# دخالت گیرنده‌های موسکارینی هیپوکامپ پشتی، بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی

**هنگامه ذات‌علی**
گروه علوم جانوری، دانشکده علوم دانشگاه تهران
**دکتر محمدرضا زرین‌دست**[1]
گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
**دکتر آمنه رضایوف**
گروه علوم جانوری، دانشکده علوم دانشگاه تهران
**دکتر علی حائری روحانی**
گروه علوم جانوری، دانشکده علوم دانشگاه تهران
**سمیرا رضوی موحد**
گروه علوم جانوری، دانشکده علوم دانشگاه تهران

**هدف:** هیپوکامپ از مراکز اصلی یادگیری وابسته به پاداش است. با توجه به توزیع وسیع گیرنده‌های موسکارینی در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی، احتمال می‌رود این گیرنده‌ها در یادگیری وابسته به پاداش نقش داشته باشند. در این تحقیق، اثر تحریک یا مهار گیرنده‌های موسکارینی هیپوکامپ پشتی بر پاداش ناشی از مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار با استفاده از روش ترجیح مکان شرطی شده (CPP) بررسی شد. **روش:** این مطالعه به روش تجربی انجام شد. کلیه حیوانات مورد استفاده با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۴۰ گرم به وسیله دستگاه استرئوتاکس در ناحیه $CA_1$ هیپوکامپ پشتی به صورت دو طرفه کانول گذاری شدند. هر حیوان جراحی شده به مدت یک هفته دوران بهبود را قبل از CPP طی کرد. برای این کار از یک برنامه پنج روزه با سه مرحله مجزا استفاده شد، مرحله پیش شرطی سازی، مرحله شرطی سازی که سه روز به طول انجامید و مرحله آزمون یا بیان. **یافته‌ها:** تزریق زیرجلدی مقادیر مختلف سولفات مورفین با استفاده از شرطی سازی سه روزه) و روش Unbiased توانست CPP وابسته به مقدار ایجاد کند. تزریق داخل $CA_1$ مقادیر مختلف فیزوستیگمین (آنتی‌کولین استراز) و آتروپین (آنتاگونیست گیرنده موسکارینی) به طور معنی‌دار، CPP القا شده به وسیله مورفین را به ترتیب تقویت و مهار کردند. تزریق آتروپین به داخل ناحیه $CA_1$، تقویت القا شده به وسیله فیزوستگمین را در پاسخ به مورفین معکوس نمود. **نتیجه‌گیری:** تزریق‌های داخل $CA_1$ فیزوستگمین یا آتروپین، به تنهایی ترجیح یا تنفر مکانی مشخصی را القا نکردند. گیرنده‌های موسکارینی نواحی $CA_1$ هیپوکامپ پشتی، در پاداش ناشی از مورفین نقش مهمی بازی می‌کنند.

*کلید واژه‌ها: اکتساب ترجیح مکان شرطی شده، گیرنده موسکارینی، یادگیری وابسته به پاداش، هیپوکامپ پشتی*

## مقدمه

شواهد متعدد نشان می‌دهند که تزریق مورفین (آگونیست گیرنده اپیوئیدی μ) به حیوانات آزمایشگاهی، می‌تواند به عنوان یک محرک پاداشی عمل کند و سبب القای ترجیح مکان شرطی شده[2] (CPP) شود (ناریتا[3]، فونادا[4] و سوزوکی[5]، ۲۰۰۱). پیشنهاد شده است که سیستم دوپامینی مزولیمبیک، که از ناحیه تگمنتوم شکمی[6] (VTA) شروع و به هسته آکومبنس (Nac) ارسال می‌شود، مهمترین جایگاه مغزی القا کننده پاداش اپیوئیدی است (کوب[7]،

۱ – نشانی تماس: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی.
E-mail: Zarinmr@ams.ac.ir

2- Conditioned Place Preference
3- Narita
4- Funada
5- Suzuki
6- Ventral Tegmental Area
7- Koob



Archive of SID
www.SID.ir

روبلدو[1]، مارکو[2] و کاین[3]، ۱۹۹۳). مطالعات قبلی مـا نـیز حـاکی از آن اسـت کـه جایگاه‌هـای دیـگر مغـزی مثـل هیپوکـامپ (کرمـی، زرین‌دست، سپهری و صحرائـی، ۲۰۰۲) و آمیـگدال (زرین‌دسـت، کرمی، سپهری و صحرائـی، ۲۰۰۲) نقـش مـهمی در القـای پـاداش ناشی از مورفین بازی می‌کنند.

تحقیقات نشان می‌دهند که هیپوکـامپ در یـادگیـری و حافظـه نقش اساسی دارد (اوریت[4] و رابینز[5]، ۱۹۹۷) و در یادگیـری وابسـته به پـاداش نـیز دخـالت می‌کنـد. اهمیـت ایـن نقـش بـه ویـژه وقتـی مشخص می‌شود که حیوان آزمایش شده باید مکان و علایم مرتبط شده بـا مصـرف دارو را بـه یـاد بیـاورد (وایـت[6]، ۱۹۹۶). همچنیـن گزارشـی وجـود دارد کـه هیپوکـامپ نـیز بـرای میـانجیگری بیـان یادگیـری مکـانی (کـامپتون[7]، ۲۰۰۴) ضـروری می‌باشـد. بـرخی از مطالعات مشخص کرده‌اند که سیسـتم‌های نوروترانسـمیتری متعـدد در یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ دخالت دارنـد (هاسـلمو[8] و بـاور[9]، ۱۹۹۳). همچنیـن نشـان داده شـده اسـت کـه سیسـتم کولینرژیکی هیپوکامپ در مراحل شـکل‌گیـری حافظـه (وارگا[10] و همکـاران، ۲۰۰۳) نقـش مـهمی ایفـا می‌کنـد و گیرنده‌هـای موسکارینی موجود در هیپوکامپ برای تشکیل یـادگیـری ارتبـاطی ضروری هستند (ون درزی[11]، بی‌امـانز[12]، گرکمـا[13] و دان[14]،۲۰۰۴). هیپوکامپ انواع ورودی‌های کولینرژیکی را از پیش‌مغز قـاعده‌ای و سپتوم دریافت می‌کند که این برای عملکردهای عادی یادگیـری و حافظه اهمیت دارد (فروسچر[15] و لرانت[16]، ۱۹۸۵).

