

نقش گیرنده‌های GABA_A نواحی CA₁ هیپوکامپ در اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین

سمیرا رضوی موحد

دانشگاه تهران، دانشکده علوم زیست شناسی

آمنه رضایوف

دانشگاه تهران، دانشکده علوم زیست شناسی

علی حائری روحانی

دانشگاه تهران، دانشکده علوم زیست شناسی

هنگامه ذات‌علی

دانشگاه تهران، دانشکده علوم زیست شناسی

هدف: هیپوکامپ از مراکز اصلی یادگیری وابسته به پاداش است و با در نظر گرفتن توزیع وسیع گیرنده‌های GABA_A در ناحیه CA₁ هیپوکامپ پستی، احتمال می‌رود این گیرنده‌ها در یادگیری وابسته به پاداش نقش داشته باشند. در مطالعه حاضر، اثرات تزریق دو طرفه درون هیپوکامپی آگونیست یا آنتاگونیست گیرنده‌های GABA_A بر اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین، در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفته است. **روش:** در این مطالعه تجربی- مداخله‌ای، از موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ، نژاد ویستار، با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۴۰ گرم استفاده شد. کلیه حیوانات با دستگاه استرئوتاکس در نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی به صورت دوطرفه کانول‌گذاری و پس از طی دوره بهبود، وارد آموزش‌های شرطی‌سازی و القای «ترجیح مکان شرطی‌شده» (CPP) شدند. روش مورد استفاده برای CPP شامل یک دوره پنج روزه با سه مرحله مجزای زیر بود: ۱- مرحله پیش شرطی‌سازی؛ ۲- مرحله شرطی‌سازی؛ ۳- مرحله آزمون یا بیان پاداش. **یافته‌ها:** تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف مرفین در یک روش وابسته به تعداد، ترجیح یک مکان شرطی شده (CCP) را القا نمود. تزریق موسیمول، به عنوان آگونیست گیرنده GABA_A داخل CA₁، توانست CPP القا شده به وسیله مرفین را به طور معنی‌دار مهار کند. تزریق دوطرفه مقادیر مختلف بیکوکولین داخل نواحی CA₁ هیپوکامپ، همراه با یک مقدار بی‌اثر مرفین سبب القای معنی‌دار CPP گردید. موسیمول یا بیکوکولین به تنهایی بر شرطی‌سازی مکانی اثری نداشتند. همچنین نتایج نشان دادند که واکنش القا شده به وسیله تزریق دو طرفه موسیمول به CA₁، با پیش‌تیمار به وسیله بیکوکولین برگشت‌پذیر است. از سوی دیگر، تزریق دو طرفه موسیمول یا بیکوکولین داخل CA₁، بیان CPP مرفین را به طور معنی‌دار کاهش داد، در حالی که بر فعالیت حرکتی در مرحله آزمون اثری نداشت. **نتیجه‌گیری:** نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که گیرنده‌های GABA_A نواحی CA₁ هیپوکامپ، در اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین نقش مهمی به عهده دارند.

دکتر محمد رضا زرین دست^۱

دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی

مقدمه

«ترجیح مکان شرطی شده» (CPP)^۲، یک روش حساس برای ارزیابی پاداش دارویی است که بر اساس آن میزان گرایش حیوانات آزمایشگاهی به محرکی که قبلاً با یک حالت خوشایند

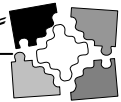
(القا شده به وسیله دارویی مانند مرفین) همراه شده بود، تعیین می‌شود (هافمن^۳، ۱۹۸۹؛ بلزانگ^۴ و باریو^۵، ۲۰۰۰؛ ناریتا^۶، اوکی^۷، ازاکی^۸، یاجیما^۹ و سوزوکی^{۱۰}، ۲۰۰۱). الگوی CPP نیازمند

2- Conditioned Place Preference
4- Belzung
6- Narita
8- Ozaki
10- Suzuki

3- Hoffman
5- Barreau
7- Aoki
9- Yajima
11- Piepponen

۱- نشانی تماس: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی.

E-mail: Zarinmr@ams.ac.ir



تحریکی و مهارتی کورتکس و هیپوکامپ و نورون‌های رابط (که نقش فعالی در فرآیندهای اطلاعاتی دارند) نقش کنترلی دارد (پائولسن^{۲۸} و موزر^{۲۹}، ۱۹۹۸). مشخص شده است که آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده GABA_A، به ترتیب موجب تضعیف و تقویت حافظه و یادگیری می‌شوند (فار^{۳۰}، فلود^{۳۱} و مورلی^{۳۲}، ۲۰۰۰؛ چاپوتیر^{۳۳}، ۲۰۰۴). به علاوه، مطالعات نشان داده‌اند که CPP یک الگوی یادگیری است (پیونن و همکاران، ۱۹۹۷؛ فریبتانو و مک‌دونالد، ۲۰۰۱) و یادگیری نیز نقش مهمی در توسعه پاداش اپیاتی دارد (وایت، ۱۹۹۶؛ لو^{۳۴}، زنگ^{۳۵}، لیو^{۳۶} و شنگ^{۳۷}، ۲۰۰۰). بنابراین در مطالعه حاضر، تأثیر گیرنده‌های GABA_A نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی بر اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین بررسی شده است.

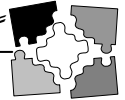
روش

در این مطالعه تجربی - مداخله‌ای از موش‌های بزرگ آزمایشگاهی^{۳۸} نر بالغ نژاد ویستار^{۳۹} با میانگین وزنی ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه و در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. آب و غذای مخصوص به میزان کافی (به جز هنگام آزمایش) در دسترس آنها قرار داده می‌شد. محل نگهداری حیوانات از نظر شرایط فیزیکی دارای دوره روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته (روشنایی طی هفت صبح تا هفت شب) و دمای آن $22 \pm 2^\circ\text{C}$ بود. برای اینکه استرس و ترس ناشی از جابه‌جایی حیوانات از بین برود و به مکان جدید عادت کنند،

نمودارگیری ارتباط میان پاداش و مکان خاص است (پیونن^{۱۱}، کیواستیک^۱، کاتاجاماکی^۲، زارکوفسکی^۳ و آتی^۴، ۱۹۹۷؛ فریبتانو^۵ و مک‌دونالد^۶، ۲۰۰۱). وایت^۷ (۱۹۹۶) معتقد است که سیستم هیپوکامپی در CPP نقش دارد و مطالعات نیز نشان داده‌اند که تخریب هیپوکامپ، موجب تضعیف CPP می‌شود (فریبتانو و مک‌دونالد، ۲۰۰۱).

