کومش- جلد ۱۳، شماره ۲ (پیاپی ۴۲)، زمستان ۱۳۹۰

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

عباس حق‌پرست [*](Ph.D)، مهسا مؤدب (M.Sc)، محمد ابراهیم‌زاده (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 اکومبنس انشعابات وابران می‌دهد، دارای نقش اساسی در تقویت حاصل از مورفین و اثرات پاداشی داروهای مورد سوء مصرف می‌باشد. در مطالعه حاضر اثرات غیر فعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی بر میزان فعالیت الکتریکی نورون‌های هسته اکومبنس 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 فعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی به‌وسیله تزریق دوطرفه لیدوکایین 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 یک‌طرفه لیدوکایین ۲٪ در همان ناحیه در طی ثبت تک واحدی از نورون‌های هسته اکومبنس انجام گرفت. نمره شرطی شدن و فعالیت‌های حرکتی حیوانات به‌وسیله نرم‌افزار Ethovision ثبت گردید. فعالیت الکتریکی نورون‌ها به‌وسیله ثبت تک واحدی از هسته اکومبنس به انجام رسید.

یافته‌ها: داده‌ها حاکی از آن هستند که تزریق دوطرفه لیدوکایین ۲٪ در ناحیه تگمنتوم شکمی به‌طور معنی‌داری سبب کاهش اکتساب (P<۰/۰۱) و بیان (P<۰/۰۵) ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین در مقایسه با گروه‌های شاهد دریافت‌کننده سالین شده است. علاوه بر این، در این آزمایش‌ها تزریق لیدوکایین در ناحیه تگمنتوم شکمی اثری بر فعالیت حرکتی حیوانات نداشت. هم‌چنین تزریق یک‌طرفه لیدوکایین در ناحیه تگمنتوم شکمی به صورت معنی‌داری سبب افزایش فعالیت الکتریکی نورون‌های هسته اکومبنس 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 اکومبنس، غیر فعال‌سازی برگشت‌پذیر، فعالیت الکتریکی، ترجیح مکان شرطی، مورفین، موش صحرایی

مقدمه

تحقیقات متعدد در زمینه اعتیاد، ناحیه تگمنتوم شکمی (Ventral tegmental area, VTA) را به عنوان یکی از اثرگذارترین ساختارهای فیزیوژیک مرتبط با اعتیاد معرفی کرده‌اند [۲۲،۱۲]. تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مختلفی در نورون‌های دوپامینرژیک و گابائرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی پس از استفاده مزمن از مورفین گزارش شده است [۲۳،۳] و مطالعات الکتروفیزیولوژیک تغییر فعالیت نورون‌های

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۱۴۹۸۵۷ نمابر: ۰۲۱-۲۲۴۳۱۶۲۴
Email: haghparast@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۱۳

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

دوپامینی مغز میانی، که ناحیه تگمنتوم شکمی هم جزئی از آن محسوب می شود، را تحت تأثیر سیستم اوپیوئیدی نشان داده‌اند [۴]. تغییرات نوروپلاستیک در نورون‌های ناحیه تگمنتوم شکمی نقش مهمی در اعتیاد به مواد مخدر بازی می‌کنند [۳]. تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که سیستم دوپامینرژیک مزولیمبیک، که از ناحیه تگمنتوم شکمی به هسته اکومبنس انشعابات وابران 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 دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی منشا مسیر مزولیمبیک/مزوکورتیکال بوده و به هسته اکومبنس عصب‌رسانی می‌کنند [۲۴،۲].

هسته اکومبنس 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 حالی‌که shell بیش‌تر به پیش‌آمدهای جدید حساس است و در مکانیسم‌های مربوط به سیستم اتونوم و نیز مکانیسم‌های انگیزشی من‌جمله اعتیاد درگیر می‌باشد. مطالعات الکتروفیزیولوژیک مشخص کرده‌اند که فعالیت نورون‌های بخش قشری هسته اکومبنس (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.

