

اثر غیر فعال سازی ناحیه تگمنتوم شکمی بر میزان و الگوی فعالیت نورون‌های بخش پوسته هسته اکومبسنس و تأثیر آن بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین در موش صحرایی

عباس حق پرست* (Ph.D)، مهسا مؤدب (M.Sc)، محمد ابراهیم زاده (M.Sc)، مجتبی کرمانی (M.Sc)

دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه فیزیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: سیستم دوپامینرژیک مزولیمبیک که از ناحیه تگمنتوم شکمی به هسته اکومبسنس انشعابات و ابران می‌دهد، دارای نقش اساسی در تقویت حاصل از مورفین و اثرات پاداشی داروهای مورد سوء مصرف می‌باشد. در مطالعه حاضر اثرات غیر فعال سازی برگشت پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی بر میزان فعالیت الکتریکی نورون‌های هسته اکومبسنس و اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین در موش صحرایی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: موش‌های نر بالغ از نژاد ویستار در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند. در مطالعه رفتاری، غیر فعال سازی برگشت پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی به وسیله تزریق دوطرفه لیدوکائین ۲٪ در ناحیه فوق در خلال اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین (۵ mg/kg; s.c.) و در بخش الکتروفیزیولوژی، تزریق یک طرفه لیدوکائین ۲٪ در همان ناحیه در طی ثبت تک واحدی از نورون‌های هسته اکومبسنس انجام گرفت. نمره شرطی شدن و فعالیت‌های حرکتی حیوانات به وسیله نرم افزار Ethovision ثبت گردید. فعالیت الکتریکی نورون‌ها به وسیله ثبت تک واحدی از هسته اکومبسنس به انجام رسید.

یافته‌ها: داده‌ها حاکی از آن هستند که تزریق دوطرفه لیدوکائین ۲٪ در ناحیه تگمنتوم شکمی به طور معنی داری سبب کاهش اکتساب ($P < 0.01$) و بیان ($P < 0.05$) ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین در مقایسه با گروه‌های شاهد دریافت کننده سالیین شده است. علاوه بر این، در این آزمایش‌ها تزریق لیدوکائین در ناحیه تگمنتوم شکمی اثری بر فعالیت حرکتی حیوانات نداشت. همچنین تزریق یک طرفه لیدوکائین در ناحیه تگمنتوم شکمی به صورت معنی داری سبب افزایش فعالیت الکتریکی نورون‌های هسته اکومبسنس گردید.

نتیجه‌گیری: داده‌های این آزمایش هم‌راستا با تحقیقات پیشین موید نقش مهم ناحیه تگمنتوم شکمی در اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ناحیه تگمنتوم شکمی، هسته اکومبسنس، غیر فعال سازی برگشت پذیر، فعالیت الکتریکی، ترجیح مکان شرطی، مورفین، موش صحرایی

کرده‌اند [۲۲، ۱۲]. تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مختلفی در نورون‌های دوپامینرژیک و گاباآرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی پس از استفاده مزمن از مورفین گزارش شده است [۲۳، ۳] و مطالعات الکتروفیزیولوژیک تغییر فعالیت نورون‌های

مقدمه

تحقیقات متعدد در زمینه اعتیاد، ناحیه تگمنتوم شکمی (Ventral tegmental area, VTA) را به عنوان یکی از اثرگذارترین ساختارهای فیزیولوژیک مرتبط با اعتیاد معرفی

پژوهش‌های رفتاری و هم‌چنین الکتروفیزیولوژیک تاکنون مبین نقش ناحیه تگمنتوم شکمی و نیز هسته اکومینس در مسیر پاداش می‌باشند. آزمون ترجیح مکان شرطی روشی برای بررسی اثرات پاداشی یا تنبیهی مواد مخدر است. مبنای عمل ترجیح مکان شرطی بر تمایل ذاتی موش آزمایشگاهی برای خواستن محرکی است که قبلاً با یک حالت انگیزشی مثبت حاصل از یک ماده مخدر مثل مورفین جفت شده است [۲۹]. ترجیح مکان شرطی برای ارزیابی پایه نورویولوژیک اثرات پاداشی داروهای مورد سوء مصرف به وفور مورد استفاده قرار گرفته است [۲۸]. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که مورفین در موش‌ها باعث ایجاد ترجیح مکان شرطی برای محلی می‌شود که در آنجا تزریق شده است [۲۹، ۲۸]. سیستم دوپامینی منشا گرفته از ناحیه تگمنتوم شکمی به عنوان ساختار فیزیولوژیک مسئول اثرات تقویتی داروهای مورد سوء مصرف مورد بررسی‌های متعددی در سالیان اخیر قرار گرفته است [۲۹، ۲۱، ۲]. با این حال تاکنون نقش نواحی مختلف مغز در اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین به‌طور کامل مشخص نشده است. با توجه به تأکید مطالعات پیشین بر ارتباط ناحیه تگمنتوم شکمی و هسته اکومینس در مسیر پاداش و به منظور تأیید الکتروفیزیولوژیک یافته‌های رفتاری، در مطالعه حاضر فعالیت الکتریکی نورون‌های هسته اکومینس (بخش shell) نیز به روش ثبت تک واحدی خارج سلولی (Extracellular single unit recording) بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

حیوان. در این مطالعه تعداد ۱۲۲ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۰-۲۸۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای 23 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. در همه گروه‌ها غذا و آب به حد کافی در دسترس بود. آزمون رفتاری - ترجیح مکان شرطی. جهت بررسی اثرات پاداشی مورفین از روش ترجیح مکان شرطی (CPP) استفاده

دوپامینی مغز میانی، که ناحیه تگمنتوم شکمی هم جزئی از آن محسوب می‌شود، را تحت تأثیر سیستم اویوئیدی نشان داده‌اند [۴]. تغییرات نورویلاستیک در نورون‌های ناحیه تگمنتوم شکمی نقش مهمی در اعتیاد به مواد مخدر بازی می‌کنند [۳]. تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که سیستم دوپامینریژیک مزولیمبیک، که از ناحیه تگمنتوم شکمی به هسته اکومینس انشعابات و ابران می‌دهد، نقش مهمی در اثرات تقویتی حاصل از مورفین و اثرات پاداشی دیگر مواد مخدر دارد [۲۹، ۱۱، ۹]. فعال شدن مسیرهای وابسته به پاداش در مغز می‌تواند منجر به پدیده (relapse) برگشت فرد به مصرف دوباره مواد و هم‌چنین جستجوی فرد برای یافتن مجدد ماده مصرفی (drug seeking) شود [۳۳، ۱۲، ۱۱]. این مدار نورونی نقش کلیدی در تظاهرات رفتاری ناشی از مواد مخدر از جمله اتانول [۲]، کوکائین [۲۱]، نیکوتین [۱۸] و مورفین [۲۸، ۲۵] دارد. سلول‌های دوپامینریژیک ناحیه تگمنتوم شکمی منشا مسیر مزولیمبیک/مزوکورتیکال بوده و به هسته اکومینس عصب‌رسانی می‌کنند [۲۴، ۲].

