

مقاله پژوهشی اصیل**نقش سیستم گلوتاماترژیک آمیگدال مرکزی در اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی****دکتر آمنه رضایوف^۱**

دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

فریده گلحسینی کشتان

دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

فرزانه نظری سرنجه

دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

دکتر علی حائری روحانی

دانشکده علوم دانشگاه تهران، گروه علوم جانوری

هدف: در این پژوهش اثرات تزریق دوطرفه آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های NMDA - متیل - D - آسپاراتات (NMDA) گلوتامات به ناحیه آمیگدال مرکزی بر اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین بررسی شد. **روش:** آزمایش‌ها روی موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۸۰-۲۴۰ گرم انجام شد. کانول‌گذاری حیوان‌ها در ناحیه آمیگدال مرکزی دوطرفه و با استفاده از دستگاه استریوتاکیس انجام گردید. کلیه حیوان‌های جراحی شده یک هفته دوره بهبود را قبل از القای شرطی‌سازی گذراندند. ترجیح مکان شرطی شده (CPP) به روش غیرطرفدار و به صورت یک برنامه پنج روزه در سه مرحله پیش‌شرطی‌سازی یا آشنایی، شرطی‌سازی و آزمون اجرا شد. **یافته‌ها:** حیوان‌هایی که طی یک برنامه شرطی‌سازی سه روزه، مقادیر مختلف سولفات مورفین دریافت کرده بودند، به شکل معنی‌داری نسبت به مکان دریافت مورفین، CPP وابسته به مقدار نشان دادند. تزریق مقادیر مختلف NMDA به آمیگدال مرکزی همراه با یک دوز بی‌اثر مورفین اکتساب CPP را افزایش داد. تزریق MK-۸۰۱ (آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده NMDA) هم ترجیح مکان القاشده به وسیله دوز بالای مورفین و هم پاسخ تقویتی القاشده به وسیله NMDA را مهار کرد. تزریق NMDA قبل از آزمون به آمیگدال مرکزی، ترجیح مکان القایی مورفین (۶ mg/kg) را به صورت معنی‌دار افزایش داد، درحالی که MK-۸۰۱ چنین اثری نداشت. تزریق NMDA یا MK-۸۰۱ به آمیگدال مرکزی به تنهایی ترجیح یا تنفر مکانی معنی‌داری را القا نکرد. **نتیجه‌گیری:** سیستم گلوتاماترژیک ناحیه آمیگدال مرکزی از طریق گیرنده‌های NMDA در اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی شده مورفین نقش مهمی ایفا می‌کند.

کلیدواژه‌ها: مورفین، ترجیح مکان شرطی شده، آمیگدال مرکزی، NMDA، MK-۸۰۱، موش بزرگ آزمایشگاهی

مقدمه

مشقتات تریاک اثرات پاداشی خود را در سطح سیستم دوپامینی مزولیمبیک که از ناحیه تگمنتوم شکمی^۲ (VTA) منشأ می‌گیرد و به هسته اکومبسنس^۳ وارد می‌شود اعمال می‌کنند

(مک‌براید^۴، مورفی^۵ و ایکیموتو^۶، ۱۹۹۹). شواهد متعدد نشان می‌دهند که فعال‌شدن نورون‌های دوپامینی VTA از طریق حذف اثر مهاری اینترنورون‌های گابائترژیک باعث افزایش انتقال دوپامین به هسته اکومبسنس و به دنبال آن القای اثر پاداشی مورفین می‌شود

2- ventral tegmental area
4- Mc Bride
6- Ikemoto

3- nucleus accumbens
5- Murphy

۱- نشانی تماس: تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست‌شناسی
Email: rezayof@khayam.ut.ac.i

نی‌شی‌جو^{۱۷} و یوانو^{۱۸} (۱۹۹۵) که نقش خود را در فرآیندهای وابسته به پاداش از طریق هسته اکومبسن اعمال می‌کند (زاهم^{۱۹}، جنسن^{۲۰}، ویلیامز^{۲۱} و مارتین^{۲۲}، ۱۹۹۹). با توجه به نقش ناقلین عصبی گلو تامات و دوپامین در اثرات پاداشی مشتقات تریاک (ریبریودوکوتو و همکاران، ۲۰۰۵، ۲۰۰۴) و همچنین دخالت گیرنده‌های NMDA در یادگیری و حافظه و نیز اهمیت آمیگدال در یادگیری وابسته به پاداش (لو^{۲۳}، زنگ^{۲۴}، لیو^{۲۵} و سنگ^{۲۶}، ۲۰۰۰)، چنین فرض می‌شود که برهم‌کنش دو سیستم گلو تاماترژیک و اپیوئیدرژیک در این ناحیه بتواند پاسخ مورفین را در القای اثرات پاداشی تغییر دهد. لذا در مطالعه حاضر اثرات تزریق آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های NMDA به ناحیه آمیگدال مرکزی در اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین بررسی شد.