پژوهش‌های رفتاری و هم‌چنین الکتروفیزیولوژیک تاکنون مبین نقش ناحیه تگمنتوم شکمی و نیز هسته اکومبنس 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 نوروبیولوژیک 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 انجا 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 قرارگرفته است [۲۹،۲۱،۲]. با این‌حال 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 اکومبنس در مسیر پاداش و به منظور تأیید الکتروفیزیولوژیک یافته‌های رفتاری، در مطالعه حاضر فعالیت الکتریکی نورون‌های هسته اکومبنس (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 صحرایی 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 ۱±۲۳ 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

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

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 سالین دریافت می‌کرد. حیوان در روز اول (Pre-test) داخل جعبه در فضای خنثی (null) قرار گرفته و به مدت ۱۰ دقیقه به‌صورت آزادانه در هر سه قسمت حرکت می‌کرد. مرحله شرطی‌سازی شامل ۶ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای بود (۳ جلسه سالین 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 سالین 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 به‌دلیل 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 به‌صورت 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 سالین 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-زایلزین (مخلوط ۱۰۰ mg/kg کتامین و ۱۰ mg/kg زایلزین) به صورت درون صفاقی به حیوان تزریق می شد. بعد از بی‌هوشی کامل، موهای سر حیوان تراشیده شده و حیوان درون دستگاه استریوتاکس قرار می‌گرفت. سپس لایه‌های پیوندی 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 جمجه حیوان، کانول‌های راهنما طبق مختصات اطلس [۲۶]. خلف برگما ۵- mm قدامی خلفی (AP)، نسبت به خط وسط ۰/۹± mm (ML) و از سطح جمجمه ۸/۴- mm خلفی شکمی (DV)، یک میلی‌متر بالای VTA به‌صورت دوطرفه قرار داده شدند. در پایان، اطراف کانول‌ها و تمام سطح جمجمه با استفاده از مخلوط سیمان دندان‌پزشکی و مونومر آن پوشانده شدند. به منظور جلوگیری از بسته شدن مجاری کانول‌های راهنما، با استفاده از درپوش‌های ساخته شده از سر سوزن های ۳۰G، کانول های 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 ml/rat ۰/۳-۰/۲ 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 اکومبنس. 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 میکروالکترود فلزی در بخش قشری هسته اکومبنس بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون [۲۶] به شرح زیر می‌باشد: قدامی خلفی(AP) ، ۱/۲ mm قدام برگما؛ نسبت به خط وسط (ML)، ۰/۸± 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

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

مربوط به میکروالکترود ثبت تک واحدی از بخش قشری هسته اکومبنس(NAcsh) ، کانول تزریق متصل به بازوی استریوتاکس روی زاویه ۲۰ درجه تنظیم شد و لذا مختصات VTAبا در نظر گرفتن زاویه ۲۰ درجه بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون [۲۶] به صورت زیر محاسبه و در نظر گرفته شد: خلف برگماmm ۸/۶- قدامی خلفی (AP)، نسبت به خط وسطmm ۰/۹± میانی خلفی (ML) و از سطح جمجمه عمقmm ۹/۹ خلفی شکمی (DV). پس از تنظیم دستگاه در راستای قدامی خلفی و میانی جانبی، محل VTA و NAcshرا با استفاده از جوهر بر روی سطح جمجمه علامت‌گذاری و استخوان جمجمه توسط مته دندان‌پزشکی تا رسیدن به پرده مننژ در هر دو منطقه سوراخ گردید. سپس میکروالکترود 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 به‌دست 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 میکروالکترود 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 (۳۰۰Hz-۱۰KHz) گردیدند. سپس سیگنال‌ها برای نمایش به اوسیلوسکوپ منتقل و صدای آن‌ها نیز پس از فیلتر شدن، قابل شنیدن گردیدند. در مرحله بعد سیگنال ثبتی به دستگاه موج بیز (Window discriminator) مدل WPI منتقل گردید و در صورت تعدد امواج مشاهده شده، اقدام به تعیین حدود 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 ثبتی، پتانسیل‌های مورد مطالعه یک واحد نورونی از دیگر نورون های در حال ثبت با دامنه های 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 اکومبنس 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 اکومبنس 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 به‌صورت 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 µl/side) به‌داخل VTA تزریق شد (مطابق با مطالعات