مطالعات قبلی ما نشان می‌دهند که بین مراکز حافظه‌ای از جمله هیپوکامپ (کرمی، زرین‌دست، سپهری و صحرایی، ۲۰۰۲؛ رضایوف^۸، زرین‌دست، صحرایی و حائری‌روحانی، ۲۰۰۳) یا آمیگدال (رضایوف، زرین‌دست، صحرایی و حائری‌روحانی، ۲۰۰۲؛ زرین‌دست، رضایوف، صحرایی، حائری‌روحانی و رسولی ۲۰۰۳) و یادگیری وابسته به پاداش در CPP، ارتباط وجود دارد. به نظر می‌رسد انتقالات دوپامینرژیک مزولیمبیک از منطقه تگمنتوم شکمی به هسته اکومبوس، نقش مهمی در اثرات وابسته به پاداش مرفین ایفا می‌کند (مک‌براید^۹، مورفی^{۱۰} و ایکموتو^{۱۱}، ۱۹۹۹؛ ناریتا و همکاران، ۲۰۰۱؛ کلی^{۱۲} و بریج^{۱۳}، ۲۰۰۲). نورون‌های GABA جزیی از سیستم دوپامینی مزولیمبیک هستند که از طریق گیرنده‌های GABA، فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک را تنظیم می‌کنند (گانگ^{۱۴}، نیل و جاستیس، ۱۹۹۸؛ پانایس^{۱۵} و کاستلاکیس^{۱۶}، ۲۰۰۲). به علاوه، نورون‌های گابائریژیک تگمنتوم شکمی، انشعابات به سایر مراکز مغزی در گیر در فرآیندهای پاداشی رفتار می‌فرستند (سمبا^{۱۷} و فییگر^{۱۸}، ۱۹۹۲؛ وان بوکستل^{۱۹} و پیکل^{۲۰}، ۱۹۹۵). GABA مهمترین ناقل عصبی یا نوروترانسمیتر مهارتی در سیستم عصبی است که روی دو گروه گیرنده اصلی تأثیر می‌گذارد. این گیرنده‌ها به دو گروه عمده یونوتروپیک (گیرنده‌های GABA_A/GABA_C) و متابوتروپیک (گیرنده GABA_B) تقسیم می‌شوند (بورمن^{۲۱}، ۲۰۰۰؛ سمیانو^{۲۲} و کولمن^{۲۳}، ۲۰۰۲). مشخص شده است که تزریق مزمن مرفین ممکن است گیرنده‌های GABA_A مرکزی را تنظیم کند (تیکو^{۲۴} و هافمن^{۲۵}، ۱۹۸۰). همچنین پیشنهاد شده است که مهار گیرنده‌های GABA_A متمرکز بر نورون‌های دوپامینی ناحیه تگمنتوم شکمی، نقش مهمی در تنظیم آزادسازی دوپامین در هسته اکومبوس ایفا می‌کند (زی^{۲۶} و اشتاین^{۲۷}، ۲۰۰۲). GABA در ایجاد تعادل بین حالت‌های

1- Kivastic	2 - Katajamaki
3- Zharkovsky	4 - Ahtee
5- Ferbinteanu	6 - McDonald
7- White	8- Rezayof
9- McBride	10 - Murphy
11- Ikemoto	12 - Kelley
13- Berridge	14 - Gong
15- Panagis	16 - Kastellakis
17- Semba	18 - Fibiger
19- Van Bockstaele	20 - Pickel
21- Bormann	22 - Semyanov
23- Kullmann	24 - Ticku
25- Huffman	26 - Xi
27- Stein	28- Paulsen
29- Moser	30 - Farr
31- Flood	32 - Morley
33- Chapouthier	34 - Lu
35- Zeng	36 - Liu
37- Ceng	38- Rat
39- Wistar	



صورت دوطرفه، داخل نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی تزریق شدند. برای تزریق، حیوان به آرامی با دست نگه داشته شد تا دچار استرس و ترس نشود. بعد سیم‌های فولادی از داخل کانول راهنما برداشته و کانول تزریق شماره ۲۷ به آرامی وارد یکی از کانول‌ها شد (کانول تزریق، ۰/۵ میلی‌متر بلندتر از کانول راهنما بود). داروها به وسیله کانول تزریق شماره ۲۷ که با یک رابط پلی‌اتیلنی به سرنگ هامیلتون وصل بود، تزریق شدند؛ بدین ترتیب که ۰/۵ میکرولیتر از داروی موردنظر، به آرامی، به هر یک از دو ناحیه CA₁ (راست و چپ) هیپوکامپ پستی حیوان تزریق شدند. زمان تزریق ۶۰ ثانیه بود و ۶۰ ثانیه هم کانول تزریق را داخل کانول راهنما نگه داشتند تا دارو کاملاً در ناحیه مغزی مورد نظر جذب شود.

دستگاه ترجیح مکان شرطی شده (CPP)

دستگاه سه قسمتی ترجیح مکان شرطی شده، چوبی و بر اساس طرح کار^۸ و وایت (۱۹۸۳) ساخته شده است. دو قسمت اصلی A و B دستگاه، مساوی و دارای ابعاد ۳۰ × ۳۰ × ۴۰ سانتی‌متر می‌باشند، ولی تفاوت‌هایی دارند که آنها را از هم مشخص می‌کند. دیواره قسمت A دستگاه، سفید رنگ است و نوارهای سیاه افقی به عرض دو سانتی‌متر و کف توری دارد و قسمت B دستگاه، سیاه رنگ است و دارای نوارهای عمودی سفید به عرض دو سانتی‌متر و یک کف صاف می‌باشد. قسمت سوم دستگاه، یعنی قسمت C، یک تونل قرمز رنگ در ابعاد ۳۰ × ۱۵ × ۴۰ سانتی‌متر دارد که دو قسمت بزرگ A و B را به یکدیگر مرتبط می‌کند. دستگاه به وسیله یک در گیوتینی به سه بخش کاملاً مجزا تقسیم می‌شود. با برداشتن این در، حیوان می‌تواند از طریق تونل C، آزادانه در قسمت‌های A و B حرکت کند.

آزمون رفتاری

روش ترجیح مکان شرطی شده، بر اساس طرح بدون سوگیری^۹ و طبق روش دفونسکا^{۱۰} و همکارانش (۱۹۹۵) پایه‌ریزی

حیوانات یک هفته قبل از آزمایش به آزمایشگاه منتقل شدند. در طول مدت سازش با محیط، هر حیوان فقط به مدت پنج دقیقه در دست قرار می‌گرفت تا کمتر دچار استرس شود و از هر حیوان در تمامی آزمایش‌ها، فقط یک بار استفاده شد.

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از: سولفات مرفین^۱ (شرکت تماد، تهران، ایران)، موسیمول (شرکت توکرین انگلستان) و بیکوکولین (شرکت سیگمای آمریکا). کلیه داروها، به جز بیکوکولین، درست قبل از آزمایش در محلول سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل حل شدند.

ابتدا بیکوکولین در یک تا دو قطره اسید استیک گلاسیال (با کمک سرنگ هامیلتون) حل و سپس به وسیله سرم فیزیولوژیک تا حجم پنج میلی‌متر رقیق گردید. موسیمول و بیکوکولین در نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی و مرفین به صورت زیرجلدی^۲ (SC) تزریق شدند. گروه‌های کنترل، سالین یا حامل^۳ دریافت می‌کردند.

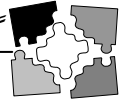
روش جراحی حیوان و تزریق دارو

قبل از عمل جراحی و کانول‌گذاری، ابتدا حیوان با کتامین هیدروکلراید^۴ و زایلین^۵ (با نسبت ۱۰۰ mg/kg به ۱۰۰ mg/kg ۴ زایلین) بی‌هوش شد. برای تهیه کانول راهنما، سر سرنگ شماره ۲۲، از جنس فولاد ضدزنگ به کار رفت. این کانول‌ها به صورت دو طرفه، با تعیین مختصات نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی از روی اطلس پاکسینوس^۶ و واتسون^۷ (۱۹۸۶) به اندازه یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق کار گذاشته شدند. مختصات اطلس برای ناحیه هیپوکامپ پستی عبارت است از: قدامی - خلفی: ۳/۵ - تا ۳ - میلی‌متر از برگما؛ میانی - جانبی: ۱/۸ ± ۲ میلی‌متر از خط وسط؛ شکمی - پستی: ۳ - تا ۲/۸ - میلی‌متر از سطح جمجمه.