روش

آزمایش‌ها روی موش بزرگ آزمایشگاهی^{۲۷} نر نژاد وینستار^{۲۸} که در شروع جراحی، میانگین وزن آنها بین ۲۴۰ تا ۲۸۰ گرم بود صورت گرفت. حیوان‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه و به صورت گروه‌های چهارتایی، تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی با دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آسان به آب و غذا نگهداری شدند و برای آنکه به محیط عادت کنند، حداقل یک هفته زودتر از شروع آزمایش به آزمایشگاه منتقل و پنج روز و هر روز یک‌بار نوازش شدند. در هر گروه تجربی هشت حیوان وجود داشت و هر حیوان فقط یک‌بار آزمایش شد. آزمایش‌ها بین ساعت هشت صبح و پنج بعد از ظهر انجام شد. مواد مورد استفاده در آزمایش عبارت بودند از: سولفات مورفین، کتامین هیدروکلراید،

(اولمستید^۱ و فرانکلین^۲، ۱۹۹۷؛ مانزانو^۳، آگویلار^۴، رودری گوئز-آریاس^۵ و مینارو^۶، ۲۰۰۱). از روش ترجیح مکان شرطی شده^۷ (CPP) برای ارزیابی اثرات پاداشی مشتقات تریاک استفاده می‌شود (مک‌براید و همکاران، ۱۹۹۹؛ مانزانو و همکاران ۲۰۰۱). CPP بر این اصل استوار است که محرک‌های زمینه‌ای قادرند از طریق جفت‌شدن با داروهای اعتیادآور خواص پاداشی شرطی شده را به دست آورند (ریبریودوکوتو^۸، آگویلار، مانزانو، رودری گوئز-آریاس و مینارو، ۲۰۰۵). بررسی‌های قبلی ما نشان می‌دهد که مسیر دوپامینی مزولیمبیک تنها مسیر مسؤول القای ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین نمی‌باشد و سایر ناقلین عصبی نیز در شروع و تداوم اعتیاد به مشتقات تریاک نقش مهمی ایفا می‌کنند (زرین‌دست، فتاحی، رستمی و رضایوف، ۲۰۰۵؛ زرین‌دست، مقیمی، رستمی و رضایوف، ۲۰۰۶؛ رضایوف، ذات‌علی، زرین‌دست و حائری‌روحانی، ۲۰۰۶؛ رضایوف، رضوی، زرین‌دست، رسولی و حائری‌روحانی، ۲۰۰۶). مطالعات بسیاری نشان داده است که بین دو سیستم گلو تاماترژیک و دوپامینرژیک در ناحیه تگمنتوم شکمی و هسته اکومبسن برهم‌کنش وجود دارد (کونوسبریان^۹، ۲۰۰۳) که به نظر می‌رسد در تنظیم عملکرد سیستم دوپامینی مزولیمبیک و القای اثر پاداشی مشتقات تریاک نقش داشته باشد. ریبریودوکوتو، مانزانو، آگویلار، رودری گوئز-آریاس و مینارو (۲۰۰۴) بیان کردند که سیستم گلو تاماترژیک قادر به القای خواص پاداشی مورفین در روش شرطی‌سازی مکانی می‌باشد و علاوه بر این گیرنده‌های NMDA در جنبه‌های مختلف اعتیاد به مشتقات تریاک نیز نقش دارند.

همچنین نتایج حاصل از مطالعات قبلی بیانگر آن است که گیرنده‌های NMDA در ایجاد اثرات شبه‌تحریکی شرطی شده (دروهان^{۱۰} و وایلنت^{۱۱}، ۱۹۹۹) و وابستگی دارویی (وتولانی^{۱۲}، ۲۰۰۱، لوی^{۱۳} و بورن^{۱۴}، ۲۰۰۲) دخالت دارند.

تحقیقات نشان می‌دهند که آمیگدال در بسیاری از جنبه‌های اعتیاد به داروهای که مورد سوءاستفاده قرار می‌گیرند نقش برجسته‌ای دارد (گوساکوف^{۱۵} و همکاران، ۲۰۰۶). آمیگدال مرکزی بزرگترین جزء مجموعه آمیگدال است (اونو^{۱۶}،

1- Olmstead	2- Franklin
3- Manzanedo	4- Aguilar
5 - Rodriguez-arias	6 -Mınarro
7 - conditioned place preference	8- Ribério Do Couto
9 - Cono-Cebrian	10- Druhan
11- Wilent	12- Vetulani
13 - Levi	14- Borne
15 - Goussakov	16- Ono
17 - Nishijo	18- Uwano
19 - Zahm	20- Jensen
21 - Williams	22- Martin
23 - Lu	24- Zeng
25- Liu	26- Ceng
27- rat	28 - Winstar

زایلزین، NMDA به عنوان آگونیست گیرنده NMDA و MK-801 به عنوان آنتاگونیست گیرنده NMDA. کلیه داروها قبل از تزریق در سالیان ۰/۹ درصد حل شد.

به منظور جراحی و کانول گذاری، ابتدا حیوان وزن شد و سپس با تزریق درون صفاقی مخلوط کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) و زایلزین (۴ mg/kg) بیهوش گردید. آن گاه حیوانها با استفاده از دستگاه استریوتاکس و مختصات ناحیه آمیگدال مرکزی بر اساس اطلس [برگما ۲/۲mm - قدامی - خلفی (AP)، از خط وسط mm ۴/۳ ± = میانی - جانبی (ML) و از سطح جمجمه mm ۷/۸ - خلفی - شکمی (DV)]، در ناحیه آمیگدال مرکزی کانول گذاری شدند. کلیه حیوانهای جراحی شده قبل از CPP یک هفته دوره بهبود را گذراندند. دستگاه ترجیح مکان شرطی شده (CPP) سه قسمتی و از جنس چوب و بر اساس طرح کار^۱ و وایت^۲ (۱۹۸۳) ساخته شده بود. روش ترجیح مکان شرطی شده بر اساس طرح غیرطرفدار و بر پایه روش دفونسکا^۳ و همکاران (۱۹۹۵) بود. این روش شامل یک برنامه پنج روزه با سه مرحله مشخص پیش از شرطی سازی، شرطی سازی و آزمون می باشد (رضایوف و همکاران، ۲۰۰۶ الف).