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

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 µl/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 اکومبنس

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 µl/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 اکومبنس. 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 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 اکومبنس

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 به‌ذکر 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 ± میانگین خطای استاندارد (mean±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-Keulsدنبال می‌شد، استفاده گردید. P کم‌تر ا ز ۰/۰۵ (P<۰/۰۵) به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری بخش الکتروفیزیولوژی. جهت محاسبه میانگین فعالیت خود به‌خودی و برانگیخته نورون‌های قشر هسته اکومبنس در مقیاس زمانی ۱-۵ دقیقه از بخش مربوط به آنالیز در نرم‌افزار ثبت استفاده گردید. لازم به‌ذکر 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 ± میانگین خطای استاندارد (Mean±SEM) توضیح داده شده‌اند. به

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

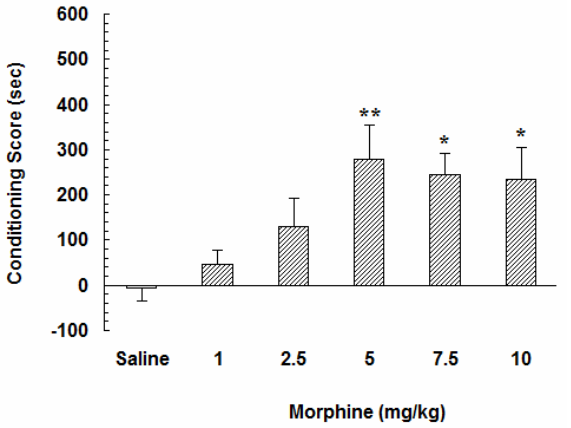
منظور دسته‌بندی نورون‌های قشر هسته اکومبنس در گروه‌های کنترلی و آزمونی از روش آنالیز خوشه‌ای (Cluster analysis) در نرم‌افزار Spss استفاده گردید و فعالیت نورونی پیش و پس از تجویز داروها و چگونگی توزیع نورونی مورد انتظار به‌وسیله آزمون مربع کای Chi-square مورد مقایسه قرار گرفت. P کم‌تر ا ز ۰/۰۵ به عنوان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

نتایج

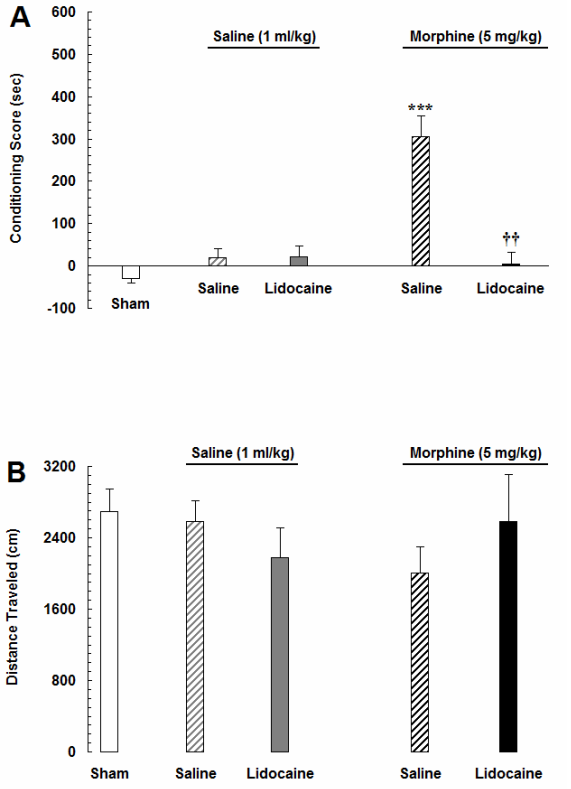
نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های انجام شده در بخش رفتاری.