کانول تعبیه شده، با سیمان دندانپزشکی محکم شد. برای جلوگیری از بسته شدن مجرای کانول تا زمان تزریق دارو، این مجرا با یک سیم فولادی ضد زنگ هم اندازه با کانول راهنما که از سر سرنگ شماره ۲۷ تهیه شده بود، مسدود گردید. بعد از پایان جراحی، برای بهبود حیوانات و رفع استرس جراحی، یک هفته به آنها استراحت داده شد و بعد از پایان این مدت مورد آزمایش قرار گرفتند. داروهای گابائترژیک مورد نظر، از طریق کانول‌ها، به

1- morphine sulphate
3- vehicle
5- Xylazine
7- Watson
9- unbiased

2 - subcutaneously
4 - ketamine hydrochloride
6 - Paxinos
8 - Carr
10 - De fonseca



زمان سپری شده در قسمت A و B دستگاه برای وی ثبت و تغییر ترجیح^۳ به صورت تفاوت برحسب ثابته محاسبه شد. در واقع این متغیر عبارت است از تفاضل زمان سپری شده در قسمتی که شرطی‌سازی با مرفین صورت گرفته در روز آزمون و روز پیش‌شرطی‌سازی. هر حیوان فقط یک بار وارد مرحله آزمون شد. برای مطالعه اثر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده GABA_A بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده، این داروها در مرحله شرطی‌سازی، در جلساتی که مرفین زیرجلدی تزریق می‌شد، قبل از مرفین و به صورت داخل مغزی تزریق شدند و در جلساتی که سالیین زیرجلدی تزریق می‌شد، سالیین یا حامل به صورت داخل مغزی تزریق گردید.

در مورد مطالعه اثر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده GABA_A بر بیان^۴ ترجیح مکان شرطی شده، در مرحله شرطی‌سازی هیچ‌گونه تزریق داخل مغزی صورت نگرفت و فقط در روز آزمون، پنج دقیقه قبل از اجرای آزمون، هر حیوان به صورت داخل مغزی داروها را دریافت کرد و بعد در دستگاه CPP قرار داده شد.

اندازه‌گیری فعالیت حرکتی حیوان

به منظور بررسی فعالیت حرکتی حیوان، کف هر یک از خانه‌های دستگاه CPP (A و B) با کشیدن دو خط عمود بر هم به چهار قسمت مساوی تقسیم شد. در روز آزمون هر بار که حیوان هر یک از این خطوط را قطع و از آن عبور می‌کرد، این عبور به عنوان یک فعالیت حرکتی ثبت شد.

مراحل آزمایش‌ها در نواحی CA1 هیپوکامپ پستی

آزمایش‌ها روی گروه‌های آزمایشی که شامل هشت حیوان در هر گروه بود، انجام شد.

آزمایش اول

منحنی دوز - پاسخ برای CPP مرفین

از تزریق زیر جلدی مقادیر متفاوت مرفین (۰/۵، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ mg/kg)، برای بررسی توانایی آن در شرطی‌سازی مکانی استفاده

شده است. در این طرح، حیوان به هیچ قسمت دستگاه تمایل خاصی نشان نمی‌دهد. روش ترجیح مکان شرطی شده، شامل یک برنامه پنج روزه و سه مرحله مشخص است: پیش‌شرطی‌سازی^۱، شرطی‌سازی و آزمون (پس شرطی‌سازی^۲).

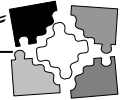
الف - مرحله پیش‌شرطی‌سازی. در اولین روز دوره که آن را روز آشنایی حیوان با محیط داخل دستگاه می‌خوانند، در گیوتینی برداشته و هر حیوان در قسمت C دستگاه گذاشته شد تا مدت ۱۵ دقیقه آزادانه در محیط دستگاه گردش کند و با محیط داخل قفس آشنا شود. زمان سپری شده هر حیوان در قسمت‌های A و B با کرونومتر اندازه‌گیری و ثبت گردید. در این روش، حیوانات به هیچ قسمت دستگاه تمایل خاصی نشان ندادند. تحلیل آماری نشان داد که زمان سپری شده برای گروه‌های هشت‌تایی موش‌ها در قسمت‌های A و B، اختلاف معنی‌داری نداشت. سپس برای شرطی شدن مکانی، حیوانات به طور تصادفی در نظر گرفته شدند.

ب - مرحله شرطی‌سازی. مرحله شرطی‌سازی، یک روز بعد از مرحله پیش‌شرطی‌سازی شروع شد. در گیوتینی در داخل دستگاه نصب و ارتباط قسمت‌ها قطع شد. این مرحله سه روز طول کشید و شامل روزی دو نوبت تزریق (هشت صبح و دو بعد از ظهر) بود.

صبح اولین روز این مرحله، حیوانات بلافاصله بعد از تزریق زیرجلدی مرفین سولفات، به مدت ۴۵ دقیقه، در قسمت سفید دستگاه (A) قرار داده شدند. بعد از شش ساعت (عصر همان‌روز)، حیوانات به جای دارو، سالیین دریافت کردند و به مدت ۴۵ دقیقه در قسمت سیاه دستگاه (B) قرار گرفتند. در طول مدت قرارگیری در هر قسمت، درهای گیوتینی بسته بودند. در دومین روز، با حفظ شرایط زمانی روز قبل، حیوانات صبح سالیین دریافت کردند و در قسمت سیاه قرار داده شدند و عصر دارو گرفتند و به مدت ۴۵ دقیقه در قسمت سفید حبس گردیدند. در سومین روز شرطی‌سازی، حیوانات مراحل تزریق را همانند روز اول طی کردند.

ج - مرحله آزمون (پس شرطی‌سازی). آزمون در روز پنجم، یعنی یک روز بعد از آخرین مرحله شرطی‌سازی اجرا شد. همانند روز قبل، در گیوتینی برداشته شد و هر حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه CPP آزادانه جست‌وجو و گردش کرد. در این مدت،

1- preconditioning phase
2- post - conditioning or testing phase
3- change of preference
4- expression



CA₁ هیپوکامپ، تزریق زیرجلدی سالین (1ml/kg) دریافت کرد. در طی اجرای مرحله آزمون، فعالیت حرکتی میزان ترجیح سنجیده شد.

ب- اثر بیکوکولین بر اکتساب CPP مرفین. مقادیر متفاوت بیکوکولین (0/25، 0/5 و 1 μg/rat) یا حامل (1 μl/rat) به ناحیه CA₁ هیپوکامپ پستی چهار گروه از حیوانات تزریق شد و بلافاصله بعد از آن، در طی مرحله شرطی‌سازی، تزریق زیرجلدی مرفین (0/5mg/kg) صورت گرفت. کلیه گروه‌ها 24 ساعت بعد از آخرین تزریق دارو، بدون هیچ‌گونه تزریقی، آزمایش شدند. در روز اجرای آزمون، فعالیت حرکتی نیز سنجیده شد.

آزمایش چهارم

اثر آنتاگونیست گیرنده GABA_A بر واکنش آگونیست این گیرنده در طی CPP مرفین

در طی مرحله شرطی‌سازی، تزریق مقادیر مختلف موسیمول (0/25، 0/5 و 1 μg/rat) در ناحیه CA₁ هیپوکامپ، همراه با تزریق زیرجلدی آن (5mg/kg) صورت گرفت. هشت گروه هشت‌تایی حیوانات در مرحله شرطی‌سازی، ابتدا به صورت داخل مغزی حامل (1 μl/rat) یا بیکوکولین (1 μl/rat) دریافت کردند و پنج دقیقه بعد از آن، در این گروه‌ها، تزریق‌های درون هیپوکامپ سالین (1ml/rat) یا موسیمول (0/25، 0/5 و 1 μg/rat) و بلافاصله تزریق زیرجلدی مرفین (5mg/kg) انجام شد. در روز آزمون، فعالیت حرکتی و میزان ترجیح بدون هیچ‌گونه تزریقی ارزیابی گردید.

آزمایش پنجم

اثر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده GABA_A بر بیان CPP مرفین

در طی مرحله شرطی‌سازی، تزریق زیرجلدی مرفین (5mg/kg) به هشت گروه آزمایشی، CPP مرفین ایجاد کرد. در طول مرحله شرطی‌سازی، هیچ‌گونه تزریق داخل مغزی صورت نگرفت. در روز آزمون و قبل از اجرای آزمون، به CA₁ هیپوکامپ شش گروه حیوان موسیمول (0/25، 0/5 و 1 μg/rat) یا بیکوکولین (0/5، 1 و 2 μg/rat) تزریق شد و در پایان به مدت 15 دقیقه در دستگاه CPP قرار داده شدند و فعالیت حرکتی و میزان ترجیح آنها

شد. چهار گروه از حیوانات، در مرحله شرطی‌سازی، به تناوب مرفین و سالین دریافت کردند. در طول مرحله شرطی‌سازی، یک گروه مجزا فقط سالین دریافت کرد که به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. در مرحله آزمون، تغییر ترجیح و فعالیت حرکتی سنجیده شد.