به آمیگدال مرکزی، بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین به صورت زیر بررسی شد. حیوانها طی یک برنامه شرطی سازی سه روزه به صورت زیرجلدی مورفین یا سالیان دریافت کردند. مقادیر مختلف NMDA (۰/۱، ۰/۱ و ۱ μg/rat) یا MK-801 (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ μg/rat) نیز به مدت سه روز و هر روز یک بار و پنج دقیقه قبل از تزریق مورفین به آمیگدال مرکزی تزریق شد. در روز آزمون بدون هیچ گونه تزریقی، نمره های شرطی شدن اندازه گیری و فعالیت حرکتی ارزیابی شد. توانایی القای CPP به وسیله داروها نیز ارزیابی گردید. بدین منظور کلیه داروها به میزان اعلام شده در بالا، در طی مرحله شرطی سازی به تنهایی و بدون حضور مورفین به آمیگدال مرکزی تزریق شد. حیوانهایی که تحت این برنامه شرطی سازی قرار گرفته بودند، بدون هیچ گونه تزریقی وارد مرحله آزمون شدند و فعالیت حرکتی آنها نیز مورد سنجش قرار گرفت. در یک آزمایش دیگر مقادیر مختلف MK-801 (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ μg/rat) پنج دقیقه قبل از تزریق MNDA (۱ μg/rat) به آمیگدال مرکزی تزریق شد و به این ترتیب اثر مهارتی احتمالی MK-801 بر پاسخ القایی NMDA بررسی و فعالیت حرکتی حیوانها ارزیابی گردید.

مراحل آزمایش

آزمایش اول: ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین

در این آزمایش منحنی مقدار - پاسخ برای شرطی سازی مکانی با مورفین به دست آمد. چهار گروه از حیوانها به تناوب مقادیر مختلف مورفین (۱، ۳، ۶ و ۹ mg/kg) و سالیان (۱ mg/kg) را به صورت زیرجلدی دریافت کردند. یک گروه نیز به منظور نشان دادن اینکه تزریقات و شرطی سازی تحت تأثیر زمان قرار نگرفته است، در طی مرحله شرطی سازی فقط سالیان زیرجلدی دریافت کرد و به عنوان گروه کنترل منظور گردید. فعالیت حرکتی همه گروهها نیز در مرحله آزمون مورد سنجش قرار گرفت.

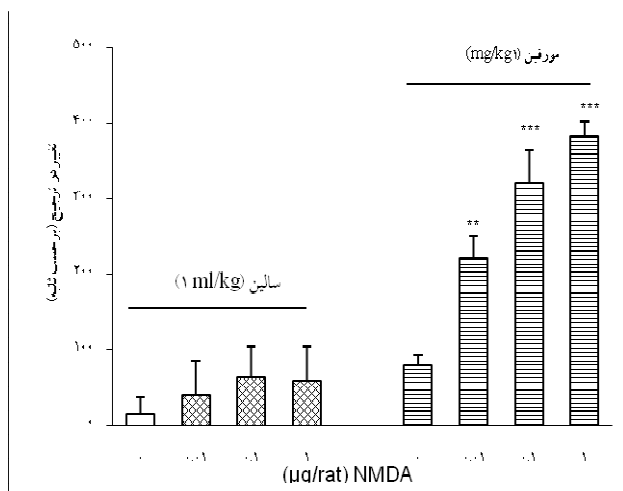
آزمایش دوم: اثرات NMDA یا MK-801 همراه مورفین یا بدون آن، بر اکتساب CPP

اثرات تزریق مقادیر مختلف NMDA (آگونیست گیرنده NMDA) یا MK-801 (آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده NMDA)

آزمایش سوم: اثرات NMDA یا MK-801 بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین

هفت گروه از حیوانها تحت روش تجربی شرطی سازی مکانی با مقدار بالای مورفین (۶ mg/kg) قرار گرفتند. در روز پنجم پنج دقیقه قبل از آزمون، به شش گروه از حیوانها مقادیر مختلف NMDA یا MK-801 و به گروه هفتم سالیان (۱ μl/rat) به صورت درون آمیگدالی تزریق شد و فعالیت حرکتی همه آنها در طی آزمون بررسی گردید.

داده ها بر اساس میانگین و خطای معیار میانگین ثبت و با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه و دوطرفه و بر اساس امتیاز حاصل از اختلاف بین زمان سپری شده در ناحیه دریافت دارو در روزهای پیش از شرطی سازی و پس از شرطی سازی به عنوان عامل وابستگی تجزیه و تحلیل آماری شد. به دنبال آن از پس آزمون توکی



شکل ۲- اثرات تزریق دوطرفه NMDA به آمیگدال مرکزی به تنهایی و همراه با مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده. داده‌ها بر اساس میانگین \pm خطای معیار در هر گروه (مشکل از هشت حیوان) بیان شده است. * $p < 0.05$ و *** $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل سالی/مورفین

به علاوه ANOVA یک طرفه نشان داد که پایین ترین مقدار مورفین (1 mg/kg) و NMDA (0.1، 0.1، 1 و 10 µg/rat) به تنهایی ترجیح مکانی معنی داری را القا نمی کنند. همچنین NMDA به صورت وابسته به مقدار، ترجیح مکانی دوز پایین مورفین (1 mg/kg) را تقویت می کرد [F(3 و 28)=20/4، $p < 0.001$].

