.3±8.8 *
Pirilamin (20 mg/kg, i.p.)	8	59.0±7.3	41.1±8.1
Ranitidin (100 mg/kg, i.p.)	8	62.1±11.1	43.1±7.8
Tioperamid (5 mg/kg, i.p.)	8	58.7±7.2	43.1±7.4
Histidin (500 mg/kg, i.p.)	8	61.7±8.6	38.0±6.5

*p<0.05, ilk gün değerine göre, paired t-test.

Tablo 4. Yükseltilmiş artı labirent testinde skopolaminle belleği bozulmuş farelerin kapalı kola girme sürelerine ilaçların etkileri

Kullanılan ilaç	Denek sayısı	İlk gün (ort.±SS) (acquisition)	İkinci gün (ort.±SS) (retrieval)
Kontrol	8	60.1±8.2	41.3±8.8 *
Skopolamin (0,5 mg/kg, i.p.)	8	58.1±7.5	78.9±7.6 *#
+ Pirilamin (20 mg/kg, i.p.)	8	58.0±8.1	69.3±6.9
+ Ranitidin (100 mg/kg, i.p.)	8	61.3±9.0	66.2±9.1
+ Tioperamid (5 mg/kg, i.p.)	8	61.3±11.7	71.2±9.7
+ Histidin (500 mg/kg, i.p.)	8	61.7±8.6	45.1±6.1 y
+ Pirilamin (20 mg/kg, i.p.)	8	63.2±9.2	67.1±6.3 z
+ Ranitidin (100 mg/kg, i.p.)	8	59.2±10.6	49.3±9.9
+ Tioperamid (5 mg/kg, i.p.)	8	60.8±9.7	51.3±6.4

*p<0.05, ilk gün değerine göre; #p<0.05, kontrole göre; y p<0.05, skopolamine göre;

z p<0.05, skopolamin+ histidine göre.

miler nükleusa yerleştirilen kanüllerin, sıçanların birinde tek taraflı, diğerinde iki taraflı olarak yanlış yerleştirildiği saptandı ve bu hayvanlar çalışma dışı bırakıldı.

Deneyde histamin (Sigma), pirilamin (Sigma), ranitidin (Ulcuran®, Abfar-Zyma), histidin (Sigma), ibotenik asit (Sigma), tioperamid (Sigma), skopolamin (Sigma) ilaçları kullanıldı. İbotenik asit fosfatla tamponlanmış izotonik sodyum klorürde ($\text{pH}=7.4$), diğer ilaçlar izotonik sodyum klorürün içinde çözündürüldü. İbotenik asit tuberomamiler nukleusa enjekte edildi ($0.5 \mu\text{l}$, $5 \mu\text{g}$); histamin intraserebroventriküler yolla ($5 \mu\text{l}$, 20 ng), diğer ilaçlar intraperitoneal yolla uygulandı (sıçanlara $1 \text{ ml}/100 \text{ gr}$ vücut ağırlığı, farelere $0.1 \text{ ml}/10 \text{ gr}$ vücut ağırlığı hacminde verildi). Skopolamin ve histamin enjeksiyonları testlerden 15 dakika önce yapıldı; diğer ilaçlar ise bir saat önce enjekte edildi. Tuberomamiler nukleus lezyonları oluşturmak için yapılan ibotenik asit enjeksiyonları, testten üç saat önce gerçekleştirildi.

İstatistiksel analiz: İstatistiksel karşılaştırımlar repeated measures ANOVA testi ile yapıldı. Anlamlı farkların hangi grplardan kaynaklandığını saptamak için post hoc test olarak, Student-Newman-Keuls testi kullanıldı; $p<0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Yükseltilmiş artı labirent testinde, kontrol grubunu oluşturan fareler, ilkinden 24 saat sonra yapılan teste, kapalı kollara istatistiksel olarak anlamlı derecede daha kısa sürede girdi ($p<0.05$) (Tablo 3). Bu bulgu, ilk gün öğrenilen bilginin hatırlandığını göstermektedir. Tek başlarına pirilamin, ranitidin, tioperamid ve histamin prekürsörü histidin verilen grplarda da, birinci ve ikinci gün ölçülen süreler arasında benzer bir kısalma vardı.