آزمایش دوم

اثر آگونیست گیرنده GABA_A، همراه یا بدون مرفین بر اکتساب CPP

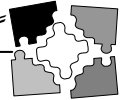
الف - اثر موسیمول بر اکتساب CPP. در طی مرحله شرطی‌سازی، درون هیپوکامپ (CA₁) سه گروه از حیوانات مقادیر مختلف موسیمول (0/25، 0/5 و 1 μg/rat) و بلافاصله سالین (1ml/kg) تزریق شد. به علاوه، یک گروه کنترل در طی مرحله شرطی‌سازی، ابتدا سالین را به صورت داخل هیپوکامپ (CA₁) (1 μg/rat) و سپس یک تزریق زیرجلدی سالین (1ml/kg) دریافت کرد. همه گروه‌ها 24 ساعت بعد از آخرین تزریق داخل مغزی، شرطی‌سازی شدند و بدون هیچ‌گونه تزریقی، آزمایش و فعالیت حرکتی آنها نیز در طی مرحله آزمون ارزیابی گردید.

ب- اثر موسیمول بر اکتساب CPP مرفین. در طی مرحله شرطی‌سازی، داخل CA₁ هیپوکامپ پستی چهار گروه از حیوانات، موسیمول (0/25، 0/5 و 1 μg/rat) یا سالین (1 μl/rat) تزریق شد و بلافاصله بعد از آن، تزریق زیرجلدی مرفین (5mg/kg) صورت گرفت. تمامی گروه‌ها، 24 ساعت بعد از آخرین تزریق دارو، بدون هیچ‌گونه تزریقی آزمایش شدند. فعالیت حرکتی آنها در مرحله آزمون نیز سنجیده شد.

آزمایش سوم

اثر آنتاگونیست گیرنده GABA_A، همراه یا بدون مرفین بر اکتساب CPP

الف - اثر بیکوکولین بر اکتساب CPP. در طی مرحله شرطی‌سازی، داخل CA₁ هیپوکامپ سه گروه از حیوانات مقادیر مختلف بیکوکولین (0/25، 0/5 و 1 μg/rat) و بلافاصله بعد از آن، سالین (1mg/kg) به صورت زیرجلدی تزریق شد. در مرحله شرطی‌سازی، گروه کنترل همراه با تزریق حامل (1 μl/rat) داخل



در طی این مدت ارزیابی گردید.

بافت‌شناسی

در پایان آزمایش‌های CPP، داخل هر کانول ۰/۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو یکدرصد تزریق شد. سپس حیوانات به وسیله کلروفورم کشته شدند و نهایتاً مغز آنها از مجامه خارج گردید و به مدت ۱۰ روز در ظروف خاصی حاوی فرمالین ۱۰درصد نگهداری شد تا بافت مغزی کاملاً تثبیت شود. سپس از مغزهای تثبیت شده، مقاطع مغزی تهیه شد و محل تزریق (که به وسیله متیلن بلو رنگی شده بود)، به کمک میکروسکوپ تشریح و بررسی و اطلاعات مربوط به موقعیت تزریق هر حیوان در دفتر ثبت گردید. موش‌هایی که کانول تزریق آنها در داخل هیپوکامپ پستی (CA₁) قرار داشت، در تجزیه و تحلیل آماری دخالت داده شدند و موش‌های فاقد کانول تزریق در نواحی CA₁ هیپوکامپ، از این تجزیه و تحلیل حذف گردیدند. در تجزیه و تحلیل‌های آماری، ۹۵ درصد از حیوانات جراحی شده مورد استفاده قرار گرفتند و ۵ درصد باقی مانده، به دلیل کانول گذاری نادرست حذف شدند.

تحلیل آماری

در این مطالعه، تغییر در ترجیح، شاخص ارزیابی ترجیح مکان در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار از میانگین مقادیر متغیر ارائه گردید.

به منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی، از روش تحلیل واریانس (ANOVA) یک طرفه و دوطرفه و به دنبال آن از آزمون آماری توکی استفاده شد و اختلاف $p < 0.05$ تفاوت معنی‌دار تلقی گردید. برای انجام محاسبات آماری، از نرم‌افزارهای آماری SPSS و INSTAT و برای رسم نمودار S از نرم‌افزار سیگماپلات استفاده شد.

یافته‌ها

آزمایش اول

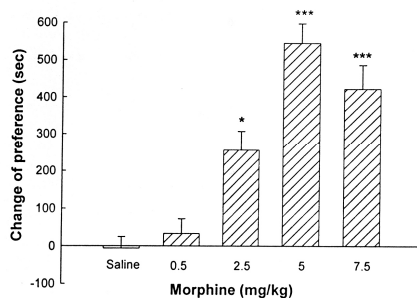
منحنی دوز - پاسخ برای CPP مرفین. در نمودار ۱، CPP تولید شده به وسیله تزریق زیرجلدی مقادیر مختلف مرفین به حیواناتی

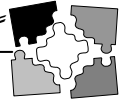
که در نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی کانول گذاری شده‌اند، نشان داده شده است. آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه مشخص کرد که مرفین به صورت وابسته به مقدار، موجب افزایش معنی‌دار ترجیح مکان شرطی شده در حیوانات تحت آزمایش (نسبت به گروه کنترل) شده است [F(۴ و ۳۵) = ۱۹/۱۲، $p < 0.0001$]. در مقادیر مختلف مرفین (۲/۵، ۵ و ۷/۵ mg/kg) CPP معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین واکنش با تزریق مقدار ۵mg/kg مرفین به دست آمد.

آزمایش دوم

اثر آگونیست گیرنده GABA_A همراه یا بدون مرفین بر اکتساب CPP. نمودار ۲ تأثیر تزریق دوطرفه داخل مغزی مقادیر مختلف موسیمول (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ μg/rat) یا سالین (۱ μl/rat) را بر اکتساب CPP در غیاب یا حضور مرفین (۵mg/kg) نشان می‌دهد. تحلیل واریانس دو طرفه، تداخل معنی‌دار موسیمول و مرفین را در اکتساب ترجیح مکان نشان داد [مقایسه درون گروهی: اثر تیمار: F(۱ و ۵۶) = ۹۰/۹، $p < 0.001$ ؛ اثر مقدار: F(۳ و ۵۶) = ۵/۳، $p < 0.01$ ؛ تداخل تیمار × مقدار: F(۳ و ۵۶) = ۶/۳۰، $p < 0.001$].

به علاوه، تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق موسیمول (۰/۲۵ و ۰/۵ μg/rat) به CA₁ هیپوکامپ به تنهایی قادر به القای ترجیح مکان شرطی شده نمی‌باشد. در ضمن، موسیمول توانست ترجیح مکان القا شده به وسیله تزریق زیرجلدی مرفین (۵mg/kg) را در یک روش وابسته به مقدار به طور معنی‌دار مهار کند [F(۳ و ۲۸) = ۷/۸، $p < 0.001$].





نمودار ۳- اثرات تزریق دو طرفه بیکوکولین در CA₁ هیپوکامپ پستی به تنهایی یا همراه با مرفین بر اکتساب CPP؛ $p < 0.05$ * و $p < 0.001$ ** در مقایسه با گروه کنترل (سالین).

نمودار ۱- ترجیح مکان شرطی شده ناشی از تزریق مرفین در حیواناتی که در ناحیه CA₁ هیپوکامپ آن‌ها کانول گذاری شده است؛ $p < 0.05$ * و $p < 0.001$ ** در مقایسه با گروه کنترل (سالین).