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 (۵،۳۹)=۴/۳۶۵، P<۰/۰۱]، یافته‌ها نشان می‌دهد که ماکزیمم 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 ۱. ترجیح مکان شرطی القاء شده بوسیله مقادیر مختلف مورفین.
*P<۰/۰۵ , **P<۰/۰۱ تفاوت از گروه سالین



شکل ۲. اثر تزریق لیدوکائین ۲٪ (۰/۵ µl/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<۰/۰۰۱ تفاوت از گروه شاهد کاذب (Sham)
††P<۰/۰۱ تفاوت از گروه کنترل مورفین (میکرواینجکشن Saline)

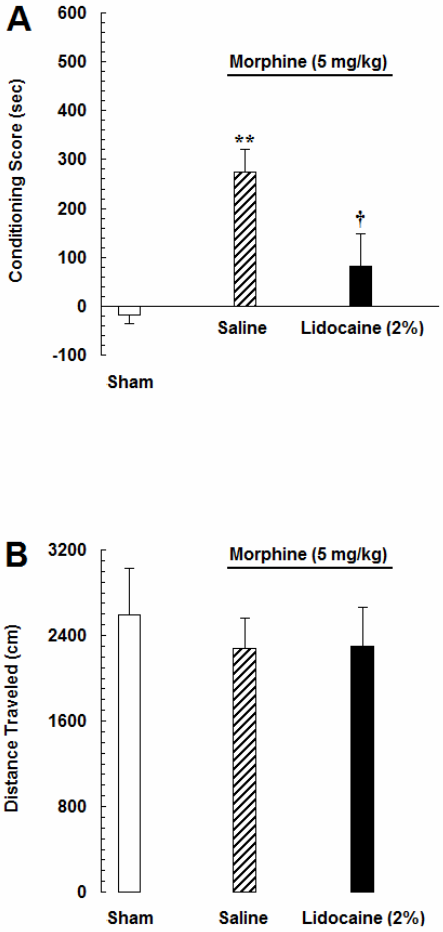
آزمون آماری Newman-Keuls نشان می‌دهد که تزریق دوطرفه لیدوکائین ۲٪ (۰/۵ µl/side) در VTA قبل از اضافه کردن مورفین در طی سه روز مرحله شرطی‌سازی به طور معنی‌داری سبب کاهش اکتساب CPP در مقایسه با حیوانات

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

می‌شود که سالین را به صورت دوطرفه در VTA دریافت کرده بودنـد (شـکل ۲-A) ، [F (۳۱،۴)=۷/۱۳۲، P<۰/۰۰۰۵].
علاوه بر ایـن نمـره شـرطی شـدن ایـن گـروه هـیچ تفـاوت معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد کاذب که سـالین را بـه صورت زیر جلدی به جای مورفین دریافت کرده بـود، نـشان نمی‌داد. هم‌چنین آزمون آمـاری ANOVA یـک‌طرفـه نـشان می‌دهد که میکرواینجکشن لیـدوکائین قبـل از تزریـق سـالین (۱mg/kg;s.c.) به جای مورفین نمی‌تواند CPP را در مقایـسه با گروه شاهد کاذب یا گروه سالین بـه‌وجـود آورد. از طرفـی داده‌های به‌دسـت آمـده در شـکل ۲-B نـشان مـی‌دهـد کـه 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 نبـوده اسـت [F (۳۱،۴)=۰/۷۲۰۸، P=۰/۵۸۵۲].