آثار پاداشی مورفین می‌تواند به وسیله CPP ارزیابی شود (هرز، ۱۹۹۸). اگرچه واضح است که اثـر مورفیـن در سـطح VTA ایجـاد می‌شود (اولمستد[17] و فرانکلین[18]، ۱۹۹۷)، ولی به نظـر می‌رسـد کـه دوپـامین نـیز تنـها نوروترانسـمیتر مسـؤول القـای پـاداش اپیوئیـدی نمی‌باشد (سوزوکی، تسودا[19]، فونادا و میسـاوا[20]، ۱۹۹۵). بـر اسـاس نتایج مطالعات قبلی، سیسـتم‌های نوروترانسـیمتری متعـدد از جملـه گلوتامات (برنز[21]، اوریت و رابینز، ۱۹۹۴)، استیل کولین (شیلدن[22]، هاسـتون[23]، شـوارتینگ[24]، ۲۰۰۲)، گابـا (زرین‌دسـت و همکـاران، ۲۰۰۴)، هیسـتامین (سـوزوکی، تاکـاموری[25]، میسـاوا و اونـودرا[26]، ۱۹۹۵) و نیتریک اکساید در ترجیح مکان القا شده به وسیله مورفین درگیرند. از آنجا که CPP یک الگوی یادگیری است (پیـاپنـون[27]، کیواسـتیک[28]، کاتاجـامکی[29]، ژارکوفسـکی[30] و آتـی[31]، ۱۹۹۷) و گیرنده‌های موسکارینی کولینرژیـک هیپوکـامپ در تنظیـم حافظـه دخیل‌اند، در مطالعه حاضر آثار تزریق‌های داخل $CA_1$ آگونیست و آنتاگونیست گیرنده موسکارینی بـر پـاداش مورفیـن سـنجیده شـده است.

## روش

در این پژوهش تجربی، از موش‌های بزرگ آزمایشگاهی[32] نـر نژاد ویستار[33] با میانگین وزنـی ۲۲۰ تـا ۲۵۰ گرم اسـتفاده شـد. ایـن حیوانـات از انسـتیتو پاسـتور ایـران تهیـه و بـه صـورت گروه‌هـای چهارتایی نگهداری شدند و برای آنکه به محیط جدید عادت کنند حـدود یـک هفتـه قبـل از شـروع آزمـایش، بـه حیوانخانـه منتقـل گردیدند. غذای آنان از کارخانه دام پارس بـه صـورت آمـاده تهیـه شد. محل نگهداری حیوانـات دارای دوره روشـنایی – تـاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ۷ صبح) و دمای۲±۲۲ درجه سانتیگراد بـود و آزمایش‌ها در زمان معینی از روز انجام مـی‌گرفـت. در هـر گروه تجربی هشـت حیـوان وجـود داشـت و هـر حیـوان فقـط یک‌بـار آزمایش می‌شد.

دستگاه سه قسمتی ترجیح مکان شرطی‌شده از چوب و بـر پایـه طرح کـار و وایـت (۱۹۸۳) سـاخته شـده اسـت. دو قسـمت اصلـی دستگاه یعنی A و B هم اندازه هسـتند، ولـی دیواره‌هـای قسـمت A سفید با نوارهای طولی مشـکی بـه عـرض دو سـانتی‌متر بـه صـورت راه‌راه اسـت و یـک کـف تـوری مشـبک دارد. قسـمت B دارای دیواره‌های سیاه با نوارهای سـفید افقـی بـه عـرض دو سـانتی‌متر بـه

1- Robledo
2 - Markou
3- Caine
4 - Everitt
5- Robbins
6 - White
7- Compton
8 - Hasselmo
9- Bower
10 - Varga
11- Van der Zee
12 - Biemans
13- Gerkema
14 - Daan
15- Frotscher
16 - Leranth
17- Olmstead
18- Franklin
19- Tsuda
20 - Misawa
21- Burns
22 - Schildein
23- Huston
24 - Schwarting
25- Takamori
26 - Onodera
27- Piepponen
28 - Kivastik
29- Katajamaki
30 - Zharkovski
31- Ahtee
32- Rat
33- Wistar



Archive of SID

www.SID.ir

صورت راه‌راه و یک کف چوبی صاف است. قسمت سوم (c) یک تونل قرمز رنگ است که درهـای ورودی قسـمت‌هایA و B را بـه یکدیگر مرتبط می‌کند. دستگاه به وسیله یک درب گیوتینی به سـه قسمت کاملاً مجزا تقسیم می‌شود.

طـی آزمایش‌هـا از ایـن مـواد اسـتفاده شـد: (۱) کتـامین هیدروکلرایـد و زایلزیـن کـه بـه عنـوان داروهـای بی‌هوشـی و بـه صورت درون صفاقی تزریق شدند، (۲) مورفین سولفات تهیه شـده از شرکت تماد ایران که به صـورت پـودر سـفید رنـگ اسـت و بـه علت حساسیت باید دور از نور نگهداری شود، (۳) فیزوستیگمین به عنوان آگونیست گیرنده‌های موسکارینی، (۴) آتـروپیـن بـه عنـوان آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی.

قبل از انجام عمل جراحی برای کانول‌گذاری، حیوان وزن شـد و سپس داروی بیهوشی مخلوط کتامین هیدروکلرایـد (۵۰mg/kg) و زایلزین (۴mg/kg) به صورت درون صفاقی با سرنگ انسولین بـه حیوان تزریق گردید. پس از بیهوشی کامل موهای سرحیوان قیچـی و حیوان درون دسـتگاه اسـترئوتاکس قـرار داده می‌شـد. سـپس بـه وسیله اسکالپل ضد عفونی شده، پوست روی جمجمه از ناحیـه بیـن دو چشم تا انتهای استخوان پس سری به صورت طولی شکاف داده و پوست سر به وسیله گیره‌هایی به طرفین کشـیده شـد. بعـد بـا پنبـه آغشته بـه بتـادین، محـل شـکاف ضدعفونـی گردیـد و عضـلات و بافت‌های پیوندی زیرین برداشته و استخوان با پنبه آغشـته بـه الکـل سفید تمیز شد تا محل برگما و لامبدا مشخص شـود. بـرگمـا محـل تقـاطع درز تـاجی و درز سـهمی اسـت. درز تـاجی محـل اتصـال اسـتخوان‌های پیشـانی و آهیانـه و درز سـهمی شـکاف بیـن استخوان‌های آهیانه می‌باشد. پس از تعیین نقاط برگمـا و لامبـدا بـر اسـاس اطلـس، مختصـات محـل کـانول‌گذاری بـرای ناحیـهٔ $CA_1$ هیپوکامپ پشتی به این شرح مشخص گردیـد: از بـرگمـا ۳ تـا ۳/۵ میلی‌متر = قدامی خلفی (AP)، از خط وسط ۱/۸± تا ۲± میلی‌مـتر= میـانی – جـانبی (ML) و ازسـطح جمجمـه ۳- تـا ۲/۲- میلی‌مـتر= خلفی – شکمی (DV).