آزمایش سوم: اثر MK-801 همراه یا بدون مورفین بر اکتساب CPP

شکل ۳ اثرات تزریق دوطرفه مقادیر مختلف MK-801 (0.1، 0.3، 0.5 و 1 mg/kg) به آمیگدال مرکزی را در غیاب یا حضور مورفین (6 mg/kg) بر اکتساب CPP نشان می دهد. واریانس دوطرفه تداخل مورفین و MK-801 را در اکتساب CPP نشان داد (مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار [F(1 و 56)=38/3، $p < 0.0001$]; اثر مقدار [F(3 و 56)=3/4، $p < 0.05$]). تداخل [F(3 و 56)=3/4، $p < 0.05$]. به علاوه تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق مقادیر مختلف MK-801 (0.1، 0.3، 0.5 و 1 µg/rat) به آمیگدال مرکزی، به تنهایی قادر به القای ترجیح یا تنفر مکانی شرطی شده نمی باشد. به علاوه واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق MK-801 ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مقدار بالای مورفین را به صورت وابسته به مقدار مهار می کند [F(3 و 28)=6/1، $p < 0.001$].

استفاده و $p < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. برای محاسبات آماری از نرم افزار SPSS استفاده شد.

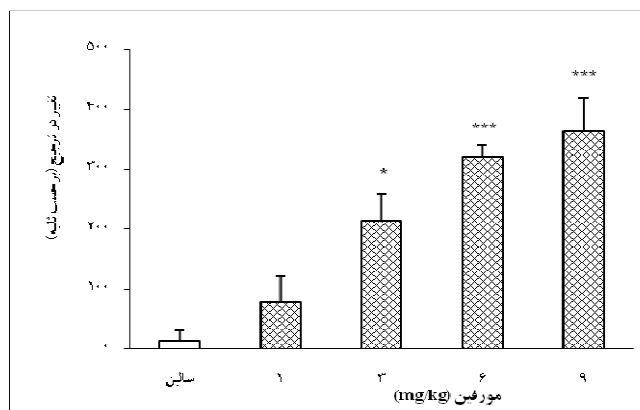
یافته‌ها

آزمایش اول: منحنی مقدار- پاسخ برای CPP مورفین

شکل ۱ نتایج حاصل از CPP مورفین را نشان می دهد. تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که تزریق زیرجلدی مقادیر مختلف مورفین (1-9 mg/kg) سبب ترجیح معنی دار وابسته به دوز می شود [F(4 و 35)=12/9، $p < 0.0001$]. مقادیر 3، 6 و 9 mg/kg مورفین، CPP معنی داری به دست داد.

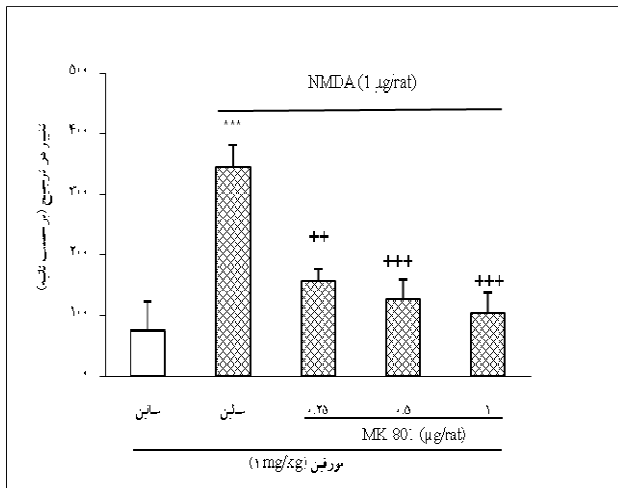
آزمایش دوم: اثر NMDA همراه یا بدون مورفین بر اکتساب CPP

شکل ۲ تأثیر تزریق دوطرفه مقادیر مختلف NMDA (0.1، 0.1 و 1 µg/rat) یا سالی را به ناحیه آمیگدال مرکزی در غیاب یا حضور مورفین (1 mg/kg) بر اکتساب CPP نشان می دهد. ANOVA دوطرفه نشان داد که بین مورفین و NMDA در اکتساب ترجیح مکانی برهم کنش وجود دارد (مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار [F(1 و 56)=46/1، $p < 0.001$]; اثر مقدار [F(3 و 56)=3/3، $p < 0.05$]; تداخل تیمار \times مقدار [F(3 و 48)=6/4، $p < 0.05$]).

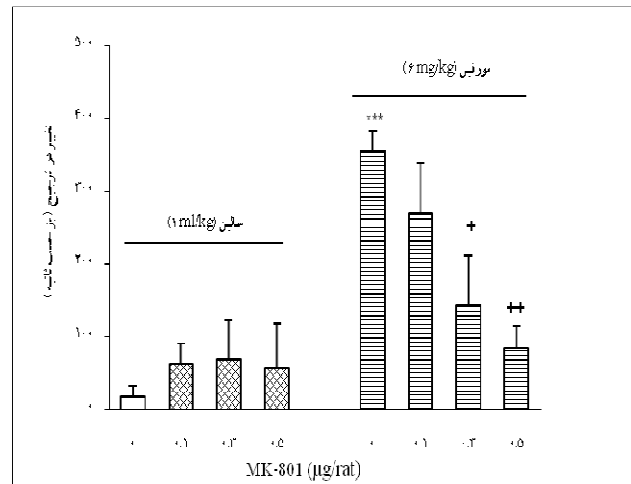


شکل ۱- ترجیح مکانی ایجاد شده به وسیله مورفین. تغییر در ترجیح^۱ بر اساس تفاضل زمان سپری شده در ناحیه دریافت دارو، در روز آزمون و روز پیش از شرطی سازی بر حسب ثانیه محاسبه شد. داده‌ها بر اساس میانگین \pm خطای معیار در هر گروه (مشکل از هشت حیوان) بیان شده است. * $p < 0.05$ و *** $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل سالی.