Skopolamin ($0.5 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.) verilerek labirent performansları bozulmuş farelerin ($p<0.05$) kapalı kola giriş sürelerinde görülen uzamanın, histidin kullanımıyla anlamlı derecede kısaldığı gözlandı ($p<0.05$). Bu etkinin pirilamin tarafından antagonize edildiği ($p<0.05$); ranitidin ve tioperamiden etkilenmediği görüldü (Tablo 4).

Pirilamin, ranitidin, tioperamid, histidin ve histamin labirent performansı üzerinde anlamlı bir etki oluşturmazken, tuberomamiler nukleusu tahrip edilmiş sıçanların labirent performansı olumsuz yönde etkilendi (Tablo 5). Tuberomamiler nukleus lezyonları olan sıçanlarda, özellikle working memory hatalarında ve testi tamamlama sürelerinde artış gözlandı; reference

Tablo 5. Radyal sekiz kollu labirent testinde ilaçların bellek ile ilgili ölçütlerde etkileri

Kullanılan ilaç	Denek sayısı	Working memory hataları (ort. \pm SS)	Reference memory hataları (ort. \pm SS)	Testi tamamlama süresi (ort. \pm SS)
Kontrol	8	0.80 ± 0.11	0.50 ± 0.12	203.5 ± 21.2
Pirilamin ($20 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.)	8	0.90 ± 0.05	0.40 ± 0.15	198.8 ± 32.1
Ranitidin ($100 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.)	8	0.66 ± 0.07	0.72 ± 0.12	210.3 ± 18.4
Tioperamid ($5 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.)	8	0.87 ± 0.09	0.60 ± 0.10	223.6 ± 31.1
Histamin (10 ng , i.c.v.)	8	0.60 ± 0.10	0.50 ± 0.08	201.0 ± 15.6
Histidin ($500 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.)	8	0.81 ± 0.09	0.82 ± 0.09	199.2 ± 19.7
Sham	8	0.88 ± 0.10	0.42 ± 0.09	207.6 ± 19.4
TBM Lezyon	8	2.12 ± 0.09 *	0.60 ± 0.14	312.3 ± 32.2 *
+ Histidin ($500 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.)	8	0.72 ± 0.11 #	0.52 ± 0.11	252.3 ± 15.6 #
+ Histamin (10 ng , i.c.v.)	8	0.76 ± 0.16 #	0.61 ± 0.19	225.1 ± 22.1 #
+ Pirilamin ($20 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.)	7	1.94 ± 0.14 §	0.55 ± 0.09	297.4 ± 18.3 §
+ Ranitidin ($100 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.)	8	0.66 ± 0.13	0.58 ± 0.17	251.3 ± 22.3
+ Tioperamid ($5 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p.)	8	0.83 ± 0.25	0.44 ± 0.22	240.6 ± 21.7

* $p<0.05$, sham kontrole göre; # $p<0.05$, TBM lezyonlulara göre; § $p<0.05$, TBM lezyonu + histamine göre.

memory hatalarında belirgin bir değişiklik oluşmadı. Tuberomamiler nukleus lezyonlarının neden olduğu bellek bozucu etki, histamin ve histidin tarafından düzeltildi. Histaminin bu düzeltici etkisi pirilamin tarafından antagonize edilirken, ranitidin ve tioperamiden etkilendi (Tablo 4).