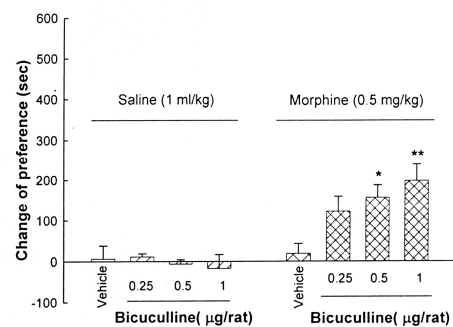
نمودار ۴- اثرات تزریق دو طرفه بیکوکولین در CA₁ هیپوکامپ بر واکنش موسیمول در طی CPP مرفین؛ $p < 0.05$ * و $p < 0.001$ ** در مقایسه با گروه کنترل (سالین).

نمودار ۲- اثرات تزریق دو طرفه موسیمول در ناحیه CA₁ هیپوکامپ به تنهایی یا همراه با مرفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده؛ $p < 0.05$ * و $p < 0.001$ ** در مقایسه با گروه کنترل (سالین).

تحلیل واریانس دو طرفه، تأثیر تداخل معنی‌دار بیکوکولین و مرفین را بر اکتساب ترجیح مکان نشان داد. [مقایسه درون گروهی: اثر تیمار: $F(1, 56) = 34.7$, $p < 0.001$ ؛ اثر مقدار: $F(3, 56) = 3.5$, $p < 0.05$ ؛ $F(3, 56) = 1.4$, $p < 0.01$ ؛ اثر تداخل تیمار × مقدار: $F(3, 56) = 0.2$, $p > 0.05$]. به علاوه، تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که صرف تزریق بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ mg/rat) داخل CA₁ هیپوکامپ نتوانسته است ترجیح مکان معنی‌داری را القا کند [$F(4, 35) = 0.2$, $p > 0.05$]. همچنین، بیکوکولین ترجیح مکان القا شده به وسیله مرفین (۰/۵ mg/kg) را تقویت کرد [$F(3, 28) = 5.1$, $p < 0.01$].

آزمایش سوم

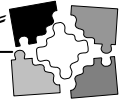
اثر آنتاگونیست گیرنده GABA_A همراه یا بدون مرفین بر اکتساب CPP. نمودار ۳ تأثیر تزریق دو طرفه داخل مغزی مقادیر متفاوت بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ μg/rat) یا حامل (۱ μl/rat) را بر اکتساب CPP، در حضور یا غیاب تزریق زیر جلدی مرفین (۰/۵ mg/kg) نشان می‌دهد.



آزمایش چهارم

اثر آنتاگونیست گیرنده GABA_A بر واکنش آگونیست آن در طی CPP مرفین. نمودار ۴ اثر تزریق‌های درون هیپوکامپی (CA₁) بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ μg/rat) را بر تغییرات القا شده به وسیله تزریق زیر جلدی مرفین (۵ mg/kg) همراه با تزریق درون هیپوکامپی (CA₁) (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ μg/rat) نشان می‌دهد.

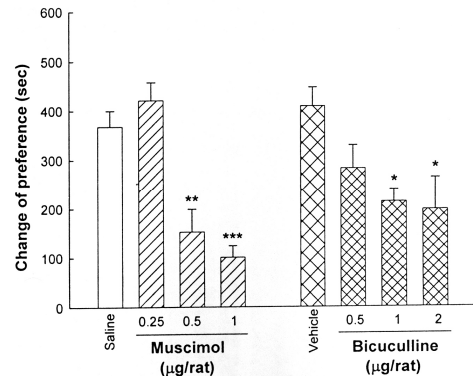
تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد که بیکوکولین، اثر مهاری موسیمول را بر پاسخ مرفین معکوس می‌کند [مقایسه درون گروهی: اثر تیمار: $F(1, 56) = 13$, $p < 0.001$ ؛ اثر مقدار:



در مطالعه حاضر، دخالت گیرنده‌های GABA_A نواحی CA₁ هیپوکامپ پشتی بر ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین CPP بررسی شد. همانند مطالعات قبلی (سوزوکی^۱، تسودا^۲، فونادا^۳ و میساوا^۴، ۱۹۹۵؛ شپینبرگ^۵، هایدردر^۶ و لفرور^۷، ۱۹۹۶؛ کیواستیک^۸، وریکالاس^۹، پیونن^{۱۰}، زارکوفسکی^{۱۱} و آتی^{۱۱}، ۱۹۹۶)، آزمایش ما نیز نشان داد که تزریق زیر جلدی مرفین به صورت وابسته به مقدار، ترجیح مکان شرطی شده را آشکار می‌نماید. این یافته مطالعات قبلی را تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که اثرات پاداشی آگونیست گیرنده اوپیوئیدی می‌تواند به وسیله محرک‌های محیطی که قبلاً حیوان در آن محیط پاداش گرفته است، شرطی شود.

انتقال دوپامینرژیک مزولیمبیک از ناحیه تگمنتوم شکمی به هسته آکومبیس و سایر نواحی لیمبیک مغز پیشین، نقش مهمی در اثرات وابسته به پاداش مرفین ایفا می‌کند (کوب^{۱۲}، ۱۹۹۲؛ ماتس^{۱۳}، برادلی^{۱۴}، سالوگتر^{۱۵} و براون^{۱۶}، ۱۹۹۶؛ مالدونادو^{۱۷} و همکاران، ۱۹۹۷؛ مک‌برد^{۱۸} و همکاران، ۱۹۹۹). همچنین بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که آزادسازی دوپامین مزولیمبیک و شلیک سلول‌های دوپامینی، به وسیله انتقالات GABA و نورون‌های رابط گابائریژیک درون ناحیه تگمنتوم شکمی مهار می‌شوند (استفنسن^{۱۹}، اسوینگاس^{۲۰}، پیکل^{۲۱} و هنریکسون^{۲۲}، ۱۹۹۸؛ وسترنیک^{۲۳}، انریکو^{۲۴}، فیمن^{۲۵}، دی‌ورایس^{۲۶}، انریکو^{۲۷}، دی‌ورایس و وسترنیک^{۲۸}، ۱۹۹۸). اگرچه سیستم دوپامینی مزولیمبیک در اثرات پاداشی مرفین نقش اصلی را بازی می‌کند، اما مطالعات به طور قوی پیشنهاد می‌کنند که سلول‌های گابائریژیک، گلاتاماترژیک و سرتونرژیک در ناحیه تگمنتوم شکمی و نیز لیمبیک مغز جلویی مهم هستند (لشنر^{۲۸}، ۱۹۹۷). تحقیقات نشان

، $p < 0.0001$ ؛ $F(3 \text{ و } 56) = 25.6$ ؛ تداخل تیمار \times مقدار: $p < 0.0001$ ، $F(3 \text{ و } 56) = 16$. نتایج نشان داد که بیکوکولین قادر است اثر موسیمول را متوقف و اثرات CPP مرفین را تقویت کند.



نمودار ۵- اثرات تزریق دو طرفه موسیمول یا بیکوکولین داخل CA₁ هیپوکامپ بر بیان ترجیح مکان شرطی شده (CPP) ناشی از مرفین؛ $p < 0.05$ * و $p < 0.001$ ** در مقایسه با گروه کنترل (سالین).

آزمایش پنجم

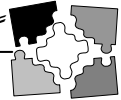
اثر آگونیست یا آنتاگونیست گیرنده GABA_A بر بیان ناشی از مرفین. نمودار ۵ اثرات تزریق دو طرفه CA₁ موسیمول یا بیکوکولین را بر بیان CPP ناشی از مرفین (۵mg/kg) نشان می‌دهد. تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تیمار با موسیمول (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ µg/rat) $F(3 \text{ و } 28) = 10.2$ ، $p < 0.0001$ یا بیکوکولین (۰/۵ و ۲ و ۴ µg/rat) $F(3 \text{ و } 28) = 3.4$ ، $p < 0.01$ ، بیان CPP مرفین (۵mg/kg) را به طور معنادار کاهش داده است.