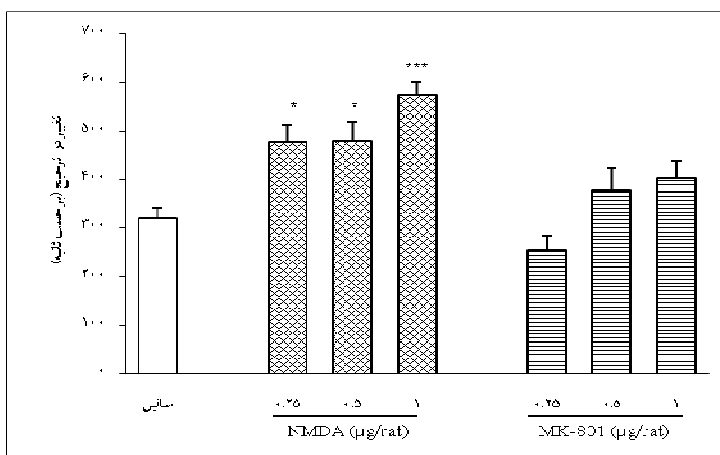
1- change of preference



شکل ۴- اثرات تزریق دوطرفه NMDA (1 μg/rat) قبل از تزریق MK-801 به آمیگدال مرکزی، در حضور مورفین (1 mg/kg) بر اکتساب CPP. داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار در هر گروه متشکل از هشت حیوان بیان شده است. *** $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل سالی/سالی/مورفین ++، + و $p < 0.01$ و $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل سالی/نMDA/مورفین



شکل ۳- اثرات تزریق دوطرفه MK-801 به آمیگدال مرکزی به تنهایی و همراه با مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده. داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار در هر گروه متشکل از هشت حیوان بیان شده است. *** $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل سالی/سالی/مورفین +، + و $p < 0.05$ و $p < 0.01$ در مقایسه با گروه سالی/مورفین



شکل ۵- اثرات تزریق دوطرفه NMDA یا MK-801 به آمیگدال مرکزی بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین. داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار در هر گروه متشکل از هشت حیوان ارائه شده است. *** $p < 0.001$ و * $p < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل سالی/مورفین

بحث

تزریق سیستمیک مورفین به صورت وابسته به مقدار سبب القای ترجیح مکان شرطی شده می‌شود. این نتایج از یافته‌های مطالعات قبلی مبنی بر این که اثرات پاداشی مورفین می‌تواند به محرک‌های

آزمایش چهارم: اثر MK-801 بر پاسخ NMDA در طی شرطی‌سازی مورفین

شکل ۴ اثرات تزریق دوطرفه MK-801 به ناحیه آمیگدال مرکزی را بر پاسخ القایی NMDA در ترکیب با مورفین (1 mg/kg) نشان می‌دهد. تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تزریق مقادیر مختلف MK-801 به آمیگدال مرکزی پاسخ تقویتی ناشی از تزریق درون‌آمیگدالی NMDA را در ترکیب با مورفین تغییر می‌دهد [$F(3, 28) = 13.8, p < 0.0001$]. آنالیز تکمیلی نشان داد که MK-801 اثر NMDA بر پاسخ مورفین را معکوس می‌کند.

آزمایش پنجم: اثر NMDA یا MK-801 بر بیان CPP

شکل ۵ اثرات تزریق دوطرفه داخل آمیگدالی مقادیر مختلف NMDA (0.25، 0.5، 1 μg/rat) یا مقادیر مختلف MK-801 (0.25، 0.5، 1 μg/rat) بر بیان CPP نشان می‌دهد. تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تیمار با NMDA، بیان CPP مورفین (6 mg/kg) را افزایش می‌دهد، در حالی که MK-801 چنین اثری را نشان نداد [$F(6, 49) = 3.7, p < 0.01$]. آنالیز تکمیلی نشان داد که تزریق مقادیر مختلف NMDA می‌تواند پاسخ مورفین را تحت تأثیر قرار دهد.

دارند. نتایج این تحقیق از پیشنهاد های قبلی مبنی بر اینکه برای تغییرات نورونی متضمن شرطی سازی، تحریک گیرنده های NMDA ضروری می باشد، حمایت می کند (دروهان و وایلنت، ۱۹۹۹). نشان داده شده است که گیرنده های NMDA در CPP ناشی از کوکائین (سروو^{۱۳} و سامانین^{۱۴}، ۱۹۹۵) و سیستم گلو تاما ترژیک در ترجیح مکان القایی بنزودیاپین ها نقش دارد (گری^{۱۵}، آلیسون^{۱۶} و پرات^{۱۷}، ۱۹۹۹). هسو^{۱۸}، شرودر^{۱۹} و پاکارد^{۲۰} (۲۰۰۲) پیشنهاد کردند که رفتار ترجیح مکان القایی داروها برای ایجاد ارتباط بین علائم محیطی و حالات مؤثر ناشی از تیمار به حافظه نیاز دارد و آمیگدال چنین حافظه ای را تثبیت می کند. با توجه به این که CPP یک الگوی یادگیری است و گیرنده های NMDA در یادگیری نقش دارند، به نظر می رسد که تزریق ترکیبی NMDA و مورفین سبب افزایش یادگیری می شود. دخالت گسترده گیرنده های NMDA در تنظیم پلاستیسته عصبی (دانیس^{۲۱}، زاجاچکوسکی^{۲۲} و پارسونز^{۲۳}، ۱۹۹۵) می تواند نقش بی نظیر آنها را در فرآیند یادگیری که در حالت اعتیاد رخ می دهد توضیح دهد (بی ساگا^{۲۴} و پوپیک^{۲۵}، ۲۰۰۰). شواهد زیادی وجود دارد که نشان می دهد در سازش هایی که منجر به اعتیاد می شوند مکانیسم های سلولی وابسته به گلو تامات، مشابه آنچه در یادگیری و حافظه رخ می دهد، دخالت دارند (ولف^{۲۶}، سان^{۲۷}، مانجیاواکی^{۲۸} و چائو^{۲۹}، ۲۰۰۴). بررسی های ما همچنین نشان می دهد که MK-۸۰۱ به صورت وابسته به مقدار CPP مورفین را مهار می کند. نتایج مطالعات قبلی نشان می دهد که اثر MK-۸۰۱ بر پاسخ های القایی مورفین مخالف با اثر NMDA می باشد. مطالعات رفتاری نیز شواهد محکمی در تأیید اثرات مهار MK-۸۰۱ بر CPP ناشی از مورفین، کوکائین، مت آمفتامین و آمفتامین ارائه کرده اند (یان گوی^{۳۰}،

