مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد
سال یازدهم ، شماره سوم ، پاییز ۱۳۸۲ ، ص ۳۸
Archive of SID

فعالیت نرونی هسته اکومبنس متعاقب تحریک الکتریکی هسته خلفی سجافی در خلال خودمصرفی هروئین در رات

دکتر علی اصغرپورشانظری [۱]، دکتر علی رفعتی [۲]، دکتر حجت ا..علایی [۳]

چکیده

مقدمه: هسته اکومبنس بطنی NAS (Nucleus Accumbens Septi) و هسته خلفی سجافی NRD Mucleus Raphe Dorsalis از جمله مهمترین هسته های درگیر در اعتیاد می باشند. ثبت خارج سلولی از سلولهای هسته اکومبنس بطنی متعاقب تحریک الکتریکی هسته خلفی در خلال خودمصرفی هروئین در موشهای بیهوش شده با هالوتان به عمل آمد. **روش بررسی :** در این تحقیق تجربی ، تحریکات الکتریکی (30 min: pulse 0.5ms, 15 μ A,20Hz) A در بخشهای قدامی-خلفی هسته سجافی اعمال شد. خود مصرفی هروئین در هر روز برای ۲ ساعت انجام گرفت و در هر مرحله تعداد خودتزریقی وتعداد فشار دادن اهرم اندازه گیری شد. در پایان روز دهم فعالیت خودبخودی سلولهای NAS ثبت گردید . هم چنین پاسخ این سلولها متعاقب تزریق هروئین (۰/۵ mg/kg s.c.) و سپس نالوکسان(۵ mg/kg s.c.) ثبت گردید . **یافته ها :** نتایج این تحقیق نشان داد که اعمال تحریکات الکتریکی درNRD منجر به کاهش خودمصرفی هروئین و تأخیر در وابستگی به مورفین در خلال یک دوره ۱۰ روزه شد. این نتایج کاهش معنی داری را در تعداد تزریقات در گروه تحریکی نسبت به گروه کنترل که تحریکات الکتریکی دریافت نکرده بودند نشان می دهد ($p<0.01$). فعالیت خودبخودی سلولهای NAS در گروه دریافت کننده هروئین نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($p<0.01$)، اما اعمال تحریکات الکتریکی درNRD از کاهش فعالیت خودبخودی سلولهای NAS جلوگیری کرد.تزریق هروئین در هنگام ثبت خارج سلولی اثرات متفاوتی گذاشت. در مجموع از ۹۶ سلول ثبت به عمل آمد که ۵۹ عدد بدون تغییر ، ۲۲ عدد به هنگام تزریق هروئین تحریک و ۱۵ سلول دیگر به هنگام تزریق هروئین مهار شدند که نالوکسان این اثرات را معکوس کرد. **نتیجه گیری :** این تحقیق نقش تحریکات الکتریکی در NRD را در جلوگیری از اختلالات رفتاری و الکتروفیزیولوژیک تأیید می کند و از آنجا که مصرف مزمن هروئین با تنظیم کاهشی باعث تضعیف سیستم نروترانسمیتری از قبیل سروتونین و دوپامین می شود، چنین تصور می شود که تحریکات الکتریکی درNRD باعث تقویت سیستم نروترانسمیتری سروتونین و اوپیوئیدهای درون زا می شود که این تحریکات در نهایت منجر به تعدیل فعالیت نرونهای NAS می شود.

واژه های کلیدی : تحریکات الکتریکی،هسته سجافی خلفی، هسته اکومبنس ، هروئین

مقدمه

سروتونین یکی از مهمترین نروترانسمیترهای درگیر در اعتیاد و هسته خلفی سجافی(NRD) نیز مهمترین جایگاه سنتز و آزادشدن این ماده میانجی می باشد. تحریک الکتریکی NRD می تواند منجر به آزاد شدن سروتونین و نیز برخی از اوپیوئیدهای