هسته اکومینس ساختار پیچیده‌ای از مغز جلویی است و به‌عنوان بخشی از استریاتوم شکمی، از استریاتوم پشتی (دم‌دار و پوتامن) بر مبنای اتصالات و عمل‌کردش قابل تشخیص است. مطالعات اخیر شواهدی را مبنی بر ناهم‌گونی آناتومیکی و عمل‌کردی در این هسته فراهم کرده است، به‌طوری که دو زیر ناحیه میانی شکمی مرکزی (core) و کناری پشتی قشری (shell) تعریف شده‌اند. core بخشی از هسته‌های قاعده‌ای محسوب می‌شود و در نتیجه در بخش حرکتی رفتار نقش دارد، در حالی که shell بیش‌تر به پیش‌آمدهای جدید حساس است و در مکانیسم‌های مربوط به سیستم اتونوم و نیز مکانیسم‌های انگیزشی من جمله اعتیاد درگیر می‌باشد. مطالعات الکتروفیزیولوژیک مشخص کرده‌اند که فعالیت نورون‌های بخش قشری هسته اکومینس (Nucleus accumbens shell, NAcsH) در طی یادگیری و نیز پاداش ناشی از مواد اعتیادآور (به عنوان مثال خود تزریقی Self administration هروئین و یا کوکائین) تغییر می‌کند.

گردید. این روش شامل سه مرحله می‌شد. مرحله پیش‌آزمون (Pre-conditioning)، مرحله شرطی‌سازی (Conditioning) و مرحله پس از شرطی‌سازی (Post-conditioning) در این روش از یک جعبه با دو قسمت اصلی و یک قسمت خنثی (null) استفاده می‌شد که در یک بخش از قسمت‌های اصلی، حیوان مورفین را با دوز موثر و در قسمت دیگر سالیین دریافت می‌کرد. حیوان در روز اول (Pre-test) داخل جعبه در فضای خنثی (null) قرار گرفته و به مدت ۱۰ دقیقه به صورت آزادانه در هر سه قسمت حرکت می‌کرد. مرحله شرطی‌سازی شامل ۶ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای بود (۳ جلسه سالیین و ۳ جلسه دارو) که در هر روز ۲ جلسه و با فاصله زمانی ۶ ساعت صورت می‌گرفت. در این مرحله نیمی از حیوانات، مورفین را صبح در جعبه شرطی‌سازی و سالیین را عصر در جعبه مخالف دریافت می‌کردند و تزریق نیمه گروه دوم معکوس نیمه اول بود. حیوانات پس از دریافت دارو به مدت ۳۰ دقیقه در داخل جعبه باقی می‌مانند و به دلیل بسته بودن درب بین جعبه‌ها قادر به خروج از هر جعبه نبودند. در مرحله پس از شرطی‌سازی که روز پنجم می‌باشد، حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شده و قادر است به صورت آزادانه در داخل جعبه‌ها حرکت کند. در این مرحله، زمان سپری شده در هر قسمت توسط دوربین فیلم‌برداری ضبط شده و توسط نرم‌افزار اتوویژن مورد آنالیز قرار گرفت. به منظور محاسبه نمره شرطی‌سازی به عنوان فاکتور ترجیح مکان، مدت زمان سپری شده در محفظه دریافت دارو (مورفین) را از مدت زمان سپری شده در محفظه دریافت سالیین کم می‌کردیم.

روش جراحی و کانول‌گذاری در ناحیه تگمنتوم شکمی. قبل از شروع جراحی ابتدا حیوان را وزن کرده و سپس متناسب با وزن حیوان داروی بی‌هوشی کتامین-زایلین (مخلوط ۱۰۰ mg/kg کتامین و ۱۰ mg/kg زایلین) به صورت درون صفاقی به حیوان تزریق می‌شد. بعد از بی‌هوشی کامل، موهای سر حیوان تراشیده شده و حیوان درون دستگاه استریوتاکس قرار می‌گرفت. سپس لایه‌های بیوندی و چربی زیر آن برداشته شده و توسط الکل سفید استخوان جمجمه را

ضد عفونی می‌کردیم. به دنبال مشخص شدن استخوان جمجمه مختصات نقاط برگما و لامبدا را تعیین کرده و پس از سوراخ کردن استخوان جمجمه حیوان، کانول‌های راهنما طبق مختصات اطلس [۲۶]. خلف برگما ۵ mm - قدامی خلفی (AP)، نسبت به خط وسط ± 0.9 mm (ML) و از سطح جمجمه ۸/۴ - خلفی شکمی (DV)، یک میلی‌متر بالای VTA به صورت دوطرفه قرار داده شدند. در پایان، اطراف کانول‌ها و تمام سطح جمجمه با استفاده از مخلوط سیمان دندان پزشکی و مونومر آن پوشانده شدند. به منظور جلوگیری از بسته شدن مجاری کانول‌های راهنما، با استفاده از درپوش‌های ساخته شده از سر سوزن‌های ۳۰G، کانول‌های راهنما تا زمان تزریق دارو در VTA، مسدود می‌شدند. پس از اتمام جراحی و سخت شدن سیمان، حیوان از دستگاه استریوتاکس خارج شده و برای گذراندن دوره بهبودی ۵-۷ روزه به داخل قفس منتقل می‌گردید. تمام حیوانات پس از اتمام روند جراحی داروی پنی‌سیلین را به میزان ۰/۳-۰/۲ ml/rat به صورت عضلانی و به شکل تک دوز دریافت می‌کردند. وسعت ناحیه VTA حدود ۵۰۰-۶۰۰ میکرومتر در شکل سه بعدی می‌باشد. با این وجود طول این ناحیه در جهت قدامی-خلفی کمی بیش‌تر است [۲۶].

ثبت تک واحدی خارج سلولی از نورون‌های بخش قشری هسته اکومبیس. در این روش ابتدا حیوان توسط محلول اورتان (۱/۵ g/kg) بی‌هوش شده، پس از فیکس کردن سر حیوان داخل دستگاه همانند بخش رفتاری پوست سر برداشته شده و پس از تمیز کردن سطح جمجمه، مختصات نقاط برگما و لامبدا مشخص شد. مختصات محل ثبت تک واحدی یا محل ورود میکروالکتروود فلزی در بخش قشری هسته اکومبیس بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون [۲۶] به شرح زیر می‌باشد: قدامی خلفی (AP)، ۱/۲ mm قدام برگما؛ نسبت به خط وسط (ML)، ± 0.8 mm میانی خلفی و از سطح جمجمه، عمق ۷ mm خلفی شکمی (DV). لازم به ذکر است که به منظور جلوگیری از برخورد بازوهای استریوتاکس (بازوی مربوط به میکرواینجکشن دارو در VTA و بازوی

دامنه امواج نموده و به وسیله دستگاه موج بیز، محدوده دامنه به گونه‌ای تنظیم گردید که فقط یک موج با دامنه مشخص و ثابت در این محدوده قرار گیرد. با قرار دادن یک پنجره برای دامنه امواج ثبتي، پتانسیل‌های مورد مطالعه یک واحد نورونی از دیگر نورون‌های در حال ثبت با دامنه‌های متفاوت جدا گردیده و به جمع‌کننده اطلاعات سیگنالی (Data Acquisition) انتقال یافت. سیگنال‌های جمع‌آوری شده به صورت On-line برای ثبت Peri-Stimulus Time Histogram و Off-line برای دسته‌بندی اطلاعات ورودی به نرم‌افزار کامپیوتری تحت ویندوز ساخت داخل کشور فرستاده شد. در این شرایط میزان و الگوی فعالیت نورونی بخش قشری هسته اکومینس پیش و پس از تزریق لیدوکائین یا سالین به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی و تزریق زیر جلدی مورفین یا سالین برای مدت ۹۰ دقیقه (۵۴۰۰ ثانیه) بررسی گردید. لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر پس از جداسازی یک واحد نورونی از دیگر نورون‌های بخش قشری هسته اکومینس و پایداری شلیک نورونی (Firing rate) آن، حداقل به مدت ۱۵ دقیقه، میانگین شلیک نورونی ثبت گردید. طراحی آزمون در بخش رفتاری، تعیین منحنی دوز-پاسخ مورفین در مدل ترجیح مکان شرطی شده.