محیطی شرطی شود، حمایت و آنها را تأیید می کند (شیپنبرگ^۱، هیدبردر^۲ و لفوور^۳، ۱۹۹۶). مشتقات تریاک قادرند گیرنده های مو (μ) ناحیه تکمتموم شکمی و در نتیجه سیستم دوپامینی مزو کورتیکولیمبیک را که وارد هسته اکومبیس می شوند، تحریک و از این طریق اثرات پاداشی خود را اعمال کنند (اولمستید و فرانکلین، ۱۹۹۷). بررسی های متعدد دخالت گیرنده های NMDA را در اثرات مربوط به مشتقات تریاک مثل ضد درد بودن، تحمل و وابستگی نشان داده است (مائو^۱، ۱۹۹۹). از طرفی مطالعات توانایی این گیرنده ها را در تحریک شلیک عصبی نورون های دوپامینی تأیید کرده است که نشان دهنده دخالت آنها در پاداش می باشد (جانسون^۲، سوتین^۳ و نورث^۴، ۱۹۹۲). بین شلیک عصبی، انگیزش و برانگیختگی رفتاری ارتباط وجود دارد (پانوس^۵، رادماکر^۶، رنر^۷ و استینپرز^۸، ۱۹۹۹)، لذا در مطالعه حاضر اثرات تزریق دوطرفه آگونست ها و آنتاگونست های گیرنده های NMDA به آمیگدال مرکزی بر اکتساب و بیان CPP ناشی از مورفین بررسی شد. در بخش نخست این تحقیق، اثرات تزریق دوطرفه عوامل محرک و مهار کننده گیرنده های NMDA گلو تامات به آمیگدال مرکزی بر اکتساب CPP بررسی شد. پانوس و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند که تزریق سیستمیک NMDA یا MK-۸۰۱ باعث تولید CPP می شود. آنها مطرح کردند که فعال شدن گیرنده های NMDA احتمالاً در فرآیند پاداش نقش دارد. NMDA انتقال دوپامین را هم در سیستم دوپامینی مزولیمبیک و هم در سیستم دوپامینی مزو کورتیکال افزایش می دهد (کالیواس^۹، ۱۹۹۳).

اگرچه آمیگدال مرکزی از نظر آناتومی به هسته اکومبیس که نقش مهمی در تقویت دارد (سالامون^۱، کوسینز^{۱۱} و اسنیدر^{۱۲}، ۱۹۹۷) مرتبط است، اما نتایج ما نشان داد که صرف تزریق دوطرفه NMDA به آمیگدال مرکزی هنگام شرطی سازی، ترجیح مکانی معنی داری را القا نمی کند، اما در ترکیب با یک دوز بی اثر مورفین، سبب افزایش پاسخ مورفین و در نتیجه تولید CPP می شود. با توجه به نتایج فوق می توان چنین استنباط کرد که گیرنده های NMDA گلو تاما ترژیک ناحیه آمیگدال مرکزی در پاداش مورفین نقش

1- Mao	2- Johnson
3- Seutin	4- North
5- Panos	6- Rademacher
7- Renner	8- Steinpreis
9- Kalivas	10- Salamone
11- Cousins	12- Snyder
13- Cervo	14- Samanin
15- Gray	16- Allison
17- Pratt	18- Hsu
19- Schroeder	20- Packard
21- Danysz	22- Zajackowski
23- Parsons	24- Bisaga
25- Popik	26- Wolf
27- Sun	28- Mangiavacchi
29- Chao	30- Yonghui