۱و۲- استادیار گروه فیزیولوژی
۳- دانشیار گروه فیزیولوژی
۱- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی رفسنجان
۲- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد
۳- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی اصفهان

www.SID.ir

Archive of SID

درون زا شود. نواحی ویژه ای از مغز در کنترل رفتاری اعتیاد نقش دارند. یکی از این نواحی مهم ، هسته خلفی سجافی Nucleus Raphe Dorsalis) NRD) می باشدکه به ویژه در اعتیاد به اوپیوئیدها نقش دارد [۱،۲]. این ناحیه حاوی اجسام سلولی و گیرنده هایی برای سروتونین و اوپیوئیدهای درون زا می باشد که به همین لحاظ برخی داروها و مواد می توانند اثراتشان را در این نواحی اعمال کنند [۳،۴]. تحریکات الکتریکی هسته های مغز میانی اثرات بارزی بر ترشح سروتونین (5-HT) از پایانه های آکسونی این نواحی داشته است.NRD از محلهای قرار گرفته در مسیرهای نزولی و صعودی می باشدکه در تعدیل مکانیسمهای وابستگی در اعتیاد نقش دارد و این مکانیسم تعدیلی خود تحت تأثیر تحریکات الکتریکی قرار می گیرد [۵،۶]. به علاوه نشان داده شده است که سروتونین در مکانیسمهای بروز علایم سندرم قطع مصرف مورفین سهیم می باشد [۷،۸]. همچنین بسیاری از اختلالات روانی مشاهده شده در روند اعتیاد و ترک آن با دخالت سروتونین به انجام می رسدکه از جمله این اختلالات می توان به استرس و اضطراب ناشی از ترک هروئین اشاره نمود [۱،۹].

در این تحقیق نقش تحریکات الکتریکی درNRD هم از لحاظ رفتاری و هم از جنبه الکتروفیزیولوژیکی مورد مطالعه قرار گرفت. در مطالعات رفتاری ، وابستگی روانی با روش خودمصرفی (Self - Administration)مورفین مورد ارزیابی قرار گرفت که رفتار جستجو برای دریافت دارو (تمایل) در این روش به خوبی قابل بررسی است [۱۱]. در مطالعات الکتروفیزیولوژیکی، ثبت تک واحدی خارج سلولی(Extracellular Single Unit Recording) از ناحیه NAS به عمل آمد که معیار خوبی برای ارزیابی فعالیتهای نرونی می باشد [۱۲].

روش بررسی

الف-شرایط نگهداری حیوانات: این پژوهش از نوع تجربی است و بر روی موشهای صحرایی نژاد ویستار (wistar) با میانگین وزنی۱۰gr ±۲۰۰gr انجام شده است . حیوانات در طول مدت آزمایش در در دمای ۲ ±۲۳ درجه سانتی گراد با دسترسی کامل به آب و غذا زندگی کرده و چرخه روشنایی و تاریکی آنها به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تغییرداده شد.به طوری که حیوانات در مرحله تاریکی که دارای فعالیت می باشند تحت آزمون قرار گرفتند.

ب - نحوه جراحی : تمامی حیوانات با استفاده از کتامین 150mg/kg i.p. و رمپون 0.1mg/kg (شرکت sigma) بیهوش شدند و پس از تأیید بیهوشی شکاف کوچکی در ناحیه گردن ایجاد و ورید وداجی سمت راست آشکار می گردید و بعد از ایجاد شکاف کوچکی در ورید، انتهای باریک کانول را در جهت قلب وارد ورید کرده تا برجستگی کانول وارد رگ گردد، سپس توسط گره ای از نخ سیلک کانول در ورید ثابت می شد. بقیه کانول از زیر پوست گردن بطرف پشت عبور داده شده و در نهایت از پشت سر حیوان و بین دو گوش از پوست خارج می شد.در ادامه جراحی به منظور کاشت الکترودهای تحریکی ، حیوانات در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند.

الکترودهای تحریکی(Bipolar Coaxial Stainless Steel , SNEX 100) براساس اطلس Paxinos و Watson با مشخصات (AP = 0.7mm L = 0.0mm, V = 4.5mm) ، درون هسته NRD قرار داده شدند [۱۳] و سپس با اکریل و سیمان دندانپزشکی محکم شدند. پس از زدن بخیه ، ۵ روز برای بهبودی حیوانات در نظر گرفته شد.