پس از تنظیم مختصات دستگاه در راستای قدامی – خلفی و نیز میانی – جانبی، محل ناحیه قاعده‌ای – جانبی $CA_1$ هیپوکامپ پشتی روی جمجمه با جوهـر علامـت‌گذاری و سـپس بـه وسـیله متـه، دو سوراخ روی استخوان جمجمه تا پردهٔ مننـژ ایجـاد شـد. دو سـوراخ کم عمق دیگر هم در ناحیـه دیـگر جمجمـه بـرای نصـب پیچ‌هـای عینک ایجاد گردید. سپس با کمک دستگاه اسـترئوتاکس، کـانول راهنما به طول ۱۰ میلی‌مـتر (تهیـه شـده از سـر سـوزن ۲۲ گیـج) در درون سوراخ ایجادشده، یک میلیمتر بالاتر از ناحیه $CA_1$ قـرار داده شد. آن‌گاه اطراف آن به وسیله آکریل دندانپزشکی کـه بـا محلـول مونومر مخلوط شده، پوشانده شد. به این ترتیـب کـانول راهنمـا در محل مورد نظر با سفت شدن سـیمان دندانپزشـکی محکـم گردیـد. برای اینکه مجرای کانول بسته نشود، با سیم فولادی ضد زنـگ کـه به اندازه کانول بود تا زمان تزریق دارو مسدود گردید. بعد از پایـان جراحی، جهت بهبود و از بین رفتن استرس جراحـی یـک هفتـه بـه حیوانات استراحت داده شد و بعد از پایان این مدت مورد آزمـایش قرار گرفتند.

## روش ترجیح مکان شرطی‌شده

اساس ترجیح مکان شرطی شده طرح غیرطرفدار می‌باشد که بر پایهٔ روش دفونسکا و همکاران (۱۹۹۵) پایه ریزی شـده اسـت. ایـن روش شامل یک برنامه پنج روزه با سه فـاز مشـخص اسـت: مرحلـه پیش از شرطی‌سازی، مرحله شرطی‌سازی و مرحله آزمون.

مرحله پیش از شرطی‌سازی:

این مرحلـه اولیـن روز دوره بـود. در ایـن روز دریچـه‌های بیـن قسمت C و قسمت‌های A و B باز شد و هر حیوان ۱۵ دقیقه داخـل دستگاه CPP قرار گرفت تـا آزادانـه در محیـط گردش نمـاید و بـه منظور تخمین ترجیـح، زمـان توقـف در هـر خانـه پیـش از مراحـل شرطی شدن اندازه‌گیری گردید. موقعیت حیوان به وسـیله موقعیـت سـر و دسـت‌های جلویـی تعییـن می‌شـد. موش‌هـا بـه‌طور ذاتـی در قسـمت A، تـوری سـیمی و در قسـمت B رنـگ سـیاه را ترجیـح می‌دهند. بنابراین قبل از تزریق مورفین، حیوانات هر دو قسمت را به یک اندازه ترجیح دادند و گرایش خاصی به هیچ‌یک از دو قسمت وجود نداشت.

مرحله شرطی سازی:

این مرحله یک روز بعد از مرحله پیش از شـرطی سـازی آغـاز شد و شامل روزهای دوم، سوم و چهارم آزمایش بود. این مرحله از



Archive of SID

www.SID.ir

شش نشست ۴۵ دقیقه‌ای تشکیل شده بود. (سه سالین و سه دارو) که در هر روز دو مرحله تزریق انجام می‌گرفت.

در صبح اولین روز این مرحله، حیوانات بلافاصله بعد از تزریق زیر جلدی مورفین سولفات، ۴۵ دقیقه در قسمت سفید دستگاه (A) قرار گ‌رفتند. بعد از شش ساعت، در عصر همان روز حیوانات به جای دارو، سالین دریافت کردند و ۴۵ دقیقه در قسمت سیاه دستگاه (B) قرار گرفتند. در طی مدت قرارگیری در هر قسمت، درب‌های گیوتینی بسته بودند. در صبح دومین روز با رعایت شرایط زمانی دیروز، حیوانات صبح سالین دریافت کرده، ۴۵ دقیقه در قسمت سیاه قرار داده شدند و عصر نیز دارو گرفتند، ۴۵ دقیقه در قسمت سفید محصور شدند. در سومین روز شرطی‌سازی،حیوانات مراحل تزریق را همانند روز اول طی کردند. برای مطالعه آثار آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های کولینرژیک، تزریق این عوامل به داخل $CA_1$ هیپوکامپ پنج دقیقه قبل از تزریق‌های زیرجلدی مورفین سولفات، در طی شرطی‌سازی صورت گرفت. دفونسکا و همکاران (۱۹۹۵) معتقدند که این نوع شرطی‌سازی دو نوبته صبح و عصر برای جلوگیری از تغییرات دوره شبانه روزی در بدن موش‌های بزرگ آزمایشگاهی مفید می‌باشد.

برای تزریق دارو به داخل ناحیهٔ $CA_1$ هیپوکامپ، از یک کانول تزریق که به وسیله لوله پلی‌اتیلنی به سرنگ هامیلتون دو میکرولیتری متصل شده بود، استفاده گردید. هنگام تزریق، ابتدا سیم فولادی داخل کانول راهنما بیرون آورده شد و کانول تزریق به آرامی درون کانول راهنما قرار گرفت. به هر یک از کانول‌ها، ظرف مدت یک دقیقه، ۰/۵ میکرولیتر دارو تزریق شد. پس از گذشت یک دقیقه از تزریق، کانول تزریق خارج و سیم فولادی جایگزین گردید.

مرحله پس از شرطی‌سازی (مرحله آزمون):

در روز پنجم دوره، مانند روز اول دریچه باز شد و موش‌ها در قسمت C قرار داده شدند و به آنها اجازه داده شد که ۱۵ دقیقه آزادانه هر سه قسمت را جست‌وجو کنند. هر حیوان فقط یک‌بار آزمایش می‌گردید. زمان سپری شده در قسمت دریافت مورفین و دارو برای هر حیوان ثبت شد. برای حیواناتی که مورفین و دارو را در قسمت A دریافت کرده بودند، اختلاف بین زمان سپری شده در قسمت A در روز آزمون و روز پیش از شرطی‌سازی، و برای حیواناتی که در قسمت B مورفین و دارو دریافت کرده بودند، اختلاف بین زمان سپری شده در قسمت B در روز آزمون و روز پیش از شرطی‌سازی محاسبه گردید. این متغیر به عنوان شاخص ترجیح مکانی ناشی از دارو مورد استفاده قرار گرفت.

در طی مرحلهٔ آزمون (CPP) فعالیت حرکتی نیز مورد سنجش قرار گرفت. بدین منظور در کف هر یک از قسمت‌های A و B دو خط عمود بر هم به شکل بعلاوه (+) کشیده شد، طوری که چهار مربع مساوی به وجود آمد. هربار که حیوان در یکی از مربع‌ها قرار می‌گرفت، به عنوان یک فعالیت حرکتی برایش ثبت می‌شد. در پایان آزمون، تمامی تعداد دفعاتی که حیوان در مربع‌های هر دو قسمت A و B قرار گرفته بود، محاسبه و به عنوان نمادی از فعالیت حرکتی در نظر گرفته شد.