¹ - Shippenberg

² - Heidberder

³ - Lefevour

NMDA به آمیگدال مرکزی بیان CPP مورفین (6 mg/kg) را افزایش می‌دهد، در حالی که در مورد تزریق MK-801 چنین نتیجه‌ای حاصل نشد، زیرا بیان CPP در روز آزمون بدون دارو، نیاز به یادگیری و حافظه دارد (وایت و کار، ۱۹۸۹) و NMDA حافظه را تسهیل می‌کند. بنابراین ممکن است تزریق آمیگدالی NMDA قبل از مرحله آزمون سبب افزایش یادگیری و در حقیقت باعث بروز CPP تقویت شده گردد. این حقیقت که MK-801 اکتساب CPP مورفین را مهار می‌کند اما بر بیان آن اثری ندارد، مشابه نتایج مطالعات سروو و سامانین (۱۹۹۵) می‌باشد. آنها بیان کردند که MK-801 اکتساب CPP مورفین را مهار می‌کند، اما هیچ‌گونه تأثیری بر بیان آن ندارد. تحقیقات نشان می‌دهد که گیرنده‌های NMDA در اکتساب پدیده‌هایی مثل تحمل و حساسیت به اپیوئیدها یا داروهای محرک نقش دارد ولی در بیان آنها نقشی ندارد (تروچیلو و آکیل، ۱۹۹۱). مطالعه حاضر هم نشان داد که تزریق داروها (به میزانی که در این تحقیق از آنها استفاده شده است) به آمیگدال مرکزی در مقایسه با گروه کنترل قادر به تغییر فعالیت حرکتی در طی مرحله آزمون نمی‌باشد. لذا با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان چنین استنباط نمود که گیرنده‌های NMDA آمیگدال مرکزی در القای خواص پاداشی مورفین نقش مهمی دارند.

سپاسگزاری

از زحمات فراوان مسؤولین آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه تهران، خانم‌ها یاسمن رسولی و لادن دلفی سپاسگزاری می‌کنیم.

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۶/۲۱؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۵/۱۱/۲۶

1- Xigeng
3- Xiaoyan
5- Meli
7- Torres

2- Yunjing
4- Nas
6- See
8- Rivier

زیجنگ^۱، یان‌جینگ^۲، زیائویان^۳ و ناس^۴، ۲۰۰۶). بی‌ساگا و پوییک (۲۰۰۰) بیان کردند که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های NMDA اثر محرک‌های محیطی شرطی شده را در بروز اثر تقویتی داروها کاهش می‌دهند. به نظر می‌رسد که عملکرد گیرنده‌های NMDA ناحیه آمیگدال مرکزی برای ارتباط محرک پاداش در CPP مورفین ضروری باشد. نتایج ما نشان می‌دهد که احتمالاً ترکیب MK-801 و مورفین، وابستگی روانی را سرکوب می‌کند که با نتایج به دست آمده سایر محققان همخوانی دارد.

ملی^۵ و سی^۶ (۱۹۹۷) اثبات کردند آسیب آمیگدال، که خروجی‌های گلوتاماترژیک گسترده‌ای به سیستم لیمبیک دارد، از خودتزیقی کوکائین ممانعت می‌کند. از سویی نتایج نشان می‌دهند که آنتاگونیست NMDA، اثر تقویتی آنرا بر پاسخ مورفین نیز کاهش می‌دهد که این تأییدکننده اثر NMDA بر پاداش مورفین با دخالت گیرنده‌های NMDA می‌باشد. شواهد متعدد نشان می‌دهند که در بروز اثرات تقویتی داروهایی که مورد سوءاستفاده قرار می‌گیرند، بین گیرنده‌های دوپامینی D₁ و گیرنده‌های گلوتاماترژیک برهم‌کنش وجود دارد (سروو و سامانین، ۱۹۹۵). همخوان با مطالعات قبلی ما مبنی بر اثر تزریق SCH۲۳۳۹۰ (آنتاگونیست گیرنده دوپامینی D₁) به آمیگدال مرکزی (زرین‌دست، رضایوف، صحراپی، حائری روحانی و رسولی، ۲۰۰۲) تزریق MK-801 به این ناحیه نیز اکتساب CPP مورفین را مهار می‌کند. این نتایج مشابه نتایج مطالعات سروو و سامانین (۱۹۹۵) مبنی بر مهار اکتساب CPP بر اثر مهار گیرنده‌های NMDA گلوتامات و گیرنده‌های D₁ دوپامینی می‌باشد. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های D₁ (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۳) و NMDA (تورس^۷ و ریویر^۸، ۱۹۹۳) سبب مهار اثر القایی کوکائین بر c-fos در مغز موش بزرگ آزمایشگاهی می‌شوند. نتایج به دست آمده با MK-801 و SCH۲۳۳۹۰ نیز نشان می‌دهد که در اکتساب CPP مورفین (در این تحقیق) و کوکائین (سروو و سامانین، ۱۹۹۵) مکانیسم‌های عصبی متفاوتی دخالت دارند.

در بخش دوم این تحقیق اثرات تزریق NMDA یا MK-801 بر بیان CPP مورفین بررسی شد. نتایج نشان داد که تزریق دوطرفه