TARTIŞMA

Yükseltilmiş artı labirent testi, farelerde anksiyeteyi ölçmek amacıyla geliştirilmiş bir test olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.^[11] Bu testin, bellek değerlendirmesi için de kullanılabileceği gösterilmiştir.^[12] Yaptığımız çalışmada, kontrol grubu farelerinin kapalı kola giriş sürelerinin ilk testten 24 saat sonra anlamlı derecede daha düşük olması, deneklerin ilk gün labirentte yaşadıklarını anımsadıklarını göstermektedir (Tablo 4). Histamin prekürsörü histidin, bu teste farelerin performansları üzerinde olumlu bir zayıf etki oluşturmuş olmakla birlikte, bu etki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ranitidin, pirilamin ve tioperamid de tek başlarına kullanıldıklarında, test performansı üzerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmamaktadır.

Test performansları skopolamin verilerek bozulmuş farelerde histidinin bu bozulmayı düzelttiği ve bu etkinin H₁-reseptör antagonistisi olan pirilamin ile azaldığı saptanmıştır (Tablo 4). Benzer şekilde, yükseltilmiş artı labirent testinde de, skopolaminin performansı bozduğu ve sistemik yolla uygulanan histidinin bu bozucu etkiyi ortadan kaldırdığı bildirilmiştir.^[12] Histidinden önce, histidin dekarboksilaz inhibitörü olan α-fluorometilhistidin verilerek histidin etkisinin ortadan kalktığı gösterilmiş; histidinin bellek üzerindeki söz konusu olumlu etkiyi beyinde histamine dönüşmek suretiyle oluşturduğu, bunun histidine bağlı doğrudan bir etki olmadığı kanıtlanmıştır.^[12] Aynı çalışmada, histidinin bellek üzerindeki olumlu etkisinin H₁-reseptörler üzerinden olduğu da gösterilmiştir.^[12] Yükseltmiş artı labirent testi ile yapılan benzer çalışmalarla, skopolaminle oluşan öğrenme bozukluğunun, H₃-reseptör antagonistleri tarafından düzeltildiği ve bu etkinin (sinaptik aralıkta histamin birikimi sağlayarak) H₁-re-

septör aktivasyonu yapmak suretiyleoluştugu bildirilmiştir.^[13,14] Çalışmamızda tioperamid, normal veya belleği skopolaminle bozulmuş farelerde gözlenebilir herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu farklılığın nedeni, çalışmamızda tioperamidin ikinci gün yapılan testten (retrieval) önce uygulanması olabilir. Çünkü, adı geçen çalışmalarla tioperamid ilk gün yapılan testten (acquisition) önce uygulanmıştır. Bu bulgular, tioperamidin bilginin öğrenilme ve belleğe gönderilme (acquisition) aşamasında olumlu bir etkisinin olduğu, geri çağrıma (retrieval) aşamasında etkisinin bulunmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Radyal sekiz kollu labirent, sıçanlarda öğrenme ve bellek yeteneklerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan testlerden biridir. Bu teste pirilamin, ranitidin, tioperamid, histidin ve icv histamin belirgin bir etki oluşturmadı. Tuberomamiler nukleus lezyonu oluşturulmuş sıçanlarda ise working memory hataları ve testi tamamlama sürelerinde bir artış gözlenirken, reference memory hatalarında anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Bu bulgu, tuberomamiler nukleusun normal bir kısa-dönem bellek fonksiyonu için gerekli olduğunu, buna karşılık daha önceden depolamış bilginin geri çağrılmamasında herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Tuberomamiler nukleus lezyonlu sıçanların radyal sekiz kollu labirentte azalan performansları, sistemik histidin veya icv histamin tarafından yükseltildi ve bu etkinin H₁-histaminerjik reseptörler üzerinden gerçekleştiği saptandı. Chen ve ark.^[15] histidin dekarboksilaz enziminin güçlü bir inhibitörü olan α-fluorometilhistidini icv olarak uygulayarak beyin histamin sentezini inhibe etmişler ve sıçanların radyal sekiz kollu labirent performanslarının bozulduğunu saptamışlardır. Yazalar, bu bozulmanın icv histamin tarafından düzeltildiğini ve buna H₁-histaminerjik reseptörlerin aracılık ettiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, MK-801 ile oluşturulan bellek bozukluklarında da histaminin düzeltici etkisi olduğu ve bu etkinin H₁-histaminerjik reseptörler üzerinden gerçekleştiği saptanmıştır.^[16] Bu bulgular, elde ettiğimiz verilerle uyumludur. Şurası vurgulanmalıdır ki, sözü edilen çalışmalarla değerlendirilmiş ölçütler