## مراحل آزمایش‌ها

***۱- آزمایش اول (منحنی دوز- پاسخ برای CPP مورفین).*** برای به دست آوردن منحنی دوز - پاسخ مقادیر مختلف مورفین (۰/۵، ۱، ۳ و ۶ mg/kg) به صورت تزریق زیرجلدی استفاده شد. چهار گروه از حیوانات در مرحله شرطی‌سازی به تناوب مورفین و سالین زیرجلدی دریافت کردند. گروه دیگری نیز به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد که به آنها در کل مرحله شرطی‌سازی فقط سالین تزریق گردید. فعالیت حرکتی نیز در مرحله آزمون سنجیده شد.

***۲- آزمایش دوم (آثار فیزوستیگمین، آگونیست گیرنده موسکارینی با یا بدون مورفین بر اکتساب CPP).*** اثر فیزوستیگمین بر اکتساب CPP، در طی مرحله شرطی‌سازی، به سه گروه از حیوانات ابتدا به صورت درون هیپوکامپی فیزوستیگمین (۲، ۴ و ۸ µg/rat) و بلافاصله بعد از آن به صورت زیرجلدی سالین (۱ml/kg) تزریق شد. بنابراین بدون حضور مورفین توانایی القای CPP به وسیله آگونیست گیرنده موسکارینی مورد ارزیابی قرار گرفت. اما گروه کنترل در طی مرحله شرطی‌سازی ابتدا یک تزریق درون هیپوکامپی سالین (۱ µl/rat) و بلافاصله بعد از آن تزریق زیرجلدی سالین (۱ ml/kg) دریافت کرد. همه گروه‌ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، آزمایش شدند و در طی مرحله آزمون فعالیت



Archive of SID
www.SID.ir

حرکتی آنها اندازه‌گیری شد.

برای ارزیابی اثـر فیزوسـتیگمین بـر اکتسـاب CPP مورفیـن، چـهار گروه از حیوانات در طـی مرحلـه شرطی‌سـازی، بـه صـورت درون هیپوکامپی سالین (µl/rat ۱) یـا فیزوسـتیگمین (۲، ۴ و ۸ µl/rat) را بلافاصله پیش از مورفین زیرجلدی (۰/۵ mg/kg) دریـافت کردنـد. تمامی حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریـق، بـدون هیـچ‌گونـه تزریقی در هنگام آزمون آزمایش شـدند و در طـی مرحلـه آزمـون فعالیت حرکتی آنها نیز سنجیده شد.

***۳- آزمایش سوم آثار آتروپین، آنتاگونیست گیرنده موسکارینی با و یا بدون مورفین بر اکتسـاب CPP.*** بـرای بررسـی اثـر آتـروپیـن بـر اکتساب CPP، توانایی تزریق درون هیپوکامپی آتـروپیـن (۱، ۴ و ۷ µl/rat) در القای CPP، تحت یک مرحله شرطی‌سازی سه روزه در سه گروه از حیوانات آزمایش شـد. یـک گروه دیـگر سـالین درون هیپوکامپی (µl/rat ۱) همراه با سالین زیـر جلـدی (ml/kg ۱) را در طی مرحلـه شرطی‌سـازی دریـافت کـرد و بـه عنـوان کنـترل مـورد استفاده قرار گرفت. در همه گروه‌ها، در طـی مرحلـه شرطی‌سـازی فعالیت حرکتی نیز سنجیده شد.

برای بررسی اثر آتروپین بر اکتساب CPP مورفین، چـهار گروه از حیوانـات مقـادیر مختلـف درون هیپوکـامپی آتـروپیـن (۱، ۴ و ۷ µl/rat) یا سالین (µl/rat ۱) را بلافاصله قبل از تزریق زیـر جلـدی مورفین سـالین (mg/kg ۶) در طـی مرحلـه شرطی‌سـازی دریـافت کردند. همه حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق شرطی‌سازی، بدون هیچ تزریقـی در روز آزمـون آزمـایش شـدند و در طـی ایـن مرحله فعالیت حرکتی آنها اندازه‌گیری شد.

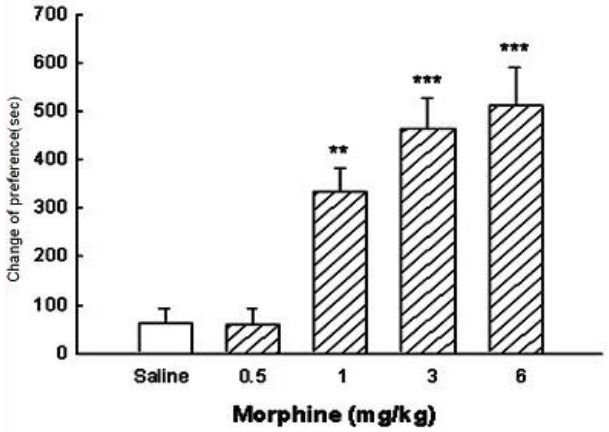
***۴- آزمایش چهارم (آثار آتروپین بر واکنش فیزوسـتیگمین در طـی CPP مورفیـن).*** هشـت گروه از حیوانـات یـک تزریـق داخـل هیپوکامپی سالین (µl/rat ۱) یا آنتـاگونیسـت گیرنـده موسـکارینی، آتروپین دریافت کردند و پـس از پنـج دقیقـه بـه درون ناحیـه $CA_1$ هیپوکامپ آنها سالین (µl/rat ۱) یـا مقـادیر مختلـف فیزوسـتیگمین (۲، ۴ و ۸ µg/rat) تزریـق شـد. در نـهایت کلیـه حیوانـات در طـی مرحله شرطی‌سازی فـوراً بـه صـورت زیرجلـدی مورفیـن (mg/kg ۰/۵) یا سالین (ml/kg ۱) دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد از آخریـن تزریق، حیوانات در مرحله آزمون قـرار گرفتنـد و فعـالیت حرکتـی آنها نیز ارزیابی شد.

## آنالیزهای آماری

در آزمایش‌های انجـام شـده بـه منظـور تعییـن وجـود اختـلاف معنـی‌دار بیـن گروه‌هـای آزمـایش، از روش آنـالیز واریـانس (ANOVA) یک طرفه و دوطرفه و به دنبـال آن از آزمـون آمـاری مکمـل توکـی اسـتفاده و اختـلاف بـا $p<۰/۰۵$ بـه عنـوان تفـاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای محاسـبات آمـاری از نرم‌افزارهـای کامپیوتری SPSS و INSTAT استفاده شد.