ج-تحریکات الکتریکی (Electrical Stimulation; ES): تحریکات الکتریکی به وسیله استیمولاتور مدل UK 2521 اعمال شد. جریان خروجی ابتدا به وسیله اوسیلوسکوپ 8203 SAIRAN کنترل می شد. امواج تحریکی دارای خصوصیات زیر بودند :

مونوفازیک با پهنای ۰/۵ ms ، جریان ۱۵۰μA وفرکانس ۲۰Hz تحریکات برای زمان ۳۰ دقیقه قبل از تست خود تزریقی اعمال می شد.

www.SID.ir

Archive of SID

د - مراحل آزمون : برای انجام آزمون خود تزریقی ، حیوانات داخل محفظه های استاندارد Self-Administration قرار می گرفتند.

در این محفظه ها یک اهرم تعبیه شده بود که فشار دادن آن منجر به دریافت یک پلت غذا به وزن 45mg می شد که همزمان با آن پمپ پریستالتیک فعال می گردید . با هر بار فشار اهرم پمپ برای ۴ ثانیه فعال می شد که در خلال این مرحله ۳۰µg/kg محلول هروئین (شرکت تماد) در ۰/۱ ml محلول نرمال سالین از طریق کانول متصل به ورید ژوگولار به حیوان تزریق می گردید (در گروه شاهد به جای محلول هروئین از محلول نرمال سالین استفاده شد. در بالای اهرم فوق یک لامپ قرمز وجود داشت که با فشار دادن این اهرم روشن می شد. در طول مدت ۱۰ روز ، روزی ۲ ساعت حیوانات در دستگاه قرار می گرفتند و آزاد بودند تا اهرمها را فشار دهند که در طول این مدت تعداد تزریقات و تعداد فشار دادن هر یک از اهرمها به وسیله رایانه و برنامه نرم افزاری محاسبه شد.

ه-ثبت فعالیت خارج سلولی : برای ثبت فعالیت الکتریکی سلولهای NAS ابتدا حیوانات با استفاده از هالوتان ۵-۴٪ بیهوش و پس از ایجاد شکاف مناسب در پوست پشت سر حیوانات به دستگاه استریوتاکسی منتقل شدند.محل الکترودهای ثبت کننده بر اساس اطلس پاکسینوس مشخص شد to 1.5 mm lateral midline, 2.0mm anterior to bregma , and 7.0mm ventral) سپس با دریل سوراخی در جمجمه ایجاد و الکترودهای شیشه ای پر شده با NaCl 2M (5-19MΩ) در محل ثبت قرار داده شدند.

سیگنالها پس از عبور از آمپلی فایر Grass P511 (Quincy , MD , USA) به دستگاه Window discriminator (BAK Electronic , Germantown , MD , USA) منتقل شدند.سیگنالها پس از رویت در اوسیلوسکوپ، برای تجزیه و تحلیل از طریق A/D به کامپیوتر انتقال یافتند.

و-کنترل موقعیت الکترودهای تحریکی و ثبتی : در انتهای هر آزمایش ، مغز حیوانات خارج توسط رنگ آمیزی با کریستال ویولت و مقطع گیری از مغز ، محل الکترودها شناسایی می گردید. داده ها تنها در صورتی مورد تجزیه و تحلیل قرار می گرفتند که محل الکترودها دقیقاً در NRD و NAS بوده باشند.

ز-طراحی آزمون و روشهای آماری : حیوانات در گروههای ۸ تایی تقسیم بندی شدند و بعد از اینکه همگی تحت جراحی برای کانول و الکترود گذاری قرار گرفتند ، به سه دسته تقسیم شدند :

۱- گروه شاهد (Sham) : بدون دریافت تحریکات الکتریکی و هروئین بوده که به جای هروئین ، نرمال سالین دریافت می کردند.