بررسی اثر تزریق لیدوکائین (غیرفعال‌سازی برگشت‌پـذیر) در ناحیه تگمنتوم شکمی بر بیان ترجیح مکان شرطی القاءشده توسط مورفین

آزمون آمـاری Newman-Keuls در شـکل ۳-A نـشان می‌دهد غیر فعال‌سازی برگشت‌پذیر دوطرفه VTA، ۱۰ دقیقـه قبل از انجام تست توانست بیان CPP ناشـی از مـورفین را در مقایـسه بـا گـروه میکرواینجکـشن سـالین کـاهش دهـد [F (۲۰،۲)=۹/۴۸۱، P=۰/۰۰۱۵]. علاوه بر این شکل ۳-B نشان می‌دهد کـه میکرواینجکـشن لیـدوکائین ۲٪ یـا سـالین نمی‌تواند فعالیت حرکتی حیوانات را در طول ۱۰ دقیقه تـست در مقایسه با گروه شاهد کاذب سالین تحت تـاثیر قـرار دهـد [F (۴۴،۴)=۰/۳۹۸۹، P=۰/۸۰۸۲]. بنابراین تزریق دوطرفـه لیدوکائین یا سالین به داخل VTA در روز تست (آزمایـشات بیان CPP) موجب کاهش نمره شرطی‌سازی به واسـطه تغییـر در فعالیت حرکتی حیوانات نمی‌گردد.



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<۰/۰۱ تفاوت از گروه شاهد کاذب (Sham)
†P<۰/۰۵ تفاوت معنی دار از گروه کنترل مورفین (میکرواینجکشن Saline)

نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های انجـام شـده در بخـش الکتروفیزیولوژی

فعالیت پایه نورون‌های بخش قشری هسته اکومبنس

اطلاعات حاضر مربوط به فعالیت پایه ۲۹ نورون واقع در قشر هسته اکومبنس در ۴ گروه الکتروفیزیولوژی می‌باشد کـه پـس از تأییـد بافـت‌شناسـی و جداسـازی آن‌هـا از دیگـر پتانسیل‌های ثبتی و ثبت پایدار به مدت ۴۵ دقیقه به‌دست آمده است. فعالیت خود به‌خودی نورون‌های قشر هـسته اکـومبنس بین ۰/۴۲ و ۱۱/۴۴ اسپایک در ثانیه متغیـر بـود و میـانگین نرخ فعالیت پایه در نورون‌های فوق ۰/۶±۳/۲۱ اسـپایک در ثانیه بود. روش آمـاری آنـالیز واریـانس یـک‌طرفـه از نـوع

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

انـدازه‌گیـری مکـرر (Repeated measures ANOVA)، هیچ‌گونه تفـاوت آمـاری را در بلـوک‌هـای پـنج دقیقـه‌ای از فعالیت پایه در طول ۴۵ دقیقـه پـس از دوره پایـداری نـشان نداد.

بررسی اثر تزریق لیدوکائین در ناحیه تگمنتوم شـکمی بـر فعالیت پایه نورون‌های قشری هسته اکومبنس

در ۵ نورون از ۶ نورون مورد بررسی در این گـروه ۱-۷ دقیقه بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین در ناحیه VTA فعالیت الکتریکـی نـورون‌هـای قـشر هـسته اکـومبنس بـه صـورت معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۴). طول دوره اثـر لیـدوکائین بین ۱۹-۳۳ دقیقه بوده است. فعالیت خود به‌خودی نورون‌های قشر هسته اکومبنس بین ۰/۵۸و ۸/۹۲ اسپایک در ثانیه متغیر بـوده و میـانگین نـرخ فعالیـت پایـه در نـورون‌هـای فـوق ۱/۰۱±۳/۲۷ اسپایک در ثانیه بود. میانگین درصـد افـزایش پاسـخ در ایـن نـورون‌هـا در ۱۵ دقیقـه اول (۰-۱۵) بعـد از میکرواینجکـشن لیـدوکائین ۹/۱۶±۲۴/۵۴ درصـد و در ۱۵ دقیقـه دوم (۱۵-۳۰) بعـد از میکرواینجکـشن لیـدوکائین کـه هم‌زمان با تزریق زیر جلدی سالین (۱ ml/kg;s.c) هـم بـوده است، ۱۵/۴۴±۴۷/۵۷ درصد بود. افزایش درصد فعالیـت در ۱ نورون از ۶ نورون مورد بررسی ۰/۲۷±۸/۱۱ درصد بـود، لذا این نورون به عنوان نورون بی‌اثر محسوب شد.