working memory hakkında fikir vermektedir. Oysa, bizim çalışmamız hem working memory, hem de reference memory değerlendirebilecek şekilde planlanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar, histaminin working memory (kısa-dönem bellek) üzerinde olumlu bir etkisinin olduğunu (H_1 -histaminerjik reseptörler aracılı); reference memory (uzun-dönem bellek) üzerinde (en azından geri çağırma aşamasında) etkisinin olmadığını göstermektedir. Nakazato ve ark.^[17] farklı bir düzenekle, H_1 -histaminerjik reseptörlerinin normal bir working memory fonksiyonu için gerekli olduğunu göstermişlerdir. Tuberomamiller nükleus, histaminerjik nöronların beyinde en fazla bulunduğu bölge ve buradaki nöronlar beynin çeşitli bölgelerine projeksiyonlar göndermektedir. Bu bölge, santral histaminerjik sistemin merkezi olarak kabul edilebilir. Tuberomamiler, nükleus lezyonlu sincanlarda belleğin bozulması ve histidin ya da histaminle düzelmesi, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının düzenli bir şekilde gerçekleşebilmesi için santral histaminerjik nöronların gerekli olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, bu görüşün tam tersini savunan yayınlar da bulunmaktadır. Tuberomamiler nükleus lezyonunun ya da nükleusun lidokain enjeksiyonu ile inhibe edilmesinin bellek üzerinde olumlu bir etki oluşturduğu,^[18,19] santral histamin deplesyonunun belleği güçlendirdiği bildirilmiş^[20] ve santral histaminerjik sistemin öğrenme ve bellek üzerinde tonik bir olumsuz etkisinin olduğu öne sürülmüştür. Sincanlarda sakınma davranışının üzerinden gerçekleştirilen bellek testlerinde, santral histaminerjik sistemin bellek üzerinde olumlu etkisinin olduğu^[21-24] ve bu etkinin H_1 -histaminerjik reseptörler üzerinden gerçekleştiği bildirilmiştir.^[25-27]