۲- گروه کنترل (Control) :که این گروه تحریکات الکتریکی دریافت نمی کردند و تنها در آزمون خود مصرفی هروئین می گرفتند.

۳- گروه تحریکی(ES+heroin):این گروه قبل از دریافت مورفین به روش خود تزریقی طی مدت ۳۰ دقیقه تحریکات الکتریکی دریافت می کردند. نتایج که عبارت از میانگین تعداد تزریقات (Mean ± S.E.M) ، تعداد فشار دادن اهرم و Basal Firing Rate بودند از طریق آنالیز واریانس ANOVA و ANOVA Repeated Major مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج

الف- بررسی نتایج حاصل از تحریکات الکتریکی نسبت به تعداد تزریقات در یک دوره ۱۰ روزه (هر روز به مدت ۲ ساعت). این نتایج کاهش معنی داری را در تعداد تزریقات گروه تحریکی نسبت به گروه کنترل که تحریکات الکتریکی دریافت نکرده). اگر چه تعداد تزریقات در گروه($p<0.01$)بودند نشان می دهد تحریکی نسبت به کروه کنترل کمتر است که این کاهش خود مبین کاهش تمایل رتها برای دریافت هروئین است، اما در مقایسه).($p<0.05$)با گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان می دهد افزایش تعداد تزریقات در گروه کنترل که تحریکات الکتریکی

www.SID.ir

Archive of SID

با گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان می دهد ($p<0.05$). افزایش تعداد تزریقات در گروه کنترل که تحریکات الکتریکی دریافت نکرده بودند نسبت به گروه شاهد بیانگر افزایش میزان تمایل به مورفین است ($p<0.05$).

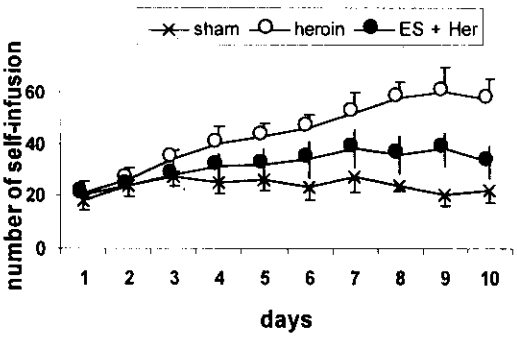
تفاوت بین گروه دریافت کننده هروئین(heroin) و گروه دریافت کننده تحریکات الکتریکی قبل از هروئین(ES+heroin) از روز پنجم به بعدبا $p<0.05$ و از روز هفتم با $p<0.01$ معنی دار بودند.

ب - اثر تحریکات الکتریکی هسته خلفی سجافی(NRD) بر میانگین فعالیت خودبخودی سلولهای هسته اکومبنس(NAS) در روز دهم خود مصرفی(Self-Administration).

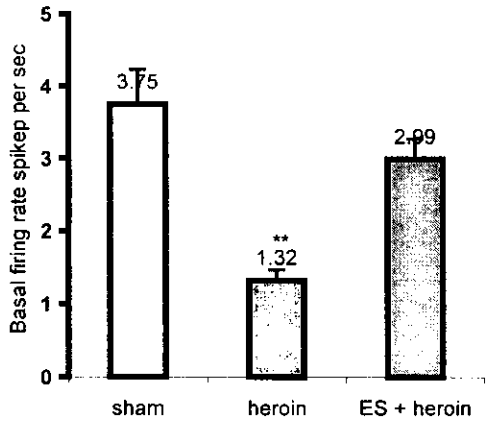
این نتایج نشان دهنده کاهش فعالیت خودبخودی (Basal Firing Rate) سلولهای هسته اکومبنس به هنگام ثبت خارج سلولی در گروه دریافت کننده هروئین در مقایسه با گروه شاهد می باشد($p<0.01$). اما در گروه دریافت کننده تحریکات(ES+ heroin) با وجود مصرف هروئین کاهشی در Basal Firin Rate سلولهای اکومبنس دیده نمی شود. شکل ۲: مقایسه میانگین فعالیت خودبخودی (Basal firing rate) در سلولهای هسته اکومبنس(NAS) در روز دهم خود مصرفی (Self-Administration) در سه گروه شاهد(sham)، کنترل (control) همراه با دریافت هروئین و گروه تحریک شده (ES+ heroin) که تحریکات الکتریکی را قبل از هروئین دریافت کرده اند. در شکل (۲) نشان داده شده است . همانطور که ملاحظه می گردد تفاوت بین گروه دریافت کننده هروئین و گروه شاهدمعنی دار می باشد ($p<0.01$).