اثر داروها بر فعالیت حرکتی

تحلیل آماری نشان داد که تزریق مقادیر مختلف مرفین (۰/۵-۷/۵mg/kg) یا موسیمول (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ µg/rat) و یا بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ µg/rat)، به تنهایی، در طول مرحله آزمون، بر فعالیت حرکتی آزمودنی تأثیر نداشته است. تزریق دو طرفه داخل CA₁ موسیمول یا بیکوکولین همراه با تزریق زیر جلدی مرفین نیز نتوانست هیچ تأثیری بر فعالیت حرکتی گروه آزمایشی بگذارد.

بحث

- | | |
|-----------------|-------------------|
| 1- Suzuki | 2- Tsuda |
| 3 - Funada | 4 - Misawa |
| 5 - Shippenberg | 6 - Heidbreder |
| 7 - Lefevour | 8 - Kivastik |
| 9- Vuroikallas | 10 - Zhakovsky |
| 11- Ahtee | 12- Koob |
| 13 - Mattes | 14- Bradley |
| 15 - Salughter | 16- Browne |
| 17 - Maldonado | 18- McBride |
| 19- Steffensen | 20- Svingos |
| 21 - Pickel11 | 22- Henriksen |
| 23 - Westerink | 24- Enrico |
| 25 - Feimann | 26- De vries |
| 27 - Bouma | 28- Leshner |
| 29- Lavolette | 30 - Van der Kooy |



مطلب را تأیید می‌کند (رضایوف و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین به نظر می‌رسد که گیرنده‌های GABA_A نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی، خودشان در شروع پاسخ پاداشی دخالتی ندارند.

نتایج حاضر نشان می‌دهند که تزریق دو طرفه داخل مغزی موسیمول در CA₁، CPP مرفین را در یک روش وابسته به مقدار به طور معنی‌دار مهار می‌کند. به نظر می‌رسد که احتمالاً آگونیست گیرنده‌های GABA_A، اکتساب CPP مرفین را از طریق کاهش پاداش مرفین کاهش داده‌اند که این با گزارش‌های قبلی مطابقت دارد. برای مثال، نشان داده شده است که تزریق موسیمول، خودتحریکی نیکوتین را در موش‌های آموزش دیده کاهش می‌دهد (کورینگال^{۱۶}، کوئن^{۱۷}، آدامسون^{۱۸}، چو^{۱۹} و زانگ^{۲۰}، ۲۰۰۰). به علاوه، پیشنهاد شده است که افزایش تراکم GABA مزولیمبیک، اکتساب خود تزریقی هروئین را مسدود می‌کند (زی و استین، ۲۰۰۰). از سوی دیگر، با توجه به اینکه نورون‌های گابائریک هیپوکامپ ممکن است در فرآیند یادگیری و حافظه دخالت داشته باشند (ورتس^{۲۱} و کوکسیس^{۲۲}، ۱۹۹۷؛ پائولسن و موزر، ۱۹۹۸) و همچنین هیپوکامپ پستی خود در یادگیری وابسته به پاداش دخالت دارد (رضایوف و همکاران، ۲۰۰۳)، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تزریق موسیمول داخل CA₁، این نوع یادگیری را کاهش می‌دهد. همچنین نتایج حاضر مؤید آن است که ممکن است تغییرات CPP مرفین، به وسیله فعالیت گیرنده‌های GABA_A، با حافظه ارتباطی رابطه داشته باشد و آن را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین، نتایج حاضر می‌تواند مشابه نتایج تحقیقات سایر محققان (که تزریق موسیمول را عامل فراموشی پاداش می‌دانند) باشد (سالیناس^{۲۳} و مک‌گاف^{۲۴}، ۱۹۹۵).

بررسی‌های ما نشان می‌دهند که مقدار کم مرفین (۵mg/kg) که نتوانسته است CPP را القا کند، همراه با بیکو کولین، موجب

داده‌اند که فعالیت GABA در پاداش اویوئیدی، به طور ویژه، به وسیله گیرنده‌های GABA_A تنظیم می‌شود (لاویولت^{۲۹} و وندرکوی^{۳۰}، ۲۰۰۱). به علاوه، شواهد اخیر پیشنهاد می‌کند که اثرات درون‌زای نورون‌های رابط گابائریک، بر سلول‌های دوپامینی تگمنتوم شکمی از طریق گیرنده‌های GABA_A تنظیم می‌شود (سوجیتا^۱، جانسون^۲ و نورت^۳، ۱۹۹۲؛ کالیواس^۴، چرچیل^۵ و کلیتیک^۶، ۱۹۹۳). گیرنده‌های GABA_A با مهار کردن آزادسازی دوپامین از تگمنتوم شکمی و لیمبیک مغز جلویی، اثرات تقویتی را تنظیم می‌کنند. مطالعات نشان داده‌اند که گیرنده‌های GABA_A در وابستگی دارویی نقش پیچیده‌ای دارند (مالکولم^۷، ۲۰۰۳).

با در نظر گرفتن این مطلب که هیپوکامپ در وابستگی روانی و دارویی (نستلر^۸ و آفاجانیان^۹، ۱۹۹۷؛ نستلر، ۲۰۰۱) و نیز رفتار جست‌وجوی دارویی (ورل^{۱۰}، لیو^{۱۱}، هایس^{۱۲}، اسپکتور^{۱۳} و گاردنر^{۱۴}، ۲۰۰۱) نقش دارد، به نظر می‌رسد که تحریک و مهار گیرنده‌های GABA_A ناحیه CA₁ هیپوکامپ پستی بتواند اکتساب و بیان ترجیح مکان ناشی از مرفین را تغییر دهد.

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق آگونیست (موسیمول) یا آنتاگونیست (بیکو کولین) گیرنده GABA_A، در نواحی CA₁، به تنهایی نمی‌تواند ترجیح مکان شرطی شده یا اجتناب مکانی شرطی شده معنی‌داری را به وجود آورد. به هر حال، نشان داده شده است که تزریق داخل تگمنتوم شکمی موسیمول، اثرات پاداشی خود تحریکی پالیدوم شکمی را کاهش می‌دهد (پاناگایس و کاستلاکس، ۲۰۰۲). همچنین گزارش شده است که تزریق دو طرفه موسیمول یا بیکو کولین داخل تگمنتوم شکمی، در روش اندازه‌گیری به وسیله CPP، اثر پاداشی مشخص و برجسته‌ای دارد (لاویولت و وندرکوی، ۲۰۰۱). یک مطالعه میکرودیالیز داخل مغزی نشان داد که تزریق بیکو کولین، یک افزایش معنی‌دار و وابسته به مقدار را در دوپامین خارج سلولی هسته آکومبیس ایجاد می‌کند (یان^{۱۵}، ۱۹۹۹). از آنجا که تزریق درون هیپوکامپی آگونیست و آنتاگونیست GABA_A نتوانسته است CPP را القاء نماید، می‌توان چنین نتیجه گرفت که هیپوکامپ به تنهایی در سازوکارهای پاداشی دخالت ندارد که مطالعات قبلی ما نیز این

1- Sugita
3- North
5 - Churchill
7 - Malcolm
9- Aghajanian
11- Liu
13- Spector
15- Yan
17- Coen
19- Chow
21- Vertes
23- Salinas

2- Johnson
4- Kalivas
6- Klitenick
8- Nestler
10- Vorel
12- Hayes
14- Gardner
16- Corrigall
18- Adamson
20- Zhang
22- Kocsis
24- McGaugh



روش‌های رفتاری معکوس کرده است (مویر^۶، رابینز^{۱۷} و اوریت^{۱۸}، ۱۹۹۲). بنابراین، نتایج حاضر ثابت می‌کند که کاهش پاداش مرفین به وسیله موسیمول، از طریق گیرنده‌های GABA_A تنظیم می‌شود.