بررسی اثر مورفین زیرجلدی بر فعالیت پایه نـورون‌هـای بخش قشری هسته اکومبنس

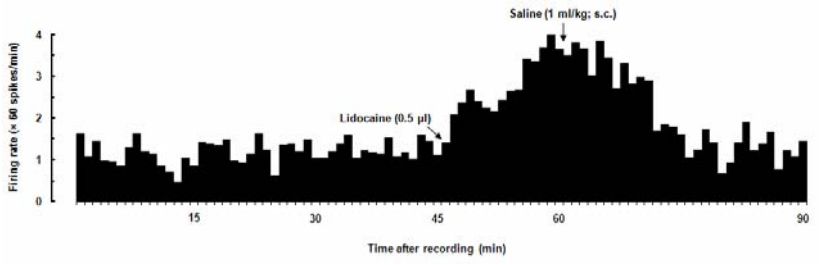
در ۸ نورون مورد بررسی در این گروه سه نمونـه الگـوی فعالیت نورونی به ترتیب زیر مشاهده شد. همـان‌گونـه کـه در شکل ۵-A مشخص می‌باشد در ۳ نورون از ۸ نـورون مـورد بررسی در این گروه ۱-۳ دقیقـه بعـد از تزریـق زیـر جلـدی مورفین (۵ mg/kg) فعالیت الکتریکی نورون‌های قـشر هـسته اکومبنس به صورت معنی‌داری کاهش یافت و تا دقیقه۹۰ هـم ادامه پیدا کرد. فعالیت خود به‌خودی نورون‌هـای قـشر هـسته اکومبنس بین ۱/۰۵ و ۸/۴ اسپایک در ثانیه و میـانگین نـرخ فعالیت پایه در نورون‌هـای فـوق ۱/۱۵±۳/۰۱ اسـپایک در ثانیه بود. هم‌چنـین میـانگین درصـد پاسـخ کاهـشی در ایـن نورون‌ها بعد از تزریق زیر جلدی مورفین به ۱۰/۲۲±۴۹/۴۳ درصد تغییر یافت. در ۳ نورون دیگر از ۸ نورون مورد بررسی در این گروه ۳-۷ دقیقه بعد از تزریـق زیـر جلـدی مـورفین (۵ mg/kg) فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکـومبنس به صورت معنی‌داری افزایش یافت و تا دقیقـه ۹۰ هـم ادامـه پیدا کرد. هم‌چنین فعالیت خود به‌خودی نورون‌های قشر هسته اکومبنس بین ۰/۷۱ و ۸/۰۲ اسپایک در ثانیـه متغیـر بـوده و میانگین نرخ فعالیت پایه در نـورون‌هـای فـوق ۲/۲۲±۳/۱۹ اسپایک در ثانیه بود (شکل ۵-B). هم‌چنین میـانگین درصـد افزایش پاسخ در این نـورون‌هـا بعـد از تزریـق زیـر جلـدی مـورفین ۷/۶۱±۷۱/۳ درصـد مـی‌باشـد. در ۲ نـورون از ۸ نورون مورد بررسی در این بخش، هیچ‌گونه تغییـر معنـی‌داری پیش و پس از انجام تزریقات گفتـه شـده در بـالا در فعالیـت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبنس مشاهده نـشد و لـذا به عنوان نورون‌های بی‌اثر در نظر گرفته شدند (شـکل ۵-C). فعالیت خود به‌خودی نورون‌های قـشر هـسته اکـومبنس بـین ۱/۱۱ و ۵/۴۳ اسپایک در ثانیه متغیـر بـود و میـانگین نـرخ فعالیـت پایـه در نـورون‌هـای فـوق در طـول ۹۰ دقیقـه ۱/۰۶±۲/۹۶ اسپایک در ثانیه بود.