در این گروه حیوانات جهت بررسی منحنی دوز-پاسخ مورفین، حیوانات دوزهای متفاوت مورفین (۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) را به صورت زیر جلدی طی دوره شرطی‌سازی دریافت کردند. سپس در روز آزمون، ترجیح مکان شرطی و میزان فعالیت حرکتی حیوان در مدت ۱۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی اثر غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی بر اکتساب ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین در این بخش از آزمایشات، چهار گروه از حیوانات، به منظور بررسی اثرات غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی بر اکتساب ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین، در روزهای شرطی‌سازی ابتدا سالین یا لیدوکائین ۲٪ (۰/۵ $\mu\text{l}/\text{side}$) به داخل VTA تزریق شد (مطابق با مطالعات

مربوط به میکروالکتروود ثبت تک واحدی از بخش قشری هسته اکومینس (Nacsh)، کانول تزریق متصل به بازوی استریوتاکس روی زاویه ۲۰ درجه تنظیم شد و لذا مختصات VTA با در نظر گرفتن زاویه ۲۰ درجه بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون [۲۶] به صورت زیر محاسبه و در نظر گرفته شد: خلف برگما ۸/۶ mm - قدامی خلفی (AP)، نسبت به خط وسط $\pm 0/9$ mm میانی خلفی (ML) و از سطح حجمه عمق ۹/۹ mm خلفی شکمی (DV). پس از تنظیم دستگاه در راستای قدامی خلفی و میانی جانبی، محل VTA و Nacsh را با استفاده از جوهر بر روی سطح حجمه علامت‌گذاری و استخوان حجمه توسط مته دندان‌پزشکی تا رسیدن به پرده منژ در هر دو منطقه سوراخ گردید. سپس میکروالکتروود فلزی (قطر تقریبی ۱-۳ میکرومتر، مقاومت ۳-۷ مگا اهم) از جنس تنگستن به آرامی و با کمک یک پیش‌برنده میکرومتری به سمت Nacsh پایین برده شد. از طرف دیگر به منظور تزریق دارو به داخل VTA و حذف برگشت‌پذیر این ناحیه، پس از تنظیم بازوی دستگاه استریوتاکس بر روی زاویه ۲۰ درجه کانول تزریق ساخته شده با استفاده از سر سوزن ۲۷G متناسب با مختصات به دست آمده به داخل منطقه مذکور پایین برده شد. کانول تزریق مذکور با استفاده از لوله پلی‌اتیلن ۲۰ (PE-20) به سرنگ هامیلتون ۱ میکرولیتری محتوی دارو که در کنار دستگاه استریوتاکس قرار داده می‌شد، متصل گردید. به دنبال انجام این مراحل و روشن کردن دستگاه‌ها، امواج الکتریکی گرفته شده توسط میکروالکتروود فلزی و پری‌آمپلی‌فایر به یک آمپلی‌فایر Bandpass مدل WPI فرستاده شده، سیگنال‌های ثبت شده ۱۰۰۰۰ بار تقویت و جهت حذف سیگنال‌های ناخواسته (Noise)، سیگنال‌های ورودی فیلتره (۱۰ KHz-۳۰۰ Hz) گردیدند. سپس سیگنال‌ها برای نمایش به اوسیلوسکوپ منتقل و صدای آن‌ها نیز پس از فیلتر شدن، قابل شنیدن گردیدند. در مرحله بعد سیگنال ثبتي به دستگاه موج بیز (Window discriminator) مدل WPI منتقل گردید و در صورت تعدد امواج مشاهده شده، اقدام به تعیین حدود

تزریق گردید. ۱۵ دقیقه بعد، تزریق زیر جلدی مورفین (۵ mg/kg) در ناحیه پشت گردن حیوان انجام گرفت.

بررسی اثر تزریق توام لیدوکائین (به‌داخل VTA) و مورفین (زیر جلدی) بر فعالیت نورونی بخش قشری هسته اکومینس

در این آزمایش، پس از گذشت ۱۵ دقیقه از آغاز ثبت و تثبیت واحد نورونی انتخاب شده، فعالیت پایه نورون برای مدت ۳۰ دقیقه ثبت گردید. به دنبال آن قبل از پایان ۴۵ دقیقه اول، مقدار ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۲٪ به صورت یک‌طرفه به ناحیه تگمنتوم شکمی تزریق گردید. ۱۵ دقیقه بعد تزریق زیر جلدی مورفین (۵ mg/kg) در ناحیه پشت گردن حیوان انجام گرفت. لازم به ذکر است که در گروهی دیگر، حیوانات به جای مورفین، سالین به صورت زیر جلدی (۱ ml/kg) دریافت کردند.

آنالیز آماری

آنالیز آماری بخش رفتاری. کلیه نتایج به‌دست آمده به صورت میانگین \pm میانگین خطای استاندارد (mean \pm SEM) توضیح داده شده‌اند. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism (Version 5.0) انجام گرفت. به منظور مقایسه نمره شرطی شدن و مسافت‌های طی شده به‌دست آمده در گروه‌های کنترل و آزمایش، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) که با پس‌آزمون Dunnett و یا Newman-Keuls دنبال می‌شد، استفاده گردید. P کم‌تر از ۰/۰۵ ($P < 0.05$) به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

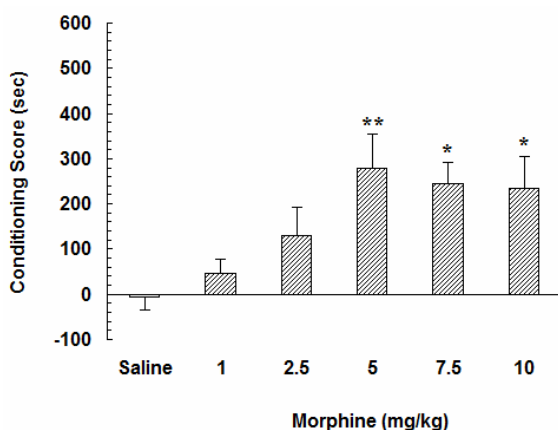
آنالیز آماری بخش الکتروفیزیولوژی. جهت محاسبه میانگین فعالیت خود به‌خودی و برانگیخته نورون‌های قشر هسته اکومینس در مقیاس زمانی ۱-۵ دقیقه از بخش مربوط به آنالیز در نرم‌افزار ثبت استفاده گردید. لازم به ذکر است که فعالیت نورونی در بازه‌های زمانی (Bin size) یک ثانیه‌ای ثبت ولی‌کن در مقیاس‌های زمانی یک دقیقه‌ای در نمودارها ارائه گردید. نتایج به‌دست آمده به صورت میانگین \pm میانگین خطای استاندارد (Mean \pm SEM) توضیح داده شده‌اند. به

قبلی [۳۲، ۱۷، ۱۶] ماده با حجم ۰/۵ میکرولیتر در ناحیه‌ای به وسعت ۳۰۰-۵۰۰ میکرومتر منتشر می‌شود) و پس از گذشت ۳ دقیقه مورفین (۵ mg/kg) یا سالین (۱ ml/kg) به‌صورت زیر جلدی تزریق گردید. در روز تست ترجیح مکان شرطی و فعالیت حرکتی حیوانات در مدت ۱۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی اثر غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی بر بیان ترجیح مکان شرطی القاء‌شده توسط مورفین در این بخش از آزمایشات، دو گروه از حیوانات به منظور بررسی اثرات غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی بر بیان ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین، حیوانات پس از گذراندن سه روز مرحله شرطی‌سازی با مورفین (۵ mg/kg; s.c.)، در روز تست ۱۰ دقیقه قبل از دریافت مورفین، سالین یا لیدوکائین ۲٪ (۰/۵ μ l/side) را در ناحیه VTA به صورت دوطرفه دریافت کردند و سپس ترجیح مکان شرطی و فعالیت حرکتی حیوانات برای مدت ۱۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت.