## یافته‌ها

***۱- آزمایش اول (منحنی دوز پاسـخ بـرای CPP مورفیـن).*** شـکل CPP1 تولید شده به وسیله تزریق زیرجلدی مقادیر مختلف مورفین را در حیواناتی که ناحیهٔ $CA_1$ هیپوکامپ پشتی آنـها کـانول‌گذاری شده است، نشان می‌دهد. آزمون آماری ANOVA یک طرفه نشان می‌دهد که تزریق زیرجلدی مورفیـن سـبب القـای CPP وابسـته بـه دوز نسبت به گروه کنترل (سالین) شده است ($p<۰/۰۰۰۱$، ۱۸/۱= (۳۵ و ۴)F). CPP معنی‌داری در مقادیر ۱، ۳ و ۶ mg/kg به دسـت آمد. ماکزیمم واکنش با مقدار ۶ mg/kg مورفین بود.

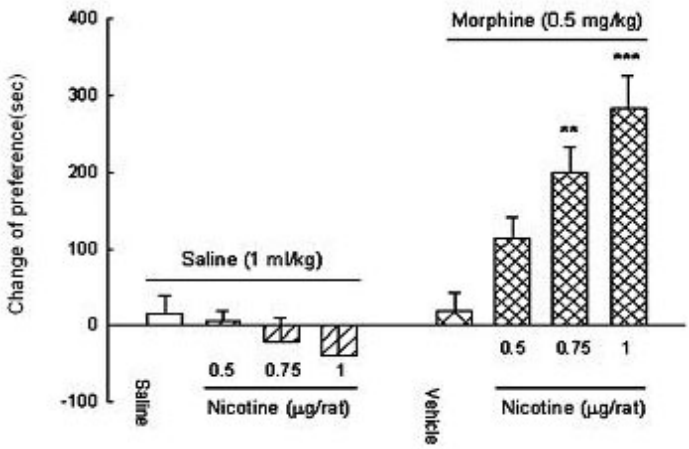



***شکل ۱-*** ترجیح مکان شرطی شده (CPP) ناشی از مورفیـن. تغییـر ترجیـح[1] بـر اساس تفاضل زمان سپری شـده در ناحیـه دارو، در روز پیـش از شرطی‌سـازی و روز پس از شرطی‌سازی بر حسب ثانیه محاسبه شد. داده‌ها بـر اسـاس میـانگین ± انحراف معیار در هر گروه شامل هشت حیوان بیان شده است.

1- change of preference



www.SID.ir

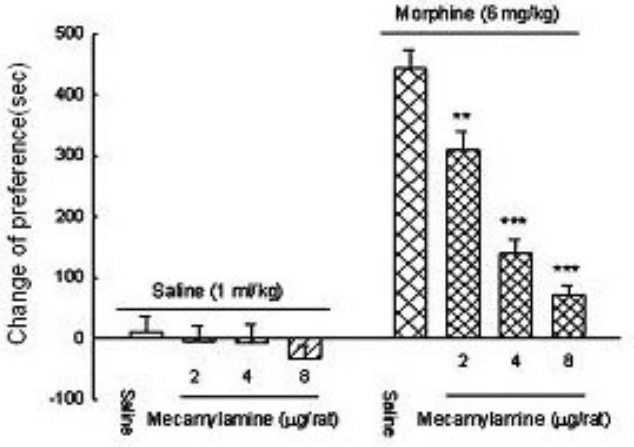



***شکل ۲***- اثرات تزریق دوطرفه فیزوستیگمین به داخل ناحیه $CA_1$ هیپوکامپ پشتی با یا بدون مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده. داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار در هر گروه متشکل از هشت حیوان بیان شده است.

***۲- آزمایش دوم (اثرات فیزوستیگمین با یا بدون مورفین بر اکتساب CPP).*** شکل ۲ تأثیر تزریق دو طرفه مقادیر مختلف فیزوستیگمین یا سالین را به درون ناحیهٔ $CA_1$ در غیاب یا حضور مورفین بر اکتساب CPP نشان می‌دهد. آزمون آماری ANOVA دو طرفه وجود تداخل معنی‌داری بین فیزوستیگمین و مورفین در اکتساب CPP را نشان داد: مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار: $p<۰/۰۰۰۱$، $F$ (۵۶ و ۱) = ۸۹/۴؛ اثر مقدار: $p<۰/۰۱$، $F$ (۵۶ و ۳) = ۴/۵؛ تداخل تیمار × مقدار: $p<۰/۰۱$، $F$ (۵۶ و ۳) = ۵/۹.

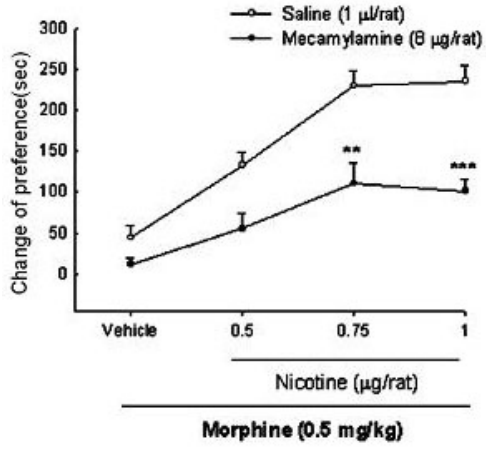
علاوه بر این، آزمون آماری ANOVA یکطرفه نشان داد که تزریق درون هیپوکامپی مقادیر مختلف فیزوستیگمین یا دوز پایین‌تر مورفین به تنهایی قادر به ترجیح یا تنفر مکانی شرطی شده نمی‌باشد. مصرف فیزوستیگمین اکتساب CPP به وسیله مورفین را نیز تقویت می‌کند.

***۳- آزمایش سوم (اثرات آتروپین با یا بدون مورفین بر اکتساب CPP).*** شکل ۳ تأثیر تزریق دو طرفه درون هیپوکامپی مقادیر مختلف آتروپین یا سالین را در غیاب یا حضور مورفین بر اکتساب CPP نشان می‌دهد. آزمون آماری ANOVA دوطرفه وجود تداخل معنی‌داری بین مورفین و آتروپین را در اکتساب CPP نشان داد: مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار: $p<۰/۰۰۰۱$، $F$ (۵۶ و ۱) = ۱۷۲/۹؛ اثر مقدار: $p<۰/۰۰۱$، $F$ (۵۶ و ۳) = ۱۱/۹؛ تداخل تیمار× مقدار: $p<۰/۰۰۰۱$، $F$ (۵۶ و ۳) = ۷/۳.




***شکل ۳***- اثرات تزریق دو طرفه آتروپین به داخل ناحیهٔ $CA_1$ هیپوکامپ پشتی به تنهایی یا همراه مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده. داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار از میانگین (SEM) در هر گروه متشکل از هشت حیوان بیان شده است.

علاوه بر این، آزمون آماری ANOVA یکطرفه نشان داد که تزریق درون هیپوکامپی مقادیر مختلف آتروپین به تنهایی قادر به القای ترجیح یا تنفر مکان شرطی شده نمی‌باشد. همچنین مصرف آتروپین همراه با مورفین توانست CPP القا شده به وسیله مورفین را در یک روش وابسته به مقدار مهار نماید.