بررسی اثر غیرفعال‌سازی برگـشت‌پـذیر ناحیـه تگمنتـوم شکمی بر تغییرات فعالیت نورونی بخش قشری هسته اکومبنس پس از تزریق زیرجلدی مورفین

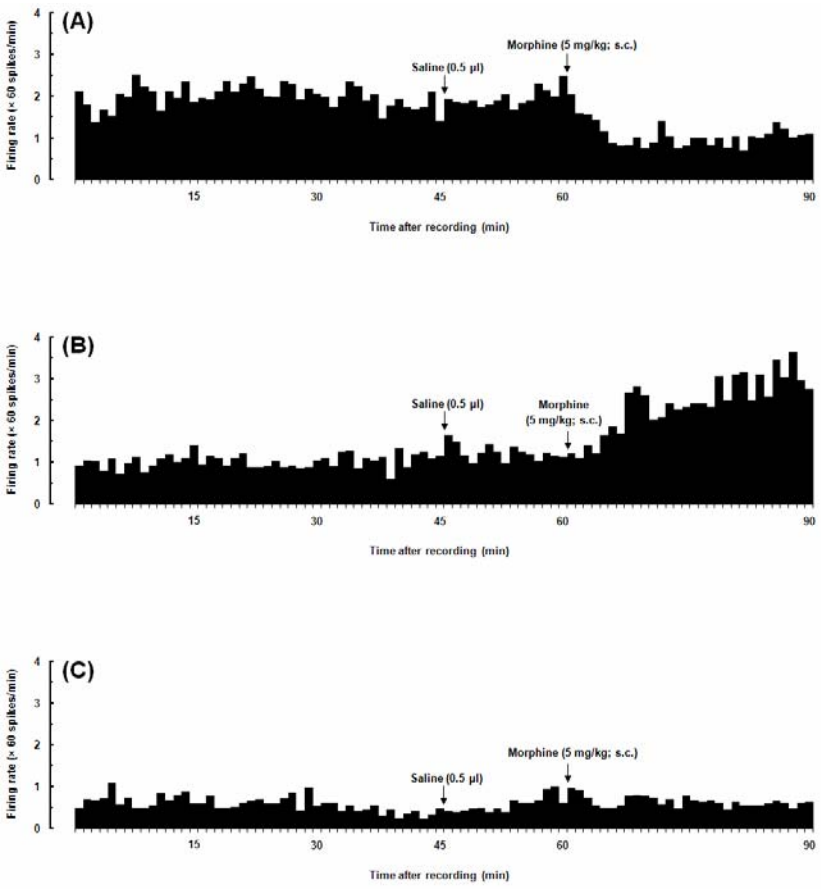
در ۹ نورون مورد بررسی در این گـروه ۲ نمونـه الگـوی فعالیت نورونی (شکل ۶) به ترتیـب زیـر مـشاهده شـد. در ۸ نورون از ۹ نورون مورد بررسی در این گروه میـانگین درصـد افزایش پاسخ در اکثریت نورون‌ها در ۱۵ دقیقـه اول (۰-۱۵) بعد از میکرواینجکشن لیـدوکائین ۵/۲۳±۲۵/۴ درصـد و در ۱۵ دقیقه دوم (۱۵-۳۰) بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین کـه هم‌زمان با تزریق زیر جلـدی مـورفین (۵ mg/kg) هـم بـوده است، ۱۷/۶۹±۱۳/۵۳ درصد بود. هـم‌چنـین میـانگین نـرخ فعالیت پایه در نورون‌های این بخش ۰/۷۴±۲/۵۷ اسپایک بر ثانیه بود. به ایـن ترتیـب تجـویز مـورفین توانـست بـه طـور معنـی‌داری سـبب کـاهش فعالیـت نـورونی بـه میـزان