از سوی دیگر، پژوهش حاضر اثرات تزریق داخل CA₁ آگونیست گیرنده GABA_A یا آنتاگونیست آن بر بیان CPP مرفین را نیز مطالعه کرده است که نتایج آن نشان می‌دهند تزریق دوطرفه داخل CA₁ مقادیر مختلف موسیمول یا بیکوکولین، بلافاصله قبل از مرحله آزمون، به طور معنی‌داری از بیان CPP مرفین (۵mg/kg) ممانعت می‌کند. اگرچه مهار گیرنده GABA_A در طول اکتساب، CPP مرفین را تقویت کرد، بیان CPP مرفین به وسیله بیکوکولین مهار شد. مشابه آن، تزریق داخل CA₁ موسیمول، از بیان CPP مرفین ممانعت کرد. بنابراین، آگونیست و آنتاگونیست گیرنده GABA_A، بر بیان CPP مرفین اثر مشابه دارند. لذا به نظر می‌رسد که فعالیت یا مهار گیرنده‌های GABA_A هیپوکامپ پستی، نقش مهمی در بیان CPP مرفین بازی کند.

از آنجا که هم آگونیست و هم آنتاگونیست، القاکننده یک اثر هستند، مطالعه بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. با در نظر گرفتن تمامی یافته‌ها، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که گیرنده‌های GABA_A نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی، در القای پاداش ناشی از مرفین و ایجاد ترجیح مکان شرطی شده نقش مهمی بازی می‌کنند.

القای CPP می‌شود. یک گزارش نشان می‌دهد که مسدود شدن گیرنده‌های GABA_A در تگمتوم شکمی قدامی، آزادسازی دوپامین را در هسته آکومبیس تقویت می‌کند (مالکولم، ۲۰۰۳). با توجه به اینکه، امکان ورودی‌های دوپامینرژیک از هیپوکامپ به هسته آکومبیس وجود دارد (فلورسکو^۱، بلاها^۲، یانگ^۳ و فیلیپس^۴، ۲۰۰۱)، ممکن است بیکوکولین در نواحی CA₁ هیپوکامپ پستی، ویژگی‌های دوپامینی مرفین را در هسته آکومبیس تقویت کند.

از سوی دیگر، گزارش‌های متعدد نشان می‌دهند که گیرنده‌های GABA_A تثبیت حافظه را تنظیم می‌کنند (بریونی^۵، دکر^۶، گامبوا^۷، ایزکوئردو^۸ و مک‌گاف^۹، ۱۹۹۰؛ ایزکوئردو و مدینا^۹، ۱۹۹۱؛ ناگهارا^{۱۰} و مک‌گاف^۹، ۱۹۹۲). تزریق داخل CA₁ بیکوکولین، نگهداری حافظه را افزایش می‌دهد (لوفت^{۱۱}، پیرا^{۱۲}، کاماروتا^{۱۳} و ایزکوئردو، ۲۰۰۴). گزارش شده است که تزریق دو طرفه بیکوکولین داخل آمیگدال، حافظه را برای افزایش پاداش تقویت می‌کند (سالیانس و مک‌گاف^۹، ۱۹۹۶) و از آنجا که CPP یک روش یادگیری وابسته به پاداش است (پیونن و همکاران، ۱۹۹۷؛ فرین تانو و مک‌دونالد، ۲۰۰۱)، احتمالاً بیکوکولین همراه با پایین‌ترین مقدار مرفین، یادگیری را افزایش می‌دهد و در حقیقت ترجیح مکان شرطی شده را تقویت می‌کند.

نتایج همچنین نشان دادند که تزریق دوطرفه داخل CA₁ بیکوکولین، در طول مرحله شرطی‌سازی، اثرات کاهش‌ی CPP القا شده به وسیله موسیمول را معکوس می‌کند. در حمایت از نتایج حاضر، بررسی‌های سایر محققان نشان داده است که تزریق داخل تگمتوم شکمی بیکوکولین اثرات موسیمول را بر فعالیت حرکتی معکوس می‌کند (کالیواس^{۱۴} و ابرهارد^{۱۵}، ۱۹۹۰). تزریق دو

1- Floresco
3- Yang
5- Brioni
7- Gamboa
9- Medina
11- Luft
13- Cammurota
15- Eberhardt

2- Blaha
4- Phillips
6- Decker
8- Izquierdo
10- Nagahara
12- Pereira
14- Duffy
16- Muir

منابع

17- Robbins

18- Everitt

طرفه بیکوکولین در قاعده مغز جلویی نیز، اثرات موسیمول را در

Belzung, C., & Barreau, S. (2000). Differences in drug-induced place conditioning between BALB/c and C57B1/6 mice. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 65, 419-423.

Bormann, J. (2000). The "ABC" of GABA receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 21, 16-19.

Brioni, J. D., Decker, M. W., Gamboa, L. P., Izquierdo, I., & McGaugh, J. L. (1990). Muscimol injections in the medial septum impair spatial learning. *Brain Research*, 522, 227-234.



- Carr, G. D., & White, N. M. (1983). Conditioned place preference from intraaccumbens but not intra-caudate amphetamine injections. *Life Sciences*, 33, 2551-2557.
- Chapouthier, G. (2004). From the search for a molecular code of memory to the role of neurotransmitters: a historical perspective. *Neural Plasticity*, 11, 151-158.
- Corrigall, W. A., Coen, K. M., Adamson, K. L., Chow, B. L., & Zhang, J. (2000). Response of nicotine self-administration in the rat to manipulations of mu-opioid and gamma-aminobutyric acid receptors in the ventral tegmental area. *Psychopharmacology*, 149, 107-114.
- De Fonseca, F. R., Rubio, P., Martin-Calderon, J. L., Caine, S. B., Koob, G. F., & Navarro, M. (1995). The dopamine receptor agonist 7-OH-DPAT modulates the acquisition and expression of morphine - induced place preference. *European Journal of Pharmacology*, 274, 47-55.
- Enrico, P., Bouma, M., de Vries, J. B., Westerink, B.H. (1998). The role of afferents to the ventral tegmental area in the handling stress-induced increase in the release of dopamine in the medial prefrontal cortex: a dual-probe microdialysis study in the rat brain. *Brain Research*, 779, 205-213.
- Farr, S. A., Flood, J. F., & Morley, J. E. (2000). The effect of cholinergic, GABAergic, serotonergic, and glutamatergic receptor modulation on posttrial memory processing in the hippocampus. *Neurobiology of learning and memory*, 73, 150-167.
- Ferbinteanu, J., & McDonald, R. J. (2001). Dorsal/ventral hippocampus, fornix, an conditioned place preference. *Hippocampus*, 11, 187-200.
- Floresco, S. B., Blaha, C. D., Yang, C. R., & Phillips, A. G. (2001). Modulation of hippocampal and amygdala-evoked activity of nucleus accumbens neurons by dopamine: cellular mechanisms of input selection. *The Journal of neuroscience*, 21, 2851-2860.
- Gong, W., Neill, D. B., Justice, J. B., Jr. (1998). GABAergic modulation of ventral pallidal dopamine release studied by in vivo microdialysis in the freely moving rat. *Synapse*, 29, 406-412.
- Hoffman, D. C. (1989). The use of place conditioning in studying the neuropharmacology of drug reinforcement. *Brain Research*, 23, 373-387.
- Izquierdo, I., & Medina, J. H., (1991). GABA_A receptor modulation of memory: the role of endogenous benzodiazepines. *Trends in Pharmacological Sciences*, 12, 260-265.
- Kalivas, P. W., Duffy, P., & Eberhardt, H. (1990). Modulation of A10 dopamine neurons by gamma-aminobutyric acid agonists. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 25, 858-866.
- Kalivas, P. W., Churchill, L., & Klitenick, M. A. (1993). GABA and enkephalin projection from the nucleus accumbens and ventral pallidum to the ventral tegmental area. *Neuroscience*, 57, 1047-1060.
- Karami, M., Zarrindast, M. R., Sepehri, H., & Sahraei, H. (2002). Role of nitric oxide in the rat hippocampal CA1 area on morphine-induced conditioned place preference. *European Journal of Pharmacology*, 449, 113-119.
- Kelley, A. E., & Berridge, K. C. (2002). The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *Journal of Neuroscience*, 22, 3306-3311.
- Kivastik, T., Vuorikallas, K., Piepponen, T. P., Zharkovsky, A., & Ahtee, L. (1996). Morphine - and cocaine - induced conditioned place preference: effects of quinpirole and preclamol. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 54, 371-375.
- Koob, G. F. (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathway. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13, 177-184.
- Laviolette, S. R., & van der Kooy, D. (2001). GABA (A) receptors in the ventral tegmental area control bidirectional reward signalling between dopaminergic and non-dopaminergic neural motivational systems. *European Journal of Neuroscience*, 13, 1009-1015.
- Leshner, A. I. (1997). Addiction is a brain disease, and it matters. *Science*, 278, 45-47.
- Luft, T., Pereira, G. S., Cammarota, M., & Izquierdo, I. (2004). Different time course for the memory facilitating effect of bicuculline in hippocampus, entorhinal cortex, and posterior parietal cortex of rats. *Neurobiology of learning and memory*, 82, 5652-5656.
- Lu, L., Zeng, S., Liu, D., & Ceng, X. (2000). Inhibition of the amygdala and hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II attenuates the dependent protein kinase II attenuates the dependence and relapse to morphine differently in rats. *Neuroscience letters*, 291, 191-195.
- Malcolm, R. J. (2003). GABA systems, benzodiazepines, and substance dependence. *Journal of Clinical Psychiatry*, 3, 36-40.
- Maldonado, R., Saiardi, A., Valverde, O., Samad, T. A., Roques B. P., & Borrelli, E. (1997). Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D2 receptors. *Nature*, 388, 586-589.
- Mattes, C., Bradley, R., Salughter, E., & Browne, S. (1996). Cocaine and butyrylcholinesterase (BChE): determination of enzymatic parameters. *Life Sciences*, 58, 257-261.
- McBride, W. J., Murphy, J. M., & Ikemoto, S. (1999). Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behavioural Brain Research*, 101, 129-152.
- Muir, J. L., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (1992). Disruptive effects of muscimol infused into the basal forebrain on conditional discrimination and visual attention: differential interactions with cholinergic mechanisms. *Psychopharmacology*, 107, 541-550.