***شکل ۴***- اثرات تزریق دوطرفه سالین و آتروپین، قبل از تزریق فیزوستیگمین به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی همراه با مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده. داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار، در هر گروه متشکل از هشت حیوان بیان شده است.



Archive of SID
www.SID.ir

***۴- آزمایش چهارم (اثر آتروپین بر تقویت القا شده به وسیله فیزوستیگمین در طی CPP مورفین).*** شکل ۴ اثرات تزریق درون هیپوکامپی آتروپین را روی ترجیح مکان القا شده به وسیله مورفین در ترکیب با فیزوستیگمین نشان می‌دهد. ANOVA دوطرفه مشخص کرد که آتروپین اثر فیزوستیگمین روی پاسخ مورفین را کاهش داد: مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار: $p<۰/۰۰۰۱$، ۳۶/۱= F(۵۶ و ۱)؛ اثر مقدار: $p<۰/۰۰۰۱$، ۱۹/۰=F(۵۶ و ۳) ؛ تداخل تیمار × مقدار : $p<۰/۰۱$، ۴/۴= F (۵۶ و ۳).

نتایج نشان داد که آتروپین پاسخ القا شده به وسیله فیزوستیگمین به علاوه مورفین را مسدود می‌کند.

## بحث

در تحقیق حاضر، تیمارهای شرطی‌سازی با مورفین به صورت وابسته به مقدار، توانست CPP معنی‌داری را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ایجاد نماید. مشاهده شد که بیشترین اثر به وسیلهٔ مورفین (۶ mg/kg) به دست می‌آید. این یافته‌ها از مطالعات قبلی حمایت و اثبات می‌کند که اثرات پاداشی آگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی می‌تواند به محرک‌های محیطی شرطی شود. به عبارتی، آثار دارو با محرک‌های محیطی جفت می‌شود (شیپنبرگ[۱]، هیدبردر[۲] و لفوو[۳]، ۱۹۹۶). از آنجا که اپیوئیدها آزاد شدن دوپامین را در نواحی مختلف مغز تنظیم می‌کنند (گوچی[۴]، آجید[۵]، گلووینسکی[۶] و چرامی[۷]، ۱۹۷۳)، احتمالاً این پدیده در شلیک عصبی نورون‌های دوپامینی در VTA و متعاقب آن افزایش دوپامین در نوکلئوس آکومبنس و سایر نواحی دخالت دارد (کوب، ۱۹۹۲). به هر حال شواهد زیادی وجود دارد که مشخص می‌کند، مکانیسم‌های غیر دوپامینی هم می‌تواند در پاداش مورفین دخالت داشته باشد (کالیواس[۸] و استوارت[۹]، ۱۹۹۱).

برخی مطالعات نشان می‌دهند که فعالیت گیرنده‌های موسکارینی، تقویتی و پاداشی هستند (لسی[۱۰]، کالابرسی[۱۱] و نورس[۱۲]، ۱۹۹۰). افزایش انتقال عصبی کولینرژیک در هیپوکامپ از طریق گیرنده‌های موسکارینی، حافظه و یادگیری را بهبود می‌بخشد.

همچنین مطالعات نشان می‌دهندکه یادگیری برای توسعه پاداش اوپیاتی مهم است (لو[۱۳]، زنگ[۱۴]، لیو[۱۵] و سنگ[۱۶]، ۲۰۰۰) و سبب القای حروف بزرگ CPP می‌شود (بنینگر[۱۷] و میلر[۱۸]، ۱۹۹۸). بنابراین تحریک و مهار گیرنده‌های کولینرژیک در ناحیه $CA_1$ هیپوکامپ احتمالاً می‌تواند بیان و کسب ترجیح مکان شرطی شده مورفین را تغییر دهد.

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در طی کسب CPP، تزریق‌های دوطرفه فیزوستیگمین (مهار کننده آنزیم کولین‌استراز) در نواحی $CA_1$، ترجیح مکان القا شده به وسیله مورفین (۰/۵ mg/kg) را تقویت می‌کند و اندازه و سرعت یادگیری را بهبود می‌بخشد. در این راستا سایر تحقیقات نشان می‌دهد که سیستم کولینرژیکی هیپوکامپ برای فعالیت‌های هیجانی و شناختی مرتبط با هیپوکامپ ضروری است (آلویسی[۱۹]، ۱۹۹۷).

تحقیقات متعدد نشان داده‌اند که سطوح استیل‌کولین هیپوکامپی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی و موش‌های سوری بلافاصله بعد از جست‌وجوی مکانی، در آزمون‌های ماز شعاعی هشت بازویی (تومن[۲۰]، دورکین[۲۱]، ماریقتو[۲۲]، گالی[۲۳] و جفارد[۲۴]، ۱۹۸۸)، فضای باز و فشار دادن پدال برای کسب پاداش غذایی از حد پایه بیشتر می‌شود.

شواهد بسیاری بیان می‌کند که بین اپیوئیدها و سیستم کولینرژیک ارتباط مؤثری وجود دارد (شریف[۲۵] و الکادی[۲۶]، ۱۹۹۶). تزریق ترکیبی مورفین و فیزوستیگمین باعث آثار ضد درد قوی و مشخص می‌شود. لذا به نظر می‌رسد ترکیب فیزوستیگمین با مقدار کمتر مورفین می‌تواند یادگیری را افزایش دهد و CPP تقویت‌یافته‌ای را ایجاد کند. باسیل و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که آثار پاداشی مورفین که در CPP اندازه‌گیری می‌شود، در موش‌های فاقد گیرنده‌های $M_5$ موسکارینی، کاهش می‌یابد. به

1- Shippenberg
2 - Heidberder
3- Lefevour
4 - Gauchy
5- Agid
6 - Glowinski
7- Cheramy
8 - Kalivas
9- Stewart
10 - Lacy
11- Calabresi
12 - North
13- Lu
14 - Zeng
15- Liu
16 - Ceng
17- Beninger
18 - Miller
19- Aloisi
20- Toumane
21- Durkin
22 - Marighetto
23- Galey
24 - Jaffard
25- Sharif
26 - el-Kadi



Archive of SID

www.SID.ir

احتمال قوی، آثار پاداشی فیزوستیگمین در ترکیب با مورفین از طریق مکانیسم‌های گیرنده موسکارینی القا می‌گردد. مهار گیرنده‌های موسکارینی ناحیه $CA_1$ هیپوکامپ پشتی توسط آتروپین، از ترجیح مکان القا شده به وسیله مورفین (۶ mg/kg) ممانعت می‌کند که به‌نظر می‌رسد این اثر با کاهش یادگیری وابسته به پاداش القا می‌شود. تزریق سیستمیک یا مرکزی داروهای آنتی‌کولینرژیک (مانند آتروپین) و نیز ضایعات سیستم کولینرژیک باعث نقص در حافظه می‌شود، در حالی‌که داروهایی که فعالیت کولینرژیک را افزایش می‌دهند، حافظه را بهبود می‌بخشند (بوسیا[1]، بلک[2]، اکوستا[3] و براتی[4]، ۲۰۰۳). مطالعات قبلی مشخص کرده است که تزریق‌های آتروپین به داخل VTA پاداش تحریکی مغز را مهار می‌کند (یئومنز[5] و باپتیستا[6]، ۱۹۹۷). همچنین پژوهش حاضر نشان داد که تزریق آتروپین (۷ µg/rat) به داخل $CA_1$ پاسخ فیزوستیگمین را معکوس می‌کند و بنابراین اثر فیزوستیگمین احتمالاً از طریق گیرنده‌های موسکارینی میانجیگری می‌شود.

