مقاله پژوهشی اصیل

دخالت گیرنده‌های نیکوتینی هیپوکامپ پشتی در وابستگی روانی به مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی

هنگامه ذات‌علی
دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

دکتر آمنه رضایوف[1]
دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

دکتر محمدرضا زرین‌دست
گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر علی حائری روحانی
دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

سمیرا رضوی موحد
دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تزریق‌های دوطرفه عوامل نیکوتینی کولینرژیکی به داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ روی ترجیح مکان شرطی‌شده ناشی از مورفین (CPP)، در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار انجام شد. **روش:** کلیه حیوانات توسط دستگاه استرئوتاکس در ناحیه CA_1 هیپوکامپ پشتی به‌صورت دوطرفه کانول‌گذاری شدند. هر حیوان جراحی‌شده به‌مدت یک هفته دوران بهبودی را قبل از CPP طی نمود. برای این کار از یک برنامه پنج روزه با سه مرحله مجزا استفاده شد؛ ابتدا مرحله پیش‌شرطی‌سازی، سپس مرحله شرطی‌سازی و در نهایت مرحله آزمون یا بیان. **یافته‌ها:** تزریق زیرجلدی مقادیر مختلف سولفات مورفین (mg/kg ۶-۰/۵)، با استفاده از شرطی‌سازی سه روزه توانست CPP وابسته به مقدار ایجاد کند. تزریق نیکوتین، آگونیست گیرنده نیکوتینی، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ µg/rat به داخل CA_1 همراه با یک دوز بی‌اثر مورفین (۰/۵ mg/kg) که خود نمی‌توانست CPP مشخصی ایجاد کند سبب تقویت و القای CPP معنی‌داری گردید. تزریق‌های دوطرفهٔ مقادیر مختلف مکامیل‌آمین، آنتاگونیست گیرندهٔ نیکوتینی (۲، ۴ و ۸ µg/rat)، به داخل CA_1، CPP القاشده توسط مورفین (۶ mg/kg) را مهار کرد. همچنین تزریق مکامیل‌آمین ۸ µg/rat به داخل CA_1 اثر تقویت القاشده توسط نیکوتین را در پاسخ به مورفین کاهش داد. **نتیجه‌گیری:** تزریق نیکوتین یا مکامیل‌آمین به‌تنهایی داخل CA_1 ترجیح یا تنفر مکانی مشخصی را القا نمی‌کند. نتایج حاکی از آن است که گیرنده‌های نیکوتینی نواحی CA_1 هیپوکامپ پشتی در پاداش ناشی از مورفین نقش مهمی بازی می‌کنند.

کلید واژه‌ها: سیستم کولینرژیک، نیکوتین، مکامیل‌آمین، مورفین، ترجیح مکان شرطی شده، موش بزرگ آزمایشگاهی

مقدمه

تزریق مورفین، آگونیست گیرندهٔ µ - اپیوئیدی به حیوانات آزمایشگاهی می‌تواند به عنوان یک محرک پاداشی عمل کند و سبب القای ترجیح مکان شرطی‌شده[2] (CPP) شود (ناریتا[3]، فونادا[4] و سوزوکی[5]، ۲۰۰۱). سیستم دوپامینی مزولیمبیک که از ناحیه تگمنتوم شکمی[6] (VTA) شروع شده و به هسته اکومبنس[7] ارسال می‌شود، مهمترین جایگاه مغزی القاکننده پاداش اپیوئیدی است (کوب[8]، روبلدو[9]، مارکو[10] و کاین[11]، ۱۹۹۳) و جایگاه‌های دیگر مغزی مثل هیپوکامپ (کرمی، زرین‌دست، سپهری و صحرایی، ۲۰۰۲) و آمیگدال (زرین‌دست، کرمی، سپهری و صحرایی، ۲۰۰۲) نقش مهمی را در القای پاداش ناشی از

2- conditioned place preference
3- Narita
4- Funada
5- Suzuki
6- ventral tegmental area
7- nucleus accumbens
8- Koob
9- Robledo
10- Markou
11- Caine