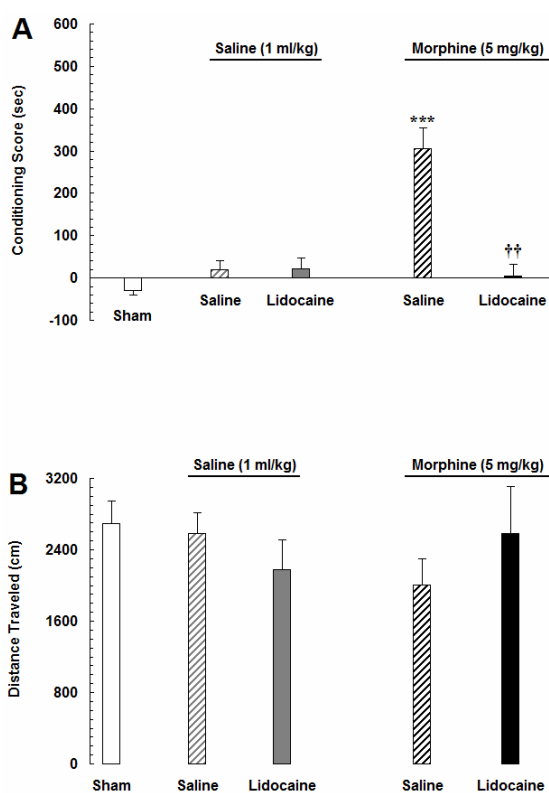
طراحی آزمون بخش الکتروفیزیولوژی. بررسی اثر تزریق لیدوکائین در VTA بر روی فعالیت نورونی هسته اکومینس در این آزمایش‌ها پس از گذشت ۱۵ دقیقه از آغاز ثبت و تثبیت واحد نورونی انتخاب شده، فعالیت پایه نورون طی مدت ۳۰ دقیقه ثبت گردید. به دنبال آن قبل از پایان ۴۵ دقیقه اول، تقریباً ۱ دقیقه قبل از رسیدن به زمان تزریق، مقدار ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۲٪ (۰/۵ μ l/side) به ناحیه تگمنتوم شکمی تزریق شد. ۱۵ دقیقه بعد، تزریق زیر جلدی سالین (۱ ml/kg) در ناحیه پشت گردن حیوان انجام می‌گرفت.

بررسی اثر تزریق زیر جلدی مورفین بر فعالیت نورونی بخش قشری هسته اکومینس. در این آزمایش، پس از گذشت ۱۵ دقیقه از آغاز ثبت و تثبیت واحد نورونی انتخاب شده، فعالیت پایه نورون برای مدت ۳۰ دقیقه ثبت گردید. به دنبال آن قبل از پایان ۴۵ دقیقه اول، مقدار ۰/۵ میکرولیتر سالین به عنوان حلال لیدوکائین به صورت یک‌طرفه در ناحیه VTA



شکل ۱. ترجیح مکان شرطی القاء شده بوسیله مقادیر مختلف مورفین.

** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ تفاوت از گروه سالین



شکل ۲. اثر تزریق لیدوکائین ۲٪ (۰/۵ μ l/side) یا سالین به صورت دوطرفه در ناحیه تگمنتوم شکمی بر (A) اکتساب ترجیح مکان شرطی و (B) فعالیت حرکتی ناشی از مورفین یا سالین.

*** $P < 0.001$ تفاوت از گروه شاهد کاذب (Sham)

†† $P < 0.01$ تفاوت از گروه کنترل مورفین (میکرواینجکشن Saline)

آزمون آماری Newman-Keuls نشان می‌دهد که تزریق دوطرفه لیدوکائین ۲٪ (۰/۵ μ l/side) در VTA قبل از اضافه کردن مورفین در طی سه روز مرحله شرطی‌سازی به طور معنی‌داری سبب کاهش اکتساب CPP در مقایسه با حیواناتی

منظور دسته‌بندی نورون‌های قشر هسته اکومینس در گروه‌های کنترل‌ی و آزمونی از روش آنالیز خوشه‌ای (Cluster analysis) در نرم‌افزار Spss استفاده گردید و فعالیت نورونی پیش و پس از تجویز داروها و چگونگی توزیع نورونی مورد انتظار به وسیله آزمون مربع کای Chi-square مورد مقایسه قرار گرفت. P کم‌تر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

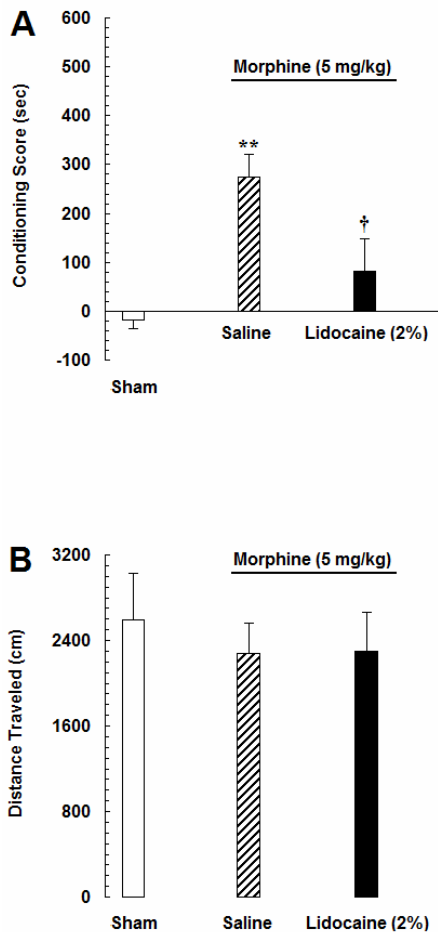
نتایج

نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های انجام شده در بخش

رفتاری.

منحنی دوز- پاسخ مورفین در مدل ترجیح مکان شرطی. آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان می‌دهد که تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف مورفین به‌طور معنی‌داری سبب افزایش مدت زمان سپری شده در خانه شرطی‌سازی (خانه دریافت دارو) در مقایسه با خانه دریافت سالین می‌گردد و به عبارت دیگر همان‌گونه که شکل ۱ نشان می‌دهد، مورفین سبب القاء CPP وابسته به مقدار، نسبت به گروه کنترل (سالین) شده است [$F(5,39) = 4/365, P < 0.01$]. یافته‌ها نشان می‌دهد که ماکزیم اثر به‌دست آمده مربوط به دوز ۵ mg/kg مورفین می‌باشد؛ بنابراین این دوز مورفین برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. از طرف دیگر آزمون آماری Newman-Keuls جهت مقایسه چندگانه حاکی از این است که مقادیر مختلف مورفین اثری بر روی مسافت طی شده یا فعالیت حرکتی حیوانات در مرحله آزمون (در مدت زمان ۱۰ دقیقه دوره تست) در مقایسه با گروه کنترل (سالین) ندارد. بنابراین مقادیر مختلف مورفین در این سری از آزمایشات به واسطه تغییر در فعالیت حرکتی حیوانات موجب تغییر در نمره شرطی شدن نشده‌اند.

بررسی اثر تزریق لیدوکائین (غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر) در ناحیه تگمنتوم شکمی بر اکتساب ترجیح مکان شرطی در موش‌های درمان شده با سالین و مورفین.