در مطالعه حاضر نشان دادیم که تزریق‌های داخل $CA_1$ داروها با مقادیری که در آزمایش‌های ما استفاده شده است، نتوانست فعالیت حرکتی را (در مقایسه با گروه‌های کنترل)، در طی فاز آزمون تغییر دهد. این مطلب نشان دهنده آن است که نتایج تحت تأثیر هیچ‌گونه تغییر فعالیت حرکتی قرار نگرفته است (لو و همکاران، ۲۰۰۲).

از سوی دیگر، نتایج مؤید آن است که تزریق داخل $CA_1$ فیزوستیگمین و آتروپین به تنهایی ترجیح یا تنفر مکانی مشخصی را القا نکرده و بر فعالیت‌های حرکتی حیوانات هم تأثیری نداشته است. سایر مطالعات نشان می‌دهد که هیپوکامپ به تنهایی در مکانیسم‌های پاداشی دخالت ندارد (رضایوف، زرین‌دست، صحرائی و حائری روحانی، ۲۰۰۳) و به نظر می‌رسد احتمالاً گیرنده‌های موسکارینی نیز به تنهایی در نواحی $CA_1$ هیپوکامپ در شروع واکنش‌های پاداشی دخالت ندارند، ولی می‌توانند با CPP مورفین به علت دخالتشان در یادگیری وابسته به پاداش مرتبط شوند.

برخی تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت گیرنده‌های موسکارینی در هیپوکامپ، القای تقویت دراز مدت[7] LTP را تسهیل می‌کند. علاوه بر آن، آتروپین القای LTP ارتباطی را کاهش می‌دهد. همچنین اثبات شده است که یادگیری و حافظه نقش مهمی در توسعه پاداش اپیاتی بازی می‌کنند (وایت، ۱۹۹۶).

با توجه به نتایج تحقیق حاضر و مطالعات سایر محققان می‌توان چنین نتیجه گرفت که تزریق‌های داخل $CA_1$ آگونیست‌ها یا آنتاگونیست‌های گیرنده‌های موسکارینی کولینرژیکی به ترتیب یادگیری و حافظه را تسهیل یا مهار می‌کنند و بنابراین قادرند ترجیح مکان القا شده به وسیله مورفین را به ترتیب ایجاد یا مهار نمایند. احتمالاً هیپوکامپ برای ترکیب محرک‌های محیطی و پاسخ‌های داخلی تولید شده مورد نیاز است (وایت و مک‌دونالد[8]، ۲۰۰۲) و تحقیقات نشان داده است که هیپوکامپ پشتی شرطی‌سازی زمینه را هم در شرطی‌سازی ترس (آناگنوستراس[9]، گال[10] و فانسلو[11]، ۲۰۰۱) و هم در شرطی‌سازی مکانی (فربینتو[12] و مک‌دونالد، ۲۰۰۱) میانجیگری می‌کند. بر این اساس، نتایج حاضر نشان می‌دهند که تحریک گیرنده‌های موسکارینی می‌توانند با یادگیری زمینه‌ای CPP تداخل کند. تحقیقات نشان داده‌اند که تزریق مورفین مستقیماً به داخل هیپوکامپ می‌تواند CPP را القا کند (کوریگال[13] و لینسمن[14]، ۱۹۸۸).

در نتیجه می‌توان چنین پیشنهاد کرد که تزریق عوامل کولینرژیک به داخل نواحی $CA_1$ هیپوکامپ می‌تواند هم با خواص پاداشی مورفین و هم با خواص حافظه‌ای که در اثر CPP ایجاد می‌شود، تداخل داشته باشد.

برای بررسی‌های آینده، ارزیابی بررسی نقش گیرنده‌های موسکارینی کولینرژیکی سایر نواحی مرتبط با سیستم پاداش مغز (مانند سپتوم میانی، هیپوتالاموس و لوکوس سرولئوس) و برهم‌کنش بین سیستم‌های دوپامینرژیک و کولینرژیک هیپوکامپ در وابستگی روانی به مورفین، و نیز ارزیابی نقش سیستم کولینرژیک در ناحیه تگمنتوم شکمی، هسته آکومبنس، هیپوکامپ و آمیگدال در القای تحمل و افزایش حساسیت به مورفین با استفاده

1- Boccia
2 - Blake
3- Acosta
4 - Baratti
5- Yeomans
6 - Baptista
7- Long Term Potentiation
8- McDonald
9- Anagnostaras
10- Gale
11- Fanselow
12- Ferbinteanu
13- Corrigall
14- Linseman



Archive of SID

www.SID.ir

از روش ترجیح مکان شرطی‌شده در مـوش بـزرگ آزمایشـگاهی، پیشنهاد می‌گردد.

**سپاسگزاری**

از زحمـات فـراوان مسئولان آزمایشـگاه فـیزیولوژی جـانوری دانشکده زیست‌شناسی پردیس علوم دانشگاه تهران بی‌نهایت تشکر می‌کنیم.

*دریافت مقاله: ۱۳۸۴/۷/۲۳؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۱۰/۲۲*

## منابـع

Aloisi, A. M. (1997). Sex differences in pain-induced effects on the septo hippocampal system. *Brain Research, 25* (3)*,* 397-406.

Anagnostaras, S. G., Gale, G. D., & Fanselow, M. S. (2001). Hippocampus and contextual fear conditioning: Recent controversies and advances. *Hippocampus, 11,* 8-17.

Beninger, R. J., & Miller, R. (1998). Dopamine D1-like receptors and reward-related incentive learning. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 22 (2),* 335-345.

Boccia, M. M., Blake, M. G., Acosta, G. B., & Baratti, C. M. (2003). Atropine, an anticholinergic drug, impairs memory retrieval of a high on solidated avoidance response in mice. *Neuroscencei Letters, 345* (2)*,* 97-100.