۱ - نشانی تماس: تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی.
Email: rezayof@khayam.ut.ac.ir

مورفین بازی می‌کنند. تحقیقات نشان می‌دهد که هیپوکامپ نقش اساسی در یادگیری و حافظه دارد (اوریت[1] و رابینز[2]، ۱۹۹۷) و در یادگیری وابسته به پاداش نیز دخالت دارد. این نقش به‌ویژه وقتی حایز اهمیت است که حیوان مورد آزمایش باید مکان و علایمی را که با مصرف دارو مرتبط شده است به‌یاد بیاورد (وایت[3]، ۱۹۹۶). گزارشی نیز وجود دارد که هیپوکامپ برای میانجیگری بیان یادگیری مکانی (کامپتون[4]، ۲۰۰۴) ضروری می‌باشد. مطالعات مشخص کرده‌اند که سیستم‌های نوروترانسمیتری متعددی در یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ دخالت دارند (فار[5]، فلود[6] و مورلی[7]، ۲۰۰۰). نشان داده شده است که سیستم کولینرژیکی هیپوکامپ در مراحل شکل‌گیری حافظه (هاسلمو[8] و باور[9]، ۱۹۹۳) نقش مهمی ایفا می‌کند و گیرنده‌های نیکوتینی در هیپوکامپ برای تشکیل یادگیری ارتباطی ضروری هستند (ون‌درزی[10]، بی‌امانز[11]، گرکما[12] و دان[13]، ۲۰۰۴). هیپوکامپ انواع ورودی‌های کولینرژیکی را از پیش‌مغز قاعده‌ای[14] و سپتوم دریافت می‌کند که برای عملکردهای عادی یادگیری و حافظه مهم هستند (فروتشر[15] و لرانت[16]، ۱۹۸۵).

محرک‌های حسی شرطی (اینگلیس[17] و فیبیگر[18]، ۱۹۹۵) و غیرشرطی‌شده (اکواس[19]، ویلسون[20] و فیبیگر، ۱۹۹۶) آزاد شدن استیل‌کولین هیپوکامپ و قشری را افزایش می‌دهد. اثرات پاداشی مورفین می‌تواند به‌وسیله الگوی CPP ارزیابی شود (ون‌ری[21]، گریتس[22] و وندرشورن[23]، ۱۹۹۹). اگرچه واضح است که مورفین اثرش را در سطح VTA ایجاد می‌کند (اولمستید[24] و فرانکلین[25]، ۱۹۹۷)، سیستم‌های نوروترانسیمتری متعددی از جمله گلوتامات (برنز[26]، اوریت و رابینز، ۱۹۹۴)، استیل کولین (شیلدن[27]، هاستون[28] و شوارتینگ[29]، ۲۰۰۲)، گابا (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۴)، هیستامین (سوزوکی[30]، تاکاموری[31]، میساوا[32] و اونودرا[33]، ۱۹۹۵) و نیتریک اکساید در ترجیح مکان القاشده توسط مورفین دخالت دارند. لذا با توجه به این مطالعات، در تحقیق حاضر با تحریک و مهار گیرنده‌های نیکوتینی هیپوکامپ به‌وسیله نیکوتین و مکامیل‌آمین، نقش این گیرنده‌ها در چگونگی القای CPP ناشی از مورفین بررسی شده است.

روش

حیوانات آزمایشگاهی و شرایط نگهداری

در این پژوهش از موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار[34] با میانگین وزنی ۲۵۰ – ۲۲۰ گرم استفاده شد. این حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند و به‌صورت گروه‌های چهارتایی نگهداری و برای عادت‌کردن به محیط جدید حدود یک هفته قبل از شروع آزمایش، به حیوان‌خانه منتقل شدند. غذای آنان از کارخانه دام پارس به‌صورت آماده تهیه شد. محل نگهداری حیوانات دارای دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی هفت صبح)، دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتیگراد بود و آزمایش‌ها در زمان معینی از روز انجام می‌گرفت. هشت حیوان در هر گروه تجربی وجود داشت و هر حیوان فقط یک بار آزمایش می‌شد.