ج_ اثرات مصرف حاد هروئین و نالوکسان بر ثبت خارج سلولی NAS

در این مرحله فعالیت الکتروفیزیولوژیک سلولهای NAS پس از تزریق محلول هروئین(0.5mg/kg s.c.) و سپس نالوکسان (5mg/kg s.c.) بررسی گردید.پاسخ سلولها در این مرحله متفاوت بود. در مجموع از ۹۶ سلول ثبت به عمل آمد که در هر مورد شروع ثبت ۳-۲ دقیقه پس از تزریق بود و در نتیجه ۵۹ عدد بدون تغییر ، ۲۲ عدد به هنگام تزریق هروئین تحریک شدند که نالوکسان این اثرات را معکوس کرد(شکل A -۳) و ۱۵ سلول دیگر به هنگام تزیق هروئین مهار شدند که نالوکسان این اثرات را معکوس کرد(شکل B -۳).منظور از تحریک یا مهار ، حداقل ۲۰٪ تغییر نسبت به فعالیت پایه می باشد.



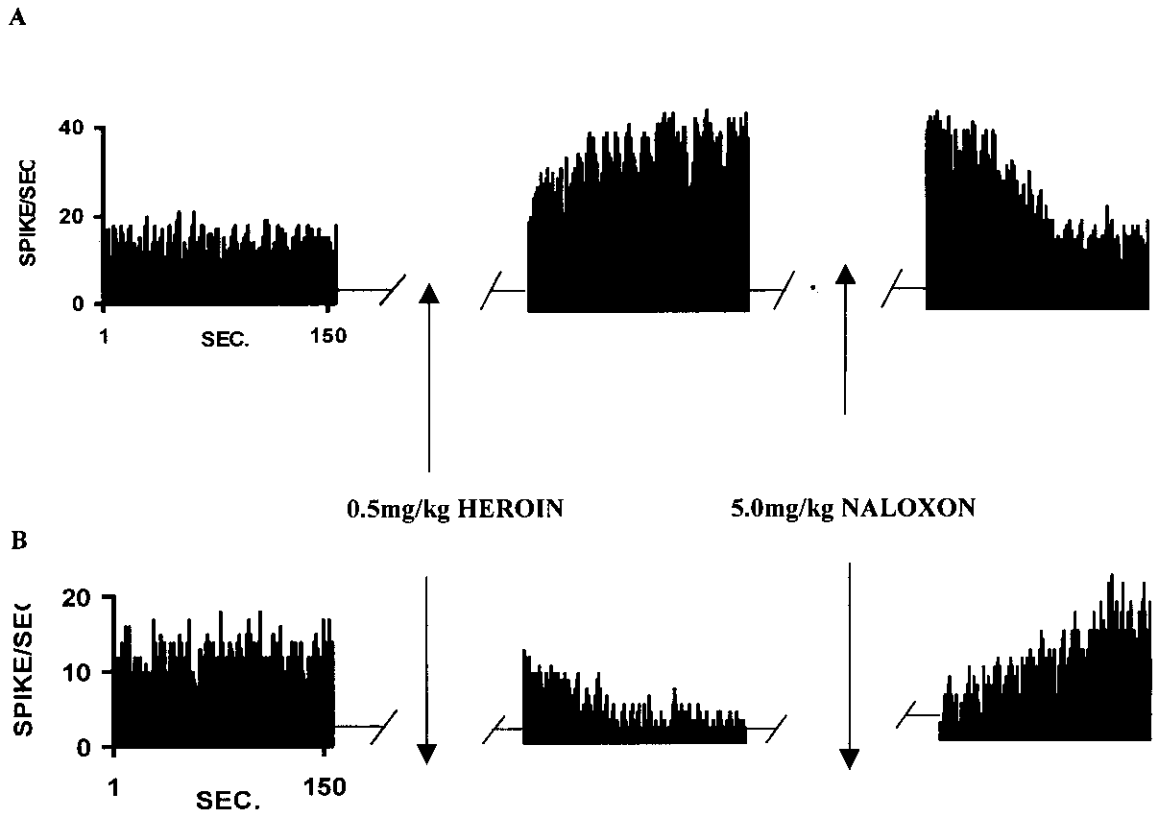
شکل ۱: مقایسه میانگین تعداد خود تزریقی در یک دوره ۱۰ روزه در سه گروه شاهد(Sham) ، کنترل(Control)همراه با دریافت هروئین و گروه تحریک شده (ES+ heroin) که تحریکات الکتریکی را قبل از هروئین دریافت کرده اند.