Burns, L. H., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (1994). Intra-amygdala infusion of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5 impairs acquisition but not performance of discriminated approach to an appetitive CS. *Behavioral and Neural Bioliology, 61,* 242-250.

Compton, D. M. (2004). Behavior strategy learning in rat: Effects of lesions of the dorsal striatum or dorsal hippocampus. *Behavioural Processes, 67,* 335-342.

Corrigall, W. A., & Linseman, A. M. (1988). Conditioned place preference produced by intra-hippocampal morphin. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 30,* 787-789.

Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (1997). Cedntral cholinergic systems and cognition. *Annual Review of Psychology, 48,* 649-684.

Ferbinteanu, J., & McDonald, R. J. (2001). Dorsal/ventral hippocampus, fornix, and conditioned place preference. *Hippocampus, 11* (2)*,* 187-200.

Frotscher, M., & Leranth, C. (1985). Cholinergic innervation of the rat hippocampus as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry: A combined light and electron microscopic study. *Journal of Comparative Neurology, 239* (2)*,* 237-246.

Gauchy, C., Agid, Y., Glowinski, J., & Cheramy, A. (1973). Acute effects of morphine on dopamine synthesis and release and tyrosine metabolism in the rat striatum. *European Journal of Pharmacology, 22* (3), 311-319.

Hasselmo, M. E., & Bower, J. M. (1993). Acetylcholine and memory. *Trends in Neurosciences, 16,* 218-222.

Herz , A. (1998). Opioid reward mechanisms: a key role in drug abuse. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 76* (3)*,* 252-258.

Inglis, F. M., & Fibiger, H. C. (1995). Increases in hippocampal and frontal cortical acetylcholine release associated with presentation of sensory stimuli. *Neuroscience, 66* (1)*,* 81-87.

Kalivas, P. W., & Stewart, J. (1991). Dopamine transmission in the initiation and expression of drug – and stress – induced sensitization of motor activity. *Brain Research, 16,* 223-244.

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.

Koob, G. F. (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward phathway. *Trends in Pharmacological Sciences, 13,* 177-184.

Koob, G. F., Robledo, P., Markou, A., & Caine, B. (1993). The mesocorticolimbic circuit in drug dependence and reward – A role for the extended amygdala. In Kalivas, P. W, & Barnes, C. D. (eds.). *Limbic Motor Circuits and Neuropsychiatry,* (pp 289-305). Boca Raton: CRC Press.

Lacy, M. G., Calabresi, P., & North, R. A. (1990). Muscarine depolarizes rat substantia nigra zona compacta and ventral tegmental neurons in vitro through M1-like receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 253* (1), 395-400.

Lisman, J. E., & Grace, A. A. (2005). The hippocampal – VTA loop : Controlling the entry of information into long – term memory. *Neuron, 46* (5), 703-713.

Lu, L., Xu, N. J., Ge, X., Yue, W., Su, W. J. & Pei, G. (2002). Reactivation of morphine conditioned place preference by drug priming: Role of environmental cues and sensitization. *Psychopharmacology, 159* (2), 125-132.

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* (3), 191-195.

Narita, M., Funada, M., & Suzuki, T. (2001). Regulations of opioid dependence by opioid receptor types. *Pharmacology & Therepeutics, 89* (2), 1-15.



Archive of SID

www.SID.ir

Olmstead, M. C., & Franklin, B. J. (1997). The devlopment of a conditioned place preference to morphine: Effects of microinjections into various CNS sites. *Behavioral Neuroscience, 111,* 1324-1334.

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 and Behavior, 58* (1), 275-279.

Rezayof, A., Zarrindast, M. R., Sharaei, H., & Haeri – Rohani, A. (2003). Involvment of dopamine receptors of the dorsal hippocampus on the acquisition and expression of morphine – induced place preference in rats. *Journal of Psychopharmacology, 17* (4), 415-423.

Schildein, S., Huston, J. P., & Schwarting, P. K. (2002). Open field habituation learning is improved by nicotine and attenuated by mecamylamine administered posttrial into the nucleus accumbens. *Neurobiology of Learning and Memory, 77* (3), 277-290.

Sharif, S. I., & el-Kadi, A. O. (1996). The role of cholinergic systems in the expression of morphine withdrawal. *Neuroscience Research, 25* (2)*,* 155-160.

Shippenberg, T. S., Heidberder, C. H., & Lefevour, A. (1996). Sensitization to the conditioning effect of morphine: Pharmacology and temporal characteristics. *European Jounal of Pharmacology, 299 (1-3),* 33-39.

Suzuki. T., Takamori, K., Misawa, M., & Onodera, K. (1995). Effects of the histaminergic system in the morphine-induced conditioned place preference in mice. *Brain Research, 675* (1-2)*,* 195-202.

Suzuki, T., Tsuda, M., Funada, M., & Misawa, M. (1995). Blockade of morphine-induced place preference by diazepam in mice. *European Journal of Pharmacology, 280* (3)*,* 327-330.

Toumane, A., Durkin, T., Marighetto, A., Galey, D., & Jaffard, R. (1988). Differential hippocampal and cortical cholinergic activation during the acquisition, retention, reversal and extinction of a spatial discrimination in an 8-arm radial maze bymice. *Behavioural Brain Research, 30* (3)*,* 225-234.

Van der Zee, E. A., Biemans, B. A., Gerkema, M. P., & Daan, S. (2004). Habituation to a test apparatus during associative learning is sufficient to enhance muscarinic acetylcholine receptor – immunoreactivity in rat suprachiasmatic nucleus. *Journal of Neuroscience Research, 78* (4), 508-19.

Varga, C., Hartig, W., Grosche, J., Keijser, J., Luiten, P. G., Seeger, J., Brauer, K., & Harkany, T. (2003). Rabbit forebrain cholinergic system: Morphological characterization of nuclei and distribution of cholinergic terminals in the cerebral cortex and hippocampus. *Journal of Comparative neurology, 460* (4)*,* 597-611.

White, N. M. (1996). Addictive drugs as reinforcers: Multiple partial actions on memory systems. *Addiction, 91* (7)*,* 921-49.

White, N. M., & McDonald, R. J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning & Memory. 77,* 125-184.

Yeomans, J., & Baptista M. (1997). Both nicotinic and muscarinic receptors in ventral tegmental area contribute to brain-stimulation reward. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 57* (4)*,* 915-921.

Zarrindast, M. R., Ahamdi, S., Haeri-Rohani, A., Rezayof, A., Jafari, M. R., & Jafari-Sabet, M. (2004). GABA(A) receptors in the basolateral amygdala are involved in mediating morphine reward. *Brain Research, 1006* (1)*,* 49-58.

Zarrindast, M. R., Karami, M., Sepehri, H., & Sahraei, H. (2002). Influence of nitric oxide on morphine-induced conditioned place preference in the rat central amygdala. *European Journal of Pharmacology, 453* (1), 81-9.

Archive of SID



www.SID.ir