دستگاه ترجیح مکان شرطی‌شده

دستگاه سه‌قسمتی ترجیح مکان شرطی‌شده از جنس چوب می‌باشد و بر پایه طرح کار[35] و وایت[36] (۱۹۸۳) ساخته شده است. دو قسمت اصلی دستگاه یعنی A و B هم‌اندازه هستند ولی دیواره‌های قسمت A سفید با نوارهای طولی مشکی به عرض دو سانتی‌متر به‌صورت راه راه است و یک کف توری مشبک دارد. قسمت B دارای دیواره‌های سیاه با نوارهای سفید افقی به عرض دو سانتی‌متر به‌صورت راه راه و یک کف چوبی صاف است. قسمت سوم یک تونل قرمز رنگ است که درهای ورودی قسمت‌های B و A را به یکدیگر مرتبط می‌کند. دستگاه توسط یک در گیوتینی به سه قسمت کاملاً مجزا تقسیم می‌شود.

1- Everitt
2- Robbins
3- White
4- Compton
5- Farr
6- Flood
7- Morley
8- Hasselmo
9- Bower
10- van der Zee
11- Biemans
12- Gerkema
13- Daan
14- basal forebrain
15- Frotscher
16- Leranth
17- Inglis
18- Fibiger
19- Acquas
20- Wilson
21- van Ree
22- Gerrits
23- Vanderschuren
24- Olmstead
25- Franklin
26- Burns
27- Schildein
28- Huston
29- Schwarting
30- Suzuki
31- Takamori
32- Misawa
33- Onodera
34- Wistar
35- Carr
36- White

داروها

کتامین هیدروکلراید و زایلزین به‌عنوان داروهای بی‌هوشی و به‌صورت درون صفاقی تزریق شدند. سولفات مورفین از شرکت تماد ایران تهیه شد و به‌صورت پودر سفید رنگی است که به‌علت حساسیت باید دور از نور نگهداری شود. نیکوتین به‌عنوان آگونیست گیرنده‌های نیکوتینی (شرکت سیگما، آمریکا) و مکامیل‌آمین به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های نیکوتینی (شرکت سیگما، آمریکا) به‌کار گرفته شدند.

همه داروها در نرمال سالین حل شدند، اما به‌علت اسیدی‌بودن نیکوتین، بعد از حل‌شدن در محلول سرم فیزیولوژیک، PH آن به‌وسیلهٔ NaOH یک دهم نرمال، به ۷/۴ -۷/۲ رسانده شد.

روش جراحی و کانول‌گذاری در ناحیه CA_1 هیپوکامپ پشتی

قبل از انجام عمل جراحی حیوان وزن شد و سپس مخلوط داروهای بیهوشی کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) و زایلزین (۴ mg/kg) به‌صورت درون صفاقی با سرنگ انسولین به حیوان تزریق گردید. پس از بیهوشی کامل موهای سر حیوان با قیچی برداشته و حیوان درون دستگاه استرئوتاکس قرار داده شد. سپس توسط اسکالپل ضدعفونی‌شده، پوست روی جمجمه از ناحیه بین دو چشم تا انتهای استخوان پس سری به‌صورت طولی شکاف داده و پوست سر به‌وسیله گیره‌هایی به طرفین کشیده شد. بعد محل شکاف توسط پنبه آغشته به بتادین، ضدعفونی و عضلات و بافت‌های پیوندی زیرین برداشته و استخوان با پنبه آغشته به الکل سفید تمیز شد تا محل برگما و لامبدا مشخص گردد. برگما محل تقاطع درز تاجی و درز سهمی است. درز تاجی محل اتصال استخوان‌های پیشانی و آهیانه و درز سهمی شکاف بین استخوان‌های آهیانه می‌باشد. پس از تعیین نقاط برگما و لامبدا بر اساس اطلس (پاکسینوس[1] و واتسون[2]، ۱۹۸۶)، مختصات محل کانول‌گذاری برای ناحیهٔ CA_1 هیپوکامپ پشتی به شرح زیر مشخص شد: از برگما ۳/۵- تا ۳- میلی‌متر = قدامی‌خلفی، از خط وسط ۲ ± تا ۱/۸± میلی‌متر = میانی‌جانبی، از سطح جمجمه ۳ - تا ۲/۲ - میلی‌متر = خلفی‌شکمی.