Bu çalışmadan elde edilen verilere ve literatür bilgilerine dayanarak, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının normal bir biçimde sürdürülmesi için santral histaminerjik sistemin gerekli olduğu ve bu etkinin H_1 -histaminerjik reseptörler üzerinden gerçekleştiği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Panula P, Pirvola U, Auvinen S, Airaksinen MS. Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience* 1989;28:585-610.
2. Roberts F, Calcutt CR. Histamine and the hypothalamus. *Neuroscience* 1983;9:721-39.
3. Danoso AO, Alvarez EO. Brain histamine as neuroendocrine transmitter. *Trends Pharmacol Sci* 1984; 5:98-100.
4. De Almeida M, Izquierdo I. Memory facilitation by histamine. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1986;283: 193-8.
5. Kamei C, Tasaka K. Participation of histamine in the step-through active avoidance response and its inhibition by H_1 -blockers. *Jpn J Pharmacol* 1991;57:473-82.
6. Miyazaki S, Imaizumi M, Onodera K. Ameliorating effects of histidine on scopolamine-induced learning deficits using an elevated plus-maze test in mice. *Life Sci* 1995;56:1563-70.
7. Cacabelos R, Alvarez XA. Histidine decarboxylase inhibition induced by alpha-fluoromethylhistidine provokes learning-related hypokinetic activity. *Agents Actions* 1991;33:131-4.
8. Klapdor K, Hasenohrl RU, Huston JP. Facilitation of learning in adult and aged rats following bilateral lesions of the tuberomammillary nucleus region. *Behav Brain Res* 1994;61:113-6.
9. Frisch C, Hasenohrl RU, Haas HL, Weiler HT, Steinbusch HW, Huston JP. Facilitation of learning after lesions of the tuberomammillary nucleus region in adult and aged rats. *Exp Brain Res* 1998;118:447-56.
10. Paxinos G, Watson C (editors). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 2nd ed. New York: Academic Press; 1986.
11. Holmes A, Parmigiani S, Ferrari PF, Palanza P, Rodgers RJ. Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physiol Behav* 2000;71:509-16.
12. Miyazaki S, Onodera K, Imaizumi M, Timmerman H. Effects of clobenpropit (VUF-9153), a histamine H_3 -receptor antagonist, on learning and memory, and on cholinergic and monoaminergic systems in mice. *Life Sci* 1997;61:355-61.
13. Onodera K, Miyazaki S, Imaizumi M, Stark H, Schunack W. Improvement by FUB 181, a novel histamine H_3 -receptor antagonist, of learning and memory in the elevated plus-maze test in mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1998;357:508-13.
14. Miyazaki S, Imaizumi M, Onodera K. Effects of thioperamide, a histamine H_3 -receptor antagonist, on a scopolamine-induced learning deficit using an elevated plus-maze test in mice. *Life Sci* 1995;57:2137-44.
15. Chen Z, Sugimoto Y, Kamei C. Effects of intracerebroventricular injection of alpha-fluoromethylhistidine on radial maze performance in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1999;64:513-8.
16. Chen Z, Zhao Q, Sugimoto Y, Fujii Y, Kamei C. Effects of histamine on MK-801-induced memory deficits in radial maze performance in rats. *Brain Res* 1999;839:186-9.
17. Nakazato E, Yamamoto T, Ohno M, Watanabe S. Cholinergic and glutamatergic activation reverses working memory failure by hippocampal histamine H_1 receptor blockade in rats. *Life Sci* 2000; 67:1139-47.

18. Frisch C, Hasenohrl RU, Huston JP. Memory improvement by post-trial injection of lidocaine into the tuberomammillary nucleus, the source of neuronal histamine. *Neurobiol Learn Mem* 1999;72:69-77.
19. Frisch C, Hasenohrl RU, Haas HL, Weiler HT, Steinbusch HW, Huston JP. Facilitation of learning after lesions of the tuberomammillary nucleus region in adult and aged rats. *Exp Brain Res* 1998; 118:447-56.
20. Sakai N, Sakurai E, Yanai K, Mirua Y, Watanabe T. Depletion of brain histamine induced by alpha-fluoromethylhistidine enhances radial maze performance in rats with modulation of brain amino acid levels. *Life Sci* 1998;62:989-94.
21. de Almeida MA, Izquierdo I. Memory facilitation by histamine. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1986;283: 193-8.
22. de Almeida MA, Izquierdo I. Intracerebroventricular histamine, but not 48/80, causes posttraining memory facilitation in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1988; 291:202-7.
23. Kamei C, Chen Z, Nakamura S, Sugimoto Y. Effects of intracerebroventricular injection of histamine on memory deficits induced by hippocampal lesions in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1997;19:253-9.
24. Kamei C, Okumura Y, Tasaka K. Influence of histamine depletion on learning and memory recollection in rats. *Psychopharmacology* 1993;111:376-82.
25. Kamei C, Tasaka K. Effect of histamine on memory retrieval in old rats. *Biol Pharm Bull* 1993;16:128-32.
26. Yanai K, Son LZ, Endou M, Sakurai E, Nakagawasaki O, Tadano T, et al. Behavioural characterization and amounts of brain monoamines and their metabolites in mice lacking histamine H1 receptors. *Neuroscience* 1998;87:479-87.
27. Malmberg-Aiello P, Ipponi A, Bartolini A, Schunack W. Antiamnesic effect of metoprine and of selective histamine H(1) receptor agonists in a modified mouse passive avoidance test. *Neurosci Lett* 2000;288:1-4.