شکل ۳. اثر تزریق لیدوکائین ۲٪ (۰/۵ μl/side) یا سالین به صورت دوطرفه در ناحیه تگمنتوم شکمی بر (A) بیان ترجیح مکان شرطی و (B) فعالیت حرکتی ناشی از مورفین یا سالین. $**P < 0/01$ تفاوت از گروه شاهد کاذب (Sham) $†P < 0/05$ تفاوت معنی دار از گروه کنترل مورفین (میکرواینجکشن Saline)

نتایج به دست آمده از آزمایش‌های انجام شده در بخش الکتروفیزیولوژی

فعالیت پایه نورون‌های بخش قشری هسته اکومینس اطلاعات حاضر مربوط به فعالیت پایه ۲۹ نورون واقع در قشر هسته اکومینس در ۴ گروه الکتروفیزیولوژی می‌باشد که پس از تأیید بافت‌شناسی و جداسازی آن‌ها از دیگر پتانسیل‌های ثبتی و ثبت پایدار به مدت ۴۵ دقیقه به دست آمده است. فعالیت خود به خودی نورون‌های قشر هسته اکومینس بین ۰/۴۲ و ۱۱/۴۴ اسپایک در ثانیه متغیر بود و میانگین نرخ فعالیت پایه در نورون‌های فوق $3/21 \pm 0/6$ اسپایک در ثانیه بود. روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه از نوع

می‌شود که سالین را به صورت دوطرفه در VTA دریافت کرده بودند (شکل ۲- A)، $[F(31,4) = 7/132, P < 0/0005]$. علاوه بر این نمره شرطی شدن این گروه هیچ تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد کاذب که سالین را به صورت زیر جلدی به جای مورفین دریافت کرده بود، نشان نمی‌داد. همچنین آزمون آماری ANOVA یک‌طرفه نشان می‌دهد که میکرواینجکشن لیدوکائین قبل از تزریق سالین (۱ mg/kg; s.c.) به جای مورفین نمی‌تواند CPP را در مقایسه با گروه شاهد کاذب یا گروه سالین به وجود آورد. از طرفی داده‌های به دست آمده در شکل ۲- B نشان می‌دهد که میکرواینجکشن دوطرفه لیدوکائین یا سالین به داخل VTA که در آزمایشات اکتساب CPP موجب کاهش نمره شرطی‌سازی شد، به واسطه تغییر در فعالیت حرکتی حیوانات نبوده است $[F(31,4) = 0/7208, P = 0/5852]$.

بررسی اثر تزریق لیدوکائین (غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر) در ناحیه تگمنتوم شکمی بر بیان ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین

آزمون آماری Newman-Keuls در شکل ۳- A نشان می‌دهد غیر فعال‌سازی برگشت‌پذیر دوطرفه VTA، ۱۰ دقیقه قبل از انجام تست توانست بیان CPP ناشی از مورفین را در مقایسه با گروه میکرواینجکشن سالین کاهش دهد $[F(20,2) = 9/481, P = 0/0015]$. نشان می‌دهد که میکرواینجکشن لیدوکائین ۲٪ یا سالین نمی‌تواند فعالیت حرکتی حیوانات را در طول ۱۰ دقیقه تست در مقایسه با گروه شاهد کاذب سالین تحت تاثیر قرار دهد $[F(44,4) = 0/3989, P = 0/8082]$. بنابراین تزریق دوطرفه لیدوکائین یا سالین به داخل VTA در روز تست (آزمایشات بیان CPP) موجب کاهش نمره شرطی‌سازی به واسطه تغییر در فعالیت حرکتی حیوانات نمی‌گردد.

نورون‌ها بعد از تزریق زیر جلدی مورفین به $10/22 \pm 49/43$ درصد تغییر یافت. در ۳ نورون دیگر از ۸ نورون مورد بررسی در این گروه ۳-۷ دقیقه بعد از تزریق زیر جلدی مورفین (5 mg/kg) فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبیس به صورت معنی‌داری افزایش یافت و تا دقیقه ۹۰ هم ادامه پیدا کرد. هم‌چنین فعالیت خود به‌خودی نورون‌های قشر هسته اکومبیس بین $0/71$ و $8/02$ اسپایک در ثانیه متغیر بوده و میانگین نرخ فعالیت پایه در نورون‌های فوق $2/22 \pm 3/19$ اسپایک در ثانیه بود (شکل ۵-B). هم‌چنین میانگین درصد افزایش پاسخ در این نورون‌ها بعد از تزریق زیر جلدی مورفین $71/61 \pm 7/3$ درصد می‌باشد. در ۲ نورون از ۸ نورون مورد بررسی در این بخش، هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری پیش و پس از انجام تزریقات گفته شده در بالا در فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبیس مشاهده نشد و لذا به عنوان نورون‌های بی‌اثر در نظر گرفته شدند (شکل ۵-C). فعالیت خود به‌خودی نورون‌های قشر هسته اکومبیس بین $1/11$ و $5/43$ اسپایک در ثانیه متغیر بود و میانگین نرخ فعالیت پایه در نورون‌های فوق در طول ۹۰ دقیقه $2/96 \pm 1/06$ اسپایک در ثانیه بود.

بررسی اثر غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی بر تغییرات فعالیت نورونی بخش قشری هسته اکومبیس پس از تزریق زیر جلدی مورفین

در ۹ نورون مورد بررسی در این گروه ۲ نمونه الگوی فعالیت نورونی (شکل ۶) به ترتیب زیر مشاهده شد. در ۸ نورون از ۹ نورون مورد بررسی در این گروه میانگین درصد افزایش پاسخ در اکثریت نورون‌ها در ۱۵ دقیقه اول (۰-۱۵) بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین $23/25 \pm 5/4$ درصد و در ۱۵ دقیقه دوم (۱۵-۳۰) بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین که هم‌زمان با تزریق زیر جلدی مورفین (5 mg/kg) هم بوده است، $17/69 \pm 13/53$ درصد بود. هم‌چنین میانگین نرخ فعالیت پایه در نورون‌های این بخش $2/57 \pm 0/74$ اسپایک بر ثانیه بود. به این ترتیب تجویز مورفین توانست به طور معنی‌داری سبب کاهش فعالیت نورونی به میزان

اندازه‌گیری مکرر (Repeated measures ANOVA)، هیچ‌گونه تفاوت آماری را در بلوک‌های پنج دقیقه‌ای از فعالیت پایه در طول ۴۵ دقیقه پس از دوره پایداری نشان نداد.

بررسی اثر تزریق لیدوکائین در ناحیه تگمنتوم شکمی بر فعالیت پایه نورون‌های قشری هسته اکومبیس

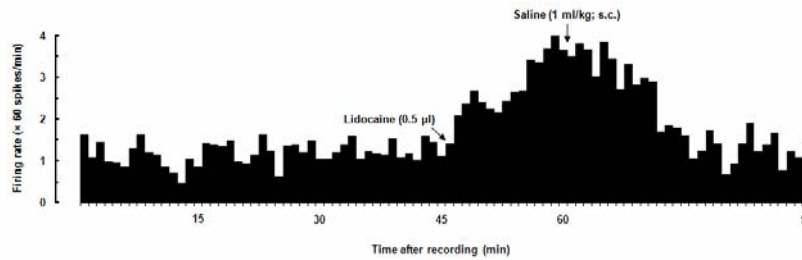
در ۵ نورون از ۶ نورون مورد بررسی در این گروه ۱-۷ دقیقه بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین در ناحیه VTA فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبیس به صورت معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۴). طول دوره اثر لیدوکائین بین ۱۹-۳۳ دقیقه بوده است. فعالیت خود به‌خودی نورون‌های قشر هسته اکومبیس بین $0/58$ و $8/92$ اسپایک در ثانیه متغیر بوده و میانگین نرخ فعالیت پایه در نورون‌های فوق $3/27 \pm 1/01$ اسپایک در ثانیه بود. میانگین درصد افزایش پاسخ در این نورون‌ها در ۱۵ دقیقه اول (۰-۱۵) بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین $9/16 \pm 24/54$ درصد و در ۱۵ دقیقه دوم (۱۵-۳۰) بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین که هم‌زمان با تزریق زیر جلدی سالین (1 ml/kg; s.c) هم بوده است، $15/44 \pm 47/57$ درصد بود. افزایش درصد فعالیت در ۱ نورون از ۶ نورون مورد بررسی $0/27 \pm 8/11$ درصد بود، لذا این نورون به عنوان نورون بی‌اثر محسوب شد.