پس از تنظیم مختصات دستگاه در راستای قدامی - خلفی و نیز میانی - جانبی، محل ناحیهٔ قاعده‌ای - جانبی CA_1 هیپوکامپ پشتی با جوهر روی جمجمه علامت‌گذاری و سپس توسط مته، دو سوراخ روی استخوان جمجمه تا پردهٔ منژ ایجاد گشت. دو سوراخ کم‌عمق دیگر هم در ناحیهٔ دیگر جمجمه برای نصب پیچ‌های عینک ایجاد شد. سپس کانول راهنما به طول ۱۰ میلی‌متر (تهیه‌شده از سرسوزن ۲۲ گیج) با کمک دستگاه استرئوتاکس در درون محل سوراخ‌شده قرار داده شد. کانول راهنما یک میلی‌متر بالاتر از ناحیهٔ CA_1 قرار گرفت. آنگاه اطراف آن توسط آکریل دندانپزشکی که با محلول مونومر مخلوط شده بود پوشانده شد. به این ترتیب کانول راهنما در محل مورد نظر با سفت‌شدن سیمان دندانپزشکی به‌طور محکم نگه داشته شد. برای جلوگیری از بسته‌شدن مجرای کانول، یک سیم فولادی ضدزنگ که به اندازهٔ کانول بود تا زمان تزریق دارو داخل کانول گذاشته شد. بعد از پایان جراحی، جهت بهبودی حیوان و از بین رفتن استرس جراحی یک هفته به حیوان‌ها استراحت داده شد و بعد از پایان این مدت حیوانات جراحی‌شده مورد آزمایش قرار گرفتند.

روش ترجیح مکان شرطی‌شده

ترجیح مکان شرطی‌شده (CPP) بر اساس طرح غیرطرفدار بر پایهٔ متد دفونسکا[3] و همکاران (۱۹۹۵) پایه‌ریزی شد. این روش شامل یک برنامهٔ پنج روزه با سه فاز مشخص است: مرحله پیش از شرطی‌سازی، مرحله شرطی‌سازی و مرحله آزمون.

۱- مرحلهٔ پیش از شرطی‌سازی: این مرحله اولین روز دوره می‌باشد. در این روز دریچه‌های بین قسمت C و قسمت‌های B و A باز است و هر حیوان به مدت ۱۵ دقیقه داخل دستگاه CPP قرار می‌گیرد تا آزادانه در محیط گردش نماید و زمان توقف در هر خانه به‌منظور تخمین ترجیح، قبل از مراحل شرطی‌شدن اندازه‌گیری می‌شود. موقعیت حیوان توسط موقعیت سر و دست‌های جلویی تعیین می‌شود. موش‌ها به‌طور ذاتی در قسمت A، توری سیمی و در قسمت B رنگ سیاه را ترجیح می‌دهند. بنابراین قبل از تزریق مورفین حیوانات هر دو قسمت را به یک اندازه ترجیح داده، تمایل خاصی به‌هیچیک از دو قسمت نشان نمی‌دهند.

1- Paxinos 2- Watson

3- De Fonseca

۲- مرحلهٔ شرطی‌سازی: این مرحله یک روز بعد از مرحلهٔ پیش از شرطی‌سازی آغاز می‌شود و شامل روزهای دوم، سوم و چهارم آزمایش می‌باشد. این مرحله از شش نشست ۴۵ دقیقه‌ای تشکیل شده است (سه سالین و سه دارو) و در هر روز دو مرحله تزریق انجام می‌شود.