شکل۲: اثر تحریکات الکتریکی هسته خلفی سجافی(NRD) بروی میانگین فعالیت خودبخودی(Spike/sec) سلولهای هسته اکومبنس(NAS) در روز دهم خود مصرفی(Self-Administration) در سه گروه شاهد (Sham)، کنترل(Control) همراه با دریافت هروئین و گروه تحریک شده (ES+ heroin) که تحریکات الکتریکی را قبل از هروئین دریافت کرده اند..

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳ : ثبت فعالیت خارج سلولی (Spike/Sec) سلولهایNAS پس از تزریق محلول هروئین (0.5mg/kg s.c.) و سپس نالوکسان (5mg/kg s.c.).

بحث

روش استفاده از تحریکات الکتریکی در نواحی متعدد مغزی سالهاست که مورد استفاده کلینیکی قرار می گیرد که این روشها بیشتر به عنوان متدهای کمکی همراه با روشهای روان - دارویی جهت کاهش اختلالات روانی و رفتاری مورد استفاده قرار گرفته اند [۱۴].

هدف از این تحقیق ، بررسی اثر تحریکات الکتریکی در هسته خلفی سجافی(NRD) بر روی ایجاد خود تزریقی و وابستگی به هروئین بوده است به همین لحاظ با استفاده از متد Self - Administration ، قبل از ایجاد وابستگی ، از تحریکات الکتریکی استفاده شده است. NRD حاوی اجسام سلولی و گیرنده هایی برای سروتونین و اوپیوئیدهای درون زا می باشد که به همین لحاظ برخی داروها و مواد می توانند اثراتشان را در این نواحی اعمال کنند [۳،۴].

NRD یکی از محلهای قرار گرفته در مسیرهای نزولی و صعودی می باشدکه در تعدیل مکانیسمهای وابستگی در اعتیاد نقش دارد و این مکانیسم تعدیلی ، خود تحت تأثیر تحریکات الکتریکی قرار می گیرد [۵،۶]. شواهد کافی در دست است که تحریکات الکتریکی در NRD منجر به افزایش توان رهایش سروتونین در ناحیه جلوی لب پیشانی و هیپوتالاموس می شود [۱۵] . از طرفی سروتونین خود می تواند مکانیسمهای پاداشی وابسته به دوپامین را تعدیل کند [۱۰،۱۶].

غلظت پایین اندورفین، سروتونین و دوپامین در مطالعات میکرودیالیز به طور مکرر در اعتیاد به مورفین نشان داده شده

www.SID.ir

Archive of SID

است بطوری که برخی از محققین فرضیه نقصان اندورفینی را برای اعتیاد مطرح کرده اند [۱۶،۱۷، ۱۸].