بررسی اثر مورفین زیر جلدی بر فعالیت پایه نورون‌های بخش قشری هسته اکومبیس

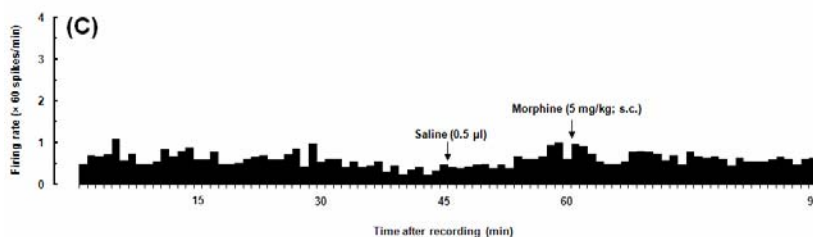
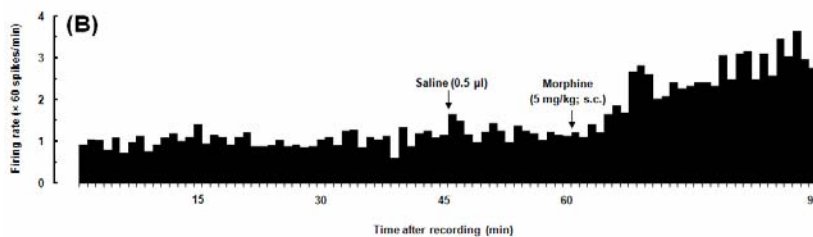
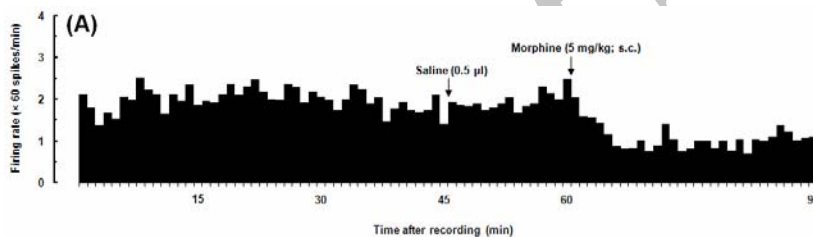
در ۸ نورون مورد بررسی در این گروه سه نمونه الگوی فعالیت نورونی به ترتیب زیر مشاهده شد. همان‌گونه که در شکل ۵-A مشخص می‌باشد در ۳ نورون از ۸ نورون مورد بررسی در این گروه ۱-۳ دقیقه بعد از تزریق زیر جلدی مورفین (5 mg/kg) فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبیس به صورت معنی‌داری کاهش یافت و تا دقیقه ۹۰ هم ادامه پیدا کرد. فعالیت خود به‌خودی نورون‌های قشر هسته اکومبیس بین $1/05$ و $8/4$ اسپایک در ثانیه و میانگین نرخ فعالیت پایه در نورون‌های فوق $3/01 \pm 1/15$ اسپایک در ثانیه بود. هم‌چنین میانگین درصد پاسخ کاهشی در این

از میکرواینجکشن لیدوکائین ۰/۷٪ و در ۱۵ دقیقه دوم (۱۵-۳۰) بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین که هم‌زمان با تزریق زیر جلدی مورفین (۵ mg/kg) هم بوده است، ۰/۴۳٪ بود. هم‌چنین میانگین نرخ فعالیت پایه در نورون مذکور ۰/۸۵±۰/۲۹ اسپایک بر ثانیه بود.

۲۸/۸۸±۱۶/۱ درصد سطح فعالیت در زمان تزریق لیدوکائین گردد یا به عبارت دیگر مورفین توانست به میزان ۲۸/۸۸±۱۶/۱ درصد اثر لیدوکائین را در این گروه کاهش دهد. علاوه بر این، در ۱ نورون از ۹ نورون مورد بررسی در این گروه میانگین درصد پاسخ در ۱۵ دقیقه اول (۰-۱۵) بعد



شکل ۴. یک نمونه الگوی فعالیت نورون های بخش قشری هسته اکومینس در پاسخ به تزریق ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۰/۲٪ به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی و تزریق زیر جلدی سالین (1 ml/kg). میکرواینجکشن لیدوکائین بطور میانگین سبب افزایش فعالیت نورونی به ترتیب، به میزان ۲۴/۵۴ درصد و ۴۷/۵۷ درصد در ۱۵ دقیقه اول و دوم بعد از تزریق گردید.



شکل ۵. الگوی فعالیت نورون های بخش قشری هسته اکومینس در پاسخ به تزریق ۰/۵ میکرولیتر سالین به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی و تزریق زیر جلدی مورفین (۵ mg/kg). سه نمونه الگوی فعالیت نورونی با (A) کاهش، (B) افزایش و (C) بدون تغییر در پاسخدهی به تزریق مورفین در این ناحیه مشاهده گردید.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق مورفین باعث القاء ترجیح مکان شرطی به صورت وابسته به دوز می‌گردد. دستاوردهای مهم (نتایج عمده) حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که غیرفعال سازی برگشت پذیر دوطرفه ناحیه تگمنتوم شکمی به طور معنی داری باعث کاهش (الف) اکتساب و (ب) بیان ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین می‌گردد و هیچ‌گونه اثری بر روی فعالیت حرکتی، در آزمایش‌های اکتساب و بیان ندارد. از طرفی در بخش الکتروفیزیولوژی (ج) میانگین نرخ فعالیت پایه نورون‌های قشر هسته اکومبیس $3/21 \pm 0/6$ اسپایک در ثانیه بود و (د) غیرفعال سازی برگشت پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی موجب افزایش میزان فعالیت نورون‌های قشر هسته اکومبیس همان سمت در مقایسه با گروه میکرواینجکشن سالین گردید. (ه) تزریق زیرجلدی مورفین در تعدادی از حیوانات مورد آزمایش موجب کاهش و در تعدادی دیگر موجب افزایش میزان فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبیس در مقایسه با تزریق زیرجلدی سالین گردید و از طرفی (و) غیرفعال سازی برگشت پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی موجب تغییر الگوی پاسخ‌دهی نورون‌های بخش قشری هسته اکومبیس در حضور و عدم حضور مورفین گردید.