در صبح اولین روز این مرحله، حیوانات بلافاصله بعد از تزریق زیرجلدی سولفات مورفین، در قسمت سفید دستگاه (A) به‌مدت ۴۵ دقیقه قرار می‌گرفتند. بعد از شش ساعت، در عصر همان روز حیوانات به جای دارو، سالین دریافت کرده و در قسمت سیاه دستگاه (B) به مدت ۴۵ دقیقه قرار می‌گرفتند. در طی مدت قرارگیری در هر قسمت، درهای گیوتینی بسته بودند. در صبح دومین روز با رعایت شرایط زمانی دیروز، حیوانات صبح سالین دریافت کرده، در قسمت سیاه و عصر دارو گرفته، در قسمت سفید به مدت ۴۵ دقیقه محصور می‌شدند. در سومین روز شرطی‌سازی، حیوانات مراحل تزریق را همانند روز اول طی می‌کردند. برای مطالعهٔ اثرات آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های کولینرژیک، تزریق این عوامل به داخل CA_1 هیپوکامپ پنج دقیقه قبل از تزریق‌های زیرجلدی سولفات مورفین در طی شرطی‌سازی صورت می‌گرفت. دفونسکا و همکاران (۱۹۹۵) معتقدند که این نوع شرطی‌سازی دو نوبته صبح و عصر برای جلوگیری از تغییرات دورهٔ شبانه‌روزی در بدن موش‌های بزرگ آزمایشگاهی مفید است.

۳- مرحله پس از شرطی‌سازی: در روز پنجم دوره، مانند روز اول دریچه باز می‌شود و موش‌ها در قسمت C قرار داده می‌شوند و به آنها اجازه داده می‌شود که مدت ۱۵ دقیقه آزادانه هر سه قسمت را جستجو کنند. هر حیوان فقط یک‌بار آزمایش می‌شود. زمان سپری‌شده در قسمت دریافت مورفین و دارو برای هر حیوان ثبت می‌شود. برای حیواناتی که مورفین و دارو را در قسمت A دریافت کرده‌اند، اختلاف بین زمان سپری‌شده در قسمت A در روز آزمون و روز پیش از شرطی‌سازی، و برای حیواناتی که در قسمت B مورفین و دارو دریافت کرده‌اند نیز اختلاف بین زمان سپری‌شده در قسمت B در روز آزمون و روز پیش از شرطی‌سازی محاسبه می‌شود. این متغیر به‌عنوان شاخص ترجیح مکانی ناشی از دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد.

اندازه‌گیری حرکت

در طی مرحلهٔ آزمونCPP، فعالیت حرکتی نیز مورد سنجش قرار گرفت. بدین منظور در کف هر یک از قسمت‌های A و B دو خط عمود بر هم به‌شکل به‌علاوه (+) کشیده شده طوری که چهار مربع مساوی به‌وجود آمد. هر بار که حیوان در یکی از مربع‌ها قرار می‌گرفت، به‌عنوان 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 به‌عنوان نمادی از فعالیت حرکتی در نظر گرفته شد.

روش تزریق درون مغزی

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

آزمایش‌های انجام‌شده

۱- آزمایش اول: منحنی دوز - پاسخ برای CPP مورفین: مقادیر مختلفی از مورفین (۰/۵، ۱، ۳ و ۶ mg/kg) به‌صورت تزریق زیرجلدی جهت به‌دست آوردن منحنی دوز - پاسخ مورد استفاده قرار گرفت. چهار گروه از حیوانات در مرحله شرطی‌سازی به تناوب مورفین و سالین دریافت کردند. گروه دیگری نیز به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. به این گروه در کل مرحله شرطی‌سازی فقط سالین تزریق شد. در روز آزمون حیوانات به‌مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه CPP قرار گرفتند تا آزادانه در آن جستجو کنند. تغییر ترجیح[1] بر