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

۱۶/۱±۲۸/۸۸ درصد سطح فعالیت در زمان تزریق لیدوکائین گردد یا به عبارت دیگر مورفین توانست به میزان ۱۶/۱±۲۸/۸۸ 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 از میکرواینجکشن لیدوکائین ۴۲/۷٪ و در ۱۵ دقیقه دوم (۱۵–۳۰) بعد از میکرواینجکشن لیدوکائین که هم‌زمان با تزریق زیر جلدی مورفین (۵ mg/kg) هم بوده است، ۴۳/۹٪ بود. هم‌چنین میانگین نرخ فعالیت پایه در نورون مذکور ۰/۲۹±۰/۸۵ اسپایک بر ثانیه بود.



شکل ۴. یک نمونه الگوی فعالیت نورون های بخش قشری هسته اکومبنس در پاسخ به تزریق ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۲٪ به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی و تزریق زیرجلدی 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 اکومبنس در پاسخ به تزریق ۰/۵ میکرولیتر سالین به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی و تزریق زیرجلدی 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.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

بحث و نتیجه‌گیری

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 اکومبنس ۰/۶±۳/۲۱ اسپایک در ثانیه بود و (د) غیر فعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی موجب افزایش میزان فعالیت نورون‌های قشر هسته اکومبنس 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 اکومبنس در مقایسه با تزریق زیرجلدی سالین گردید و از طرفی (و) غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی موجب تغییر الگوی پاسخ‌دهی نورون‌های بخش قشری هسته اکومبنس 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 متاآنالیز داده‌های مطالعات ترجیح مکان شرطی انجام شده توسط باردو و همکاران (۱۹۹۵) هم‌راستا با نتایج به‌دست 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 اوپیوییدها وابسته به فعالیت سیستم دوپامینی مزولیمبیک می‌باشد [۱۹]. اوپیوییدها گیرنده‌های اوپیوییدی μ را فعال و فعالیت عصبی نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی را افزایش می‌دهند [۲۵،۶]. مطالعه حاضر نشان داد که تزریق دوطرفه لیدوکایین در ناحیه تگمنتوم شکمی به طور معنی‌داری باعث کاهش اکتساب ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین شد. این یافته‌ها هم‌راستا با تحقیقات پیشین است که نشان می‌دهند تخریب وابران‌های ناحیه تگمنتوم شکمی به هسته اکومبنس یا متوقف کردن انتقالات دوپامینی در هسته اکومبنس باعث کاهش اثرات تقویتی مواد مخدر در آزمون‌های مختلف من‌جمله ترجیح مکان شرطی می‌شود [۳۱،۵]. مکانیسم‌های 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 کوکایین 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 اکومبنس به عنوان دو ناحیه مهم در سیستم پاداش مغز می‌باشد. مواد مخدر به واسطه مکانیسم‌های 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 اوپیوییدها از طریق مهار کردن ورودی‌های مهاری گابا به ناحیه تگمنتوم شکمی با سیستم دوپامینی تعامل دارند و باعث افزایش رهایش دوپامین

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

در اکومبنس 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 لیدوکایین 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 اکومبنس 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 اکومبنس 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 کاهشی فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبنس، 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 غیرفعال سازی برگشت پذیر ناحیه تگمنتوم شکمی می‌تواند موجب کاهش ترجیح مکان شرطی یا به بیان دیگر کاهش فعالیت الکتریکی نورون‌های قشر هسته اکومبنس درگیر در بروز رفتارهای پاداشی گردد. 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 مهاری 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 بیش‌تری 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 می آید.

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.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

[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, Sahraie 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, Haerri-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 localised 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.

[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 serotonin2C 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] Rezayof 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] Spyraki 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.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

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

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]