داده‌های این تحقیق مؤید این هستند که مورفین به صورت وابسته به دوز باعث ایجاد ترجیح مکان شرطی برای محل مرتبط با دارو می‌باشد. این یافته‌ها در راستا با تحقیقات پیشین می‌باشند [۲۸،۵] و نشان می‌دهند که اثرات پاداشی مورفین به واسطه مکانسیم یادگیری ارتباطی با محل مرتبط با وقوع پاداش مرتبط می‌شوند [۲۸]. از طرفی متآنالیز داده‌های مطالعات ترجیح مکان شرطی انجام شده توسط باردو و همکاران (۱۹۹۵) هم‌راستا با نتایج به دست آمده از بررسی اثرات پاداشی مورفین در مطالعه حاضر می‌باشد [۱]. دوزهای مورد استفاده مورفین در این مطالعه اثری بر فعالیت‌های حرکتی حیوان نداشت که هم‌راستا با بقیه مطالعات می‌باشد [۳۱]. ترجیح مکان شرطی القاشده توسط اوپویدها وابسته به فعالیت سیستم دوپامینی مزولیمبیک می‌باشد [۱۹]. اوپویدها

گیرنده‌های اوپویدی M را فعال و فعالیت عصبی نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی را افزایش می‌دهند [۲۵،۶]. مطالعه حاضر نشان داد که تزریق دوطرفه لیدوکائین در ناحیه تگمنتوم شکمی به طور معنی داری باعث کاهش اکتساب ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین شد. این یافته‌ها هم‌راستا با تحقیقات پیشین است که نشان می‌دهند تخریب و ابران‌های ناحیه تگمنتوم شکمی به هسته اکومبیس یا متوقف کردن انتقالات دوپامینی در هسته اکومبیس باعث کاهش اثرات تقویتی مواد مخدر در آزمون‌های مختلف من جمله ترجیح مکان شرطی می‌شود [۳۱،۵]. مکانسیم‌های مختلفی در اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی حاصل از مورفین نقش دارند. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که محرک‌های محیطی شرطی شده احتمالاً به صورت مستقیم و توسط نورون‌های گلوتاماترژیک اثر تحریکی بر روی نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی می‌گذارند [۳۰]. به نظر می‌رسد برقراری ارتباط بین نشانه‌های محیطی با اثرات تقویتی مواد مخدر از طریق پلاستیسیته در سطح مزوکورتیکولیمبیک به واسطه سیستم گلوتاماترژیک باشد [۳۵،۷]. بسیاری از مواد مخدر شامل مورفین و کوکائین باعث القاء تقویت طولانی مدت (Long-term potentiation, LTP) در نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی می‌شوند [۳۵،۱۸،۷]. تحقیقات گذشته مؤید رخ دادن LTP در نورون‌های ناحیه تگمنتوم شکمی و هسته اکومبیس به عنوان دو ناحیه مهم در سیستم پاداش مغز می‌باشد. مواد مخدر به واسطه مکانسیم‌های مسئول ایجاد LTP و تضعیف طولانی مدت (Long-term depression, LTD) باعث تغییراتی در قدرت سیناپس در ساختارهای مغزی مرتبط با پاداش می‌شوند [۳۳]. علاوه بر این، نشان داده شده است که فعال کردن مسیر عصبی دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی به هیپوکامپ باعث افزایش LTP و یادگیری می‌شود [۱۵]. هم‌چنین تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که اوپویدها از طریق مهار کردن ورودی‌های مهاری گابا به ناحیه تگمنتوم شکمی با سیستم دوپامینی تعامل دارند و باعث افزایش رهایش دوپامین

مدت زمان اثر لیدوکائین به نوع تزریق و درصد آن بستگی دارد و در بخش الکتروفیزیولوژی مطالعه حاضر، مدت زمان اثر آن بین ۲۰-۳۵ دقیقه بود. این اثر به‌طور متوسط از ۱-۳ دقیقه پس از تزریق شروع شده و تا حدود ۳۰ دقیقه (به‌طور متوسط) ادامه یافت.

علاوه بر این در مطالعه حاضر غیر فعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی فاقد اثر بر فعالیت حرکتی در مراحل اکتساب و بیان بود در حالی‌که تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که تخریب محدود سیستم دوپامینی مزولیمبیک باعث افزایش فعالیت حرکتی می‌گردد [۱۳]. به نظر می‌رسد که به علت تخریب نورون‌های گابا‌ارژیک به هم‌راه نورون‌های دوپامینرژیک در ناحیه تگمنتوم شکمی باعث مسدود شدن هم اثرات مهارى و هم اثرات تحریکی شده و در نتیجه تغییری در فعالیت حرکتی روی نداده است. با توجه به نوع ثبت انجام شده در این آزمایشگاه، قادر به جدا کردن نورون‌ها از لحاظ ماهیت (دوپامینرژیک و گابا‌ارژیک و...) نبودیم ولی‌کن در مطالعات بعدی در صورت استفاده از روش‌های پیش‌رفته رنگ‌آمیزی حیاتی (فلورسانت) و یا استفاده از شاخص‌های معین در بعضی از نورون‌ها، می‌توان امیدوار بود که نوع نورون در شروع ثبت مشخص گردد. داده‌های این مطالعه حاکی از دخالت ناحیه تگمنتوم شکمی در اکتساب ترجیح مکان شرطی و به میزان کم‌تری در مرحله بیان می‌باشد. با این‌حال برای روشن شدن هر چه بهتر مکانیسم این دو پدیده تحقیقات پیش‌تری لازم است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد که بدینوسیله از حمایت مذکور تشکر به عمل می‌آید.

منابع

[1] Bardo MT, Rowlett JK, Harris MJ. Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev* 1995; 19: 39-51.

در اکومبسن می‌شوند [۱۰] که برای اکتساب ترجیح مکان شرطی مورفین ضروری می‌باشد [۷]. با این وجود، یافته‌ها مؤید وجود یک سیستم نورونی غیر دوپامینی در ناحیه تگمنتوم شکمی مرتبط با پاداش و مستقل از دوپامین می‌باشد [۱۴]. تزریق لیدوکائین داخل ناحیه تگمنتوم شکمی به صورت دوطرفه (نه یک‌طرفه) باعث کاهش بیان ترجیح مکان شرطی در مقایسه با گروه دریافت‌کننده میکرواینجکشن سالین می‌شود. بیان ترجیح مکان شرطی القاء‌شده توسط مورفین پدیده چند بعدی کوتاه‌مدت است که بر پایه فعال شدن سیستم حافظه کار می‌کند. نشان داده شده که مورفین می‌تواند باعث القاء حافظه مرتبط با مکان گردد [۳۴، ۱۱] و سیستم دوپامینرژیک مزولیمبیک نقش مهمی در مکانیسم حافظه‌ای بیان ترجیح مکان شرطی القاء‌شده توسط مورفین دارد [۱۱]. صحرایی و همکاران [۲۹] نشان دادند که ناحیه تگمنتوم شکمی بر روی بیان ترجیح مکان شرطی مواد مخدر اثرگذار است. تحقیقات الکتروفیزیولوژیک متعددی بیانگر تغییر میزان فعالیت نورون‌های بخش قشری اکومبسن در پاسخ به استفاده از مواد اعتیادزا هستند [۲۷، ۲۰، ۸].

نتایج حاصل از بخش الکتروفیزیولوژی مطالعه حاضر نشان داد که میانگین نرخ فعالیت پایه نورون‌های قشر هسته اکومبسن بیش‌تر از میانگین نرخ فعالیت پایه به‌دست آمده توسط وود و همکارانش [۳۶] می‌باشد، که این تفاوت در میانگین نرخ فعالیت پایه می‌تواند به واسطه تفاوت‌های تکنیکی، چگونگی جداسازی نورونی، وسعت ناحیه ثبت و یا تفاوت در نژاد موش باشد که در انجام آزمایش‌ها وجود داشته است. هم‌چنین روند کاهش فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبسن، در بخش الکتروفیزیولوژی مطالعه حاضر، به واسطه تأثیر هم‌زمان مورفین و لیدوکائین در VTA در فاز دوم اثر لیدوکائین هم تا حدودی مؤید بخش رفتاری مطالعه ماست که نشان داد غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی می‌تواند موجب کاهش ترجیح مکان شرطی یا به بیان دیگر کاهش فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبسن درگیر در بروز رفتارهای پاداشی گردد.