منابع

- Bisaga, A., & Popik, P. (2000). In search of a new pharmacological treatment for drug and alcohol: N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonists. *Drug and Alcohol Dependence*, 59, 1-15.
- Carr, G. D., & White, N. M. (1983). Conditioned place preference from intra-accumbens but not intra-caudate amphetamine injections. *Life Science*, 33, 2551-2557.
- Cervo, L., & Samanin, R. (1995). Effects of dopaminergic and glutamatergic receptor antagonists on the acquisition and expression of cocaine conditioning place preference. *Brain Research*, 673, 242-250.
- Danysz, W., Zajackowski, W., & Parsons, C. G. (1995). Modulation of learning processes by ionotropic glutamate receptor ligands. *Behavioural Pharmacology*, 6, 455-474.
- 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.
- Druhan, J. P., & Wilent, W. B. (1999). Effects of the competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, CPP, on the development and expression of conditioned hyperactivity and sensitization induced by cocaine. *Behavioral Brain Research*, 102, 195-210.
- Goussakov, I., Chartoff, E. H., Tsvetkov, E., Gerety, L. P., Meloni, E. G., Carlezon, W. A. Jr., & Bolshakov, V. Y. (2006). LTP in the lateral amygdala during cocaine withdrawal. *European Journal of Neuroscience*, 23, 239-250.
- Gray, A., Allison, C., & Pratt, J. A. (1999). A role for AMPA/kainate receptors in conditioned place preference induced by diazepam in the rat. *Neuroscience Letters*, 268, 127-130.
- Hsu, E. H., Schroeder, J. P., & Packard, M. G. (2002). The amygdala mediates memory consolidation for an amphetamine conditioned place preference. *Behavioral Brain Research*, 129, 93-100.
- Johnson, S. W., Seutin, V., & North, R. A. (1992). Burst firing in dopamine neurons induced by N-methyl-D-aspartate: Role of electrogenic sodium pump. *Science*, 258, 665-667.
- Kalivas, P. W. (1993). Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Brain Research Review*, 18, 75-113.
- Levi, M. S., & Borne, R. F. (2002). A review of chemical agents in the pharmacotherapy of addiction. *Current Medical Chemistry*, 20, 1807-1818.
- Lu, L., Zeng, S., Liu, D., & Ceng, X. (2000). Inhibition of the amygdala and hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II attenuates the dependence and relapse to morphine differently in rats. *Neuroscience Letters*, 291, 191-195.
- Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodriguez-arias, M., & Minarro, J. (2001). Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behavioral Brain Research*, 121, 189-197.
- Mao, J. (1999). NMDA and opioid receptors: Their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. *Brain Research Review*, 30, 289-304.
- McBride, W. J., Murphy, J. M., & Ikemoto, S. (1999). Localization of brain reinforcement mechanisms: Intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behavioral Brain Research*, 101, 129-152.
- Meli, W. M., & See, R. E. (1997). Lesions of the basolateral amygdala abolish the ability of drug associated cues to reinstate responding during withdrawal from self-administered cocaine. *Behavioral Brain Research*, 87, 139-148.
- Olmstead, M. C., & Franklin, B. J. (1997). The development of a conditioned place preference to morphine: Effects of microinjections into various CNS sites. *Behavioral Neuroscience*, 111, 1324-1334.
- Ono, T., Nishijo, H., & Uwano, T. (1995). Amygdala role in conditioned associative learning. *Progress in Neurobiology*, 46, 401-422.
- Panos, J. J., Rademacher, D. J., Renner, S. L., & Steinpreis, H. E. (1999). The rewarding properties of NMDA and MK-801 (Dizocilpine) as indexed by the conditioned place preference paradigm. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64, 591-595.
- Rezayof, A., Zatali, H., Haeri-Rohani, A., & Zarrindast, M. R. (2006a). Dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors are involved in mediating morphine reward. *Behavioral Brain Research*, 166, 281-290.
- Rezayof, A., Razavi S., Haeri-Rohani A., Rassouli Y., & Zarrindast, M. R. (2006b). GABA(A) receptors of hippocampal CA1 regions are involved in the acquisition and expression of morphine-induced place preference. *European Neuropsychopharmacology*, 17, 24-31.
- Riberio Do Couto, B., Aguilar, M. A., Manzanedo, C., Rodriguez-Arias, M., & Minarro, J. (2005). NMDA glutamate but not dopamine antagonists block drug-induced reinstatement

- of morphine place preference. *Brain Research Bulletin*, 64, 493-503.
- Riberio Do Couto, B., Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodriguez-Arias, M., & Minarro, J. (2004). Effects of NMDA receptor antagonists (MK-801 and memantine) on morphine-induced conditioned place preference in mice. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 28, 1035-1043.
- Salamone, J. D., Cousins, M. S., & Snyder, B. J. (1997). Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: Empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21, 341-359.
- Shippenberg, T. S., Heidberder, C. H., & Lefevour, A. (1996). Sensitization to the conditioning effect of morphine: Pharmacology and temporal characteristics. *European Journal of Pharmacology*, 299, 33-39.
- Torres, G., & Rivier, C. (1993). Cocaine-induced expression of striatal *c-fos* in the rat is inhibited by NMDA receptor antagonists. *Brain Research Bulletin*, 30, 173-176.
- Trujillo, K. A., & Akil, H. (1991). Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science*, 251, 85-87.
- Vetulani, J. (2001). Drug addiction. Part III. Pharmacotherapy of addiction. *Polish Journal of Pharmacology*, 53, 415-434.
- White, N. M., & Carr, G. D. (1985). The conditioned place preference is affected by two independent reinforcement processes. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 23, 37-42.
- Wise, R. A. (1996). Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annual Review Neuroscience*, 19, 319-340.
- Wolf, M. E., Sun, X., Mangiavacchi, S., & Chao, S. Z. (2004). Psychomotor stimulus and neuronal plasticity. *Neuropharmacology*, 47, 61-79.
- Yonghui, L., Xigeng, Z., Yunjing, B., Xiaoyan, Y., & Nas, S. (2006). Opposite effects of MK-801 on the expression of food and morphine-induced conditioned place preference in rats. *Journal of Psychopharmacology*, 20, 40-46.
- Zahm, D. S., Jensen, S. L., Williams, E. S., & Martin, J. R. (1999). Direct comparison of projections from the central amygdaloid region and nucleus accumbens shell. *European Journal of Neuroscience*, 11, 1119-1126.
- Zarrindast, M. R., Fattahi, Z., Rostami, P., & Rezayof, A. (2005). Role of the cholinergic system in the rat basolateral amygdala on morphine-induced conditioned place preference. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 82, 1-10.
- Zarrindast, M. R., Moghimi, M., Rostami, P., & Rezayof, A. (2006). Histaminergic receptors of medial septum and conditioned place preference: D1 dopamine receptor mechanism. *Brain Research*, 1109(1), 108-116.
- 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.