اگرچه ما از تمامی اثرات رفتاری اینگونه تحریکات اطلاع کافی نداریم ،اما نتایج حاصله از این طرح نشان می دهند که اینگونه تحریکات توانسته اند میل به دریافت ماده مخدر را کاهش دهند(شکل ۱). این اثرات در گروه تحریک شده زود بروز کرده اند بطوری که اثرات بعد از پنج روز بارز و مشهود بوده اند . بررسی علایم سندرم قطع مصرف مورفین بعد از تزریق نالوکسان نشان می دهند که تحریکات الکتریکی توانسته اند وابستگی فیزیکی به مورفین را کاهش دهند. شواهدی وجود دارند که نشان دهنده ی وابستگی فیزیکی در حیوانات معتاد ناشی از سطح پایین دوپامین، سروتونین و برخی اوپیوئیدهای درون زا می باشد [۱۷،۱۸،۱۹] . برخی محققین عقیده دارند که اختلال در سیستم اندورفینی دراثر مصرف داروهای غیرمجاز یکی از عوامل اصلی بروز وابستگی فیزیکی است [۱۷،۲۰] .ثبت فعالیت الکتروفیزیولوژیک سلولهای مغزی در مراکز درگیر با اعتیاد دارویی ، معیار خوبی برای ارزیابی میزان وابستگی و اختلالات ناشی از آن می باشد[۲۱]. در این تحقیق نیز اثرات مصرف مزمن هروئین همراه با کاهش Basal Firin Rate در سلولهای NAS بوده است که اعمال تحریکات الکتریکی درNRD باعث تعدیل اینگونه فعالیتها گردیده است(شکل ۲) . مطالعات جدید نشان داده اند که عواملی مثل اعمال تحریکات الکتریکی می توانند رهایش دوپامین که از میانجی های اصلی در روند ایجاد وابستگی می باشد را تحت تاثیر قرار دهند[۲۲] . در مطالعه ای که توسط Uri Shalev و همکارانش در رابطه با نوروبیولوژی اعتیاد به هروئین صورت گرفت [۲۳] نشان داده شد که تغییر در عملکرد هسته های مغزی از جمله هسته سجافی بوسیله عوامل فارماکولوژیک و غیرفارماکولوژیک می تواند بر روند اعتیاد اثر گذارد.

نتایج تحقیق حاضر نیز با این یافته ها سازگار می باشد بطوری که بر اساس شکل (۳) و نتایج مربوطه تعداد سلولهایی که پس از دریافت هروئین تحریک شده اند بیشتر از سلولهایی می باشند که مهار شده اند.بهر حال می توان چنین حدس زد که تحریکات الکتریکی احتمالا توانسته اند از بروز اختلالات در سیستم نروترانسمیتری جلوگیری کرده و بروز وابستگی فیزیکی را به تأخیر بیاندازند. در مجموع می توان چنین حدس زد که تحریکات الکتریکی هسته های سجافی منجر به تعدیل سیستمهای نروترانسمیتری از قبیل سروتونین و اوپیوئیدهای درون زا گشته و از این طریق توانسته است منجر به تعدیل رفتار تمایل برای دریافت دارو بشود. همچنین احتمالاً این تحریکات با اثر غیرمستقیم بر سیستم پاداشی دوپامین، میل به دریافت دارو را تحت تاثیر قرار داده اند . از طرفی کاملاً مشخص نیست که اثر این گونه تحریکات به روی خود مصرفی مستقیم است یا اینکه اثر ثانویه ای است که از طریق تغییرات علایم روانی دیگری همچون استرس، اضطراب و یا تغییرات خلق و خو به وجود می آید و از طرفی دیگر ، نتایج این مطالعه مؤید نقش هسته های NRD و NAS در اعتیاد و ارتباط نوروآناتومی این مناطق با یکدیگر می باشد.

References

1- Lemarquand. D . ***Serotonin and alcohol intake,abuse and dependence.*** Clinical Evidence Biol Psychiatry , 1994 , 36:320-337.

2- Mcbride.W.G , Ljubic . T . ***Serotonin mechanisms in alcohol drinking behaviour.*** Drug Der Re , 1993 : 177-183.

www.SID.ir

Archive of SID

3- Richard .J.G, Gugenhein. R. ***Serotonergic axons in the brain.*** Neurosci 1982 , 5:14-20 .