- Nagahara, A. H., & McGaugh, J. L. (1992). Muscimol infused into the medial septal area imparis long-term memory but not short-term memory in inhibitory avoidance, water maze place learning and rewarded alternation tasks. *Brain Research*, *54*, 591-561.
- Narita, M., Aoki, T., Ozaki, S., Yajima, Y., & Suzuki, T. (2001). Involvement of protein kinase Cgamma isoform in morphine-induced reinforcing effects. *Neuroscience*, *103*, 309-314.
- Nestler, E. J., & Aghajanian, G. K. (1997). Molecular and cellular basis of addiction. *Science*, *278*, 58-63.
- Nestler, E. J. (2001). Neurobiology. Total recall – the memory of addiction. *Science*, *292*, 2266-2267.
- Panagis, G., & Kastellakis, A. (2002). The effects of ventral tegmental administration of GABA (A), NMDA and AMPA receptor agonists on ventral pallidum self-stimulation. *Behavioural Brain Research*, *131*, 115-123.
- Paulsen, O., & Moser, E. I. (1998). A model of hippocampal memory encoding and retrieval: GABAergic control of synaptic plasticity. *Trends in Neurosciences*, *21*, 273-278.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, Sydney.
- Piepponen, T. P., Kivastik, T., Katajamaki, J., Zharkovsky, A., & Ahtee, L. (1997). Involvement of opioid mu 1 receptors in morphine-induced conditioned place preference in rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, *58*, 275-279.
- Rezayof, A., Zarrindast, M. R., Sahraei, H., & Haeri-Rohani, A. (2002). Involvement of dopamine D2 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, *74*, 187-197.
- Rezayof, A., Zarrindast, M. R., Sahraei, H., & Haeri-Rohani, A. (2003). Involvement of dopamine receptors of the dorsal hippocampus on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rats. *Journal of Psychopharmacology*, *17*, 415-423.
- Salinas, J. A., & McGaugh, J. L. (1995). Muscimol induces retrograde amnesia for changes in reward magnitude. *Neurobiology of learning and memory*, *63*, 277-285.
- Salinas, J. A., & McGaugh, J. L. (1996). The amygdala modulates memory for changes in reward magnitude: involvement of the amygdaloid GABAergic system. *Behavioral Brain Research*, *80*, 87-98.
- Semba, K., & Fibiger, H. C. (1992). Afferent connections of the laterodorsal and the pedunclopontine tegmental nuclei in the rat: a retro- and antero-grade transport and immunohistochemical study. *The Journal of comparative neurology*, *323*, 387-410.
- Semyanov, A., & Kullmann, D. M. (2002). Relative picrotoxin insensitivity distinguishes ionotropic GABA receptor-mediated IPSCs in hippocampal interneurons. *Neuropharmacology*, *43*, 726-736.
- Shippenberg, T. S., Heidbreder, C., & Lefevour, A. (1996). Sensitization to the conditioned rewarding effects of morphine: pharmacology and temporal characteristics. *European Journal of Pharmacology*, *299*, 33-39.
- Steffensen, S. C., Svingos, A. L., Pickel, V. M., & Henriksen, S. J. (1998). Electrophysiological characterization of GABAergic neurons in the ventral tegmental area. *The Journal of neuroscience*, *18*, 8003-8015.
- Sugita, S., Johnson, S. W., & North, R. A. (1992). Synaptic inputs to GABAA and GABAB receptors originate from discrete afferent neurons. *Neuroscience letters*, *134*, 207-211.
- Suzuki, T., Tsuda, M., Funada, M., & Misawa, M. (1995). Blockade of morphine-induced place preference by diazepam in mice. *European Journal of Pharmacology*, *280*, 327-330.
- Ticku, M. K., & Huffman, R. D. (1980). The effects of acute and chronic morphine administration on GABA receptor binding. *European Journal of Pharmacology*, *68*, 97-106.
- Van Bockstaele, E. J., & Pickel, V. M. (1995). GABA-containing neurons in the ventral tegmental area project to the nucleus accumbens in rat brain. *Brain Research*, *68*, 215-221.
- Vertes, R. P., & Kocsis, B. (1997). Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience*, *81*, 893-926.
- Vorel, S. R., Liu, X., Hayes, R. J., Spector, J. A., & Gardner, E. L. (2001). Relapse to cocaine-seeking after hippocampal theta burst stimulation. *Science*, *292*, 1175-1178.
- Westerink, B. H., Enrico, P., Feimann, J., & De Vries, J. B. (1998). The pharmacology of mesocortical dopamine neurons: a dual – probenecid study in the ventral tegmental area and prefrontal cortex of the rat brain. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, *285*, 143-154.
- White, N. M. (1996). Addictive drugs as reinforcers: multiple partial actions on memory systems. *Addiction*, *91*, 921-949.
- Xi, Z. X., & Stein, E. A. (2002). GABAergic mechanisms of opiate reinforcement. *Alcohol Alcohol*, *37*, 484-494.
- Yan, Q. (1999). Focal bicuculline increases extracellular dopamine concentration in the nucleus accumbens of freely moving rats as measured by in vivo microdialysis. *European Journal of Pharmacology*, *385*, 7-13.
- Zarrindast, M. R., Rezayof, A., Sahraei, H., Haeri-Rohani, A., Rassouli, Y. (2003). Involvement of dopamine D1 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat. *Brain Research*, *965*, 212-221.