- [20] Mukai K, Kim J, Nakajima K, Oomura Y, Wayner MJ, Sasaki K. Electrophysiological effects of orexin/hypocretin on nucleus accumbens shell neurons in rats: an in vitro study. *Peptides* 2009; 30: 1487-1496.
- [21] Navailles S, Moison D, Cunningham KA, Spampinato U. Differential regulation of the mesoaccumbens dopamine circuit by serotonin_{2C} receptors in the ventral tegmental area and the nucleus accumbens: an in vivo microdialysis study with cocaine. *Neuropsychopharmacology* 2007; 33: 237-246.
- [22] Nestler EJ, Carlezon WA Jr. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol Psychiatry* 2006; 59: 1151-1159.
- [23] Nugent FS, Penick EC, Kauer JA. Opioids block long-term potentiation of inhibitory synapses. *Nature* 2007; 446: 1086-1090.
- [24] Oades RD, Halliday GM. Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Res* 1987; 434: 117-165.
- [25] Olmstead MC, Franklin KB. The development of a conditioned place preference to morphine: Effects of microinjections into various CNS sites. *Behav Neurosci* 1997; 111: 1324-1334.
- [26] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Elsevier Academic Press, 2007.
- [27] Rebec GV. Real-time assessments of dopamine function during behavior: single unit recording, iontophoresis, and fast-scan cyclic voltammetry in awake, unrestrained rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 32-40.
- [28] Rezaeifard A, Nazari-Serenjeh F, Zarrindast MR, Sepehri H, Delphi L. Morphine-induced place preference: Involvement of cholinergic receptors of the ventral tegmental area. *Eur J Pharmacol* 2007; 562: 92-102.
- [29] Sahraei H, Amiri YA, Haeri-Rohani A, Sepehri H, Salimi SH, Pourmotabbed A, et al. Different effects of GABAergic receptors located in the ventral tegmental area on the expression of morphine-induced conditioned place preference in rat. *Eur J Pharmacol* 2005; 524: 95-101.
- [30] Schultz W. Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol* 1998; 80: 1-27.
- [31] Spyrali C, Fibiger HC, Phillips AG. Cocaine-induced place preference conditioning: lack of effects of neuroleptics and 6-hydroxydopamine lesions. *Brain Res* 1982; 253: 195-203.
- [32] Tehovnik EJ, Sommer MA. Effective spread and timecourse of neural inactivation caused by lidocaine injection in monkey cerebral cortex. *J Neurosci Methods* 1997; 74: 17-26.
- [33] Thomas MJ, Malenka RC. Synaptic plasticity in the mesolimbic dopamine system. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2003; 358: 815-819.
- [34] Tzschentke TM. Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 613-672.
- [35] Winder DG, Egli RE, Schramm NL, Matthews RT. Synaptic plasticity in drug reward circuitry. *Curt Mol Med* 2002; 2: 667-676.
- [36] Wood DA, Rebec GV. Environmental enrichment alters neuronal processing in the nucleus accumbens core during appetitive conditioning. *Brain Res* 2009; 1259: 59-67.
- [2] Bunney EB, Appel SB, Brodie MS. Electrophysiological effects of cocaethylene, cocaine, and ethanol on dopaminergic neurons of the ventral tegmental area. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 696-703.
- [3] Chu NN, Xia W, Yu P, Hu L, Zhang R, Cui CL. Chronic morphine-induced neuronal morphological changes in the ventral tegmental area in rats are reversed by electroacupuncture treatment. *Addict Biol* 2008; 13: 47-51.
- [4] Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. Principles of Neuropsychopharmacology. Massachusetts: Sinauer Associates Inc. 1997.
- [5] Gholami A, Haeri-Rohani A, Sahraei H, Zarrindast MR. Nitric oxide mediation of morphine-induced place preference in the nucleus accumbens of rat. *Eur J Pharmacol* 2002; 449: 269-277.
- [6] Gholami A, Zarrindast MR, Sahraei H, Haeri-Rohani A. Nitric oxide within the ventral tegmental area is involved in mediating morphine reward. *Eur J Pharmacol* 2003; 458: 119-128.
- [7] Harris GC, Wimmer M, Byrne R, Aston-Jones G. Glutamate-associated plasticity in the ventral tegmental area is necessary for conditioning environmental stimuli with morphine. *Neuroscience* 2004; 129: 841-847.
- [8] Hunt MJ, Falinska M, Kasicki S. Local injection of MK801 modifies oscillatory activity in the nucleus accumbens in awake rats. *J Psychopharmacol* 2010; 24: 931-941.
- [9] Hyman SE. Addiction: a disease of learning and memory. *Am J Psychiatry* 2005; 162: 1414-1422.
- [10] Johnson SW, North RA. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. *J Neurosci* 1992; 12: 483-488.
- [11] Koob GF. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13: 177-184.
- [12] Koob GF, Le Moal M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* 2001; 24: 97-129.
- [13] Koob GF, Stinus L, Le Moal M. Hyperactivity and hypoactivity produced by lesions to the mesolimbic dopamine system. *Behav Brain Res* 1981; 3: 341-359.
- [14] Laviolette SR, Van Der Kooy D. GABAA receptors in the ventral tegmental area control bidirectional reward signalling between dopaminergic and non dopaminergic neural motivational systems. *Eur J Neurosci* 2001; 13: 1009-1015.
- [15] Lisman JE, Grace AA. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 2005; 46: 703-713.
- [16] Lohman RJ, Liu L, Morris M, O'Brien TJ. Validation of a method for localized microinjection of drugs into thalamic subregions in rats for epilepsy pharmacological studies. *J Neurosci Methods* 2005; 146: 191-197.
- [17] Malpeli JG. Reversible inactivation of subcortical sites by drug injection. *J Neurosci Methods* 1999; 86: 119-128.
- [18] Mansvelder HD, McGehee DS. Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron* 2000; 27: 349-357.
- [19] Manzanedo C, Aguilar MA, Rodríguez-Arias M, Miñarro J. Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behav Brain Res* 2001; 121: 189-197.

Effects of reversible inactivation of the ventral tegmental area on the firing rate of neurons in the shell sub-region of the nucleus accumbens and on morphine-induced conditioned place preference in the rat

Abbas Haghparast (Ph.D)*, Mahsa Moaddab (M.Sc), Mohammad Ebrahimzadeh-Sarvestani (M.Sc), Mojtaba Kermani (M.Sc)

Neuroscience Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 10 May 2011 Accepted: 04 Sep 2011)

Introduction: The mesolimbic dopaminergic system that projects from the ventral tegmental area (VTA) to the nucleus accumbens (NAc) is critical for initiation of opioid reinforcement and reward-related effects of drugs of abuse. In the present study, the effects of reversible inactivation of VTA on firing rate of nucleus accumbens neurons and on acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference (CPP) were investigated in rats.

Materials and Methods: Adult male Wistar rats were used in these experiments. In behavioral study, the reversible inactivation of VTA was done through bilateral intra-VTA microinjection of 2% lidocaine during the acquisition and expression of morphine (5 mg/kg; s.c.)-induced CPP and in electrophysiology section, it was done through unilateral intra-VTA microinjection of 2% lidocaine during single unit recording from the NAc neurons. Conditioning score and locomotor activity were recorded by Ethovision software. Firing rate of neurons was recorded by single unit recording technique.

Result: The results showed that bilateral intra-VTA administration of lidocaine significantly decreases the acquisition ($P<0.01$) and expression ($P<0.05$) of morphine-induced CPP compared to their respective saline-microinjected groups. Moreover, intra-VTA administration of lidocaine had no effect on locomotor activity in these experiments. Also, unilateral intra-VTA administration of lidocaine significantly increased the firing rate of nucleus accumbens neurons.

Conclusion: Our results further support the idea that VTA may play an important role in the acquisition and expression of morphine-induced CPP.

Keywords: Ventral tegmental area, Nucleus accumbens, Reversible inactivation, Firing rate, Conditioned place preference, Morphine, Rat

* Corresponding author: Fax: +98 21 22431624; Tel: +98 09122149857
haghparast@yahoo.com