4- Liskow. B.I, Goodwin .D.W . ***Pharmacological treatment of morphine intoxication, withdrawal and dependence. A critical review.*** J Stud Alcohol 1987 , 48:356-370.

5- Qiao .J.T, Scolnick .M, Dafney .N. ***Dorsal raphe and external electrical stimulation modulate noxius input to single neurons in nucleus parafascicularis thalami.*** Brain Res Bull 1998 , 21 : 671-675 .

6- Padjen .A.L , Dongier .M , Malec. T . ***Effects of cerebral electrical stimulation on alcoholism.*** Alcoholism:Clinical and Experimental Research 1995 , 19 (4):1004-1010 .

7- Heiner. B, John .R. ***5-HT1 receptor agonits attenuate the naloxone-induced jumping behaviour in morphine-dependence mice.*** EJP 1989 , 162: 19-27 .

8- Anil .G, Hemendra .N . ***Brain and spinal cord 5-HT2 receptors of morphine-tolerant-dependent and-abstinent in rats.*** EJP 1989 , 167:185-192 .

9- Fredrico .G, Francisco. S, Telmia .G . ***Role of 5-HT in stress, anxiety and depression.*** Pharmaco. Biochem. and Behavior 1996 , 54:129-141 .

10- Tomkins .D.M . ***Effects of 5-HT3 antagonist on ethanol intake.*** Psycho Berl 1985 , 117 : 479 .

11- Stewart .J , De Wit . H , Eikelboom . R . ***Role of unconditioned and conditioned drug effects in the self- administration of opiates and stimulants.*** Psychol. Rev 1984 , 91:251-268 .

12- Jing .Y.C, Lingli .Z.P,Patricia .H.J . ***Neuronal responses in prefrontal cortex and nucleus accumbens during heroin self-administration .*** Brain Research 1997 , 754: 12-20 .

13- Paxinos . G, Watson .C.***The rat brain in stereotaxic coordinates.*** Academic Press, New York, 1998

14- Patterson. M.A, Firth .J,Gardiner. R. ***Treatment of drug alcohol and nicotine addiction by neuroelectric therapy.*** J. Bioelectricity 1984 , 3: 193-221.

15- Sharp .T, Bramwell .S.R, Graham .S. ***Release of endogenous 5-HT in rat hypocampus evoked by electrical ,stimulation of dorsal raphe nucleus.*** Neuroscience 1990 , 39:629-637 .

16- Van Ree .J.M, Ramsey .N.F. ***The dopamine hypothesis of opiate reward challenged.*** Eur. J. Pharmacol 1987 , 134: 239-243 .

17- Sweep. C.G.J, Weigant .V.M. ***Beta-Endorphine in brain limbic structures as neurochemical correlate of psychic dependence on drugs.*** Life Sci 1989 , 44:1133-1140 .

18- Lemarquand. D, Pihl .R.O, Benkelfet .C , ***Serotonin and alcohol intake,abuse and dependence.***Biol.Psychiatry 1989 , 36:326-337.

19- Anne. F, Mechanisme of LSD: ***A glimpse into the serotonergic system*** . Biology 202 ; Third web reports.1-3,1999.

20- Tsutomo. S, Ykiji .F,Miwa. M . ***Enhancement of morphine withdrawal signs in the rat after chronic treatment with naloxone.*** EJP 1990 , 178 : 239-242.

21- Ettenberg .A, Pettit. H.O, Bloom.F.E. & Koob . G.F, ***Heroin and cocaine intravenous self-administration in rats,*** Psychopharmacology 1989 , 78 : 204-209 .

22- Tassin .J.P, ***Role of dopamin in drug dependence processes,*** Bull Acad Natl Med 1 2002 , 86 : 295-304 .

23- Uri Shalev, Jeffrey. W. Grimm .Y, ***Neurobiology of Relapse to heroin and cocaine seeking: A Review,*** Pharmacological Reviews. 2002 , 54: 1-42 .

www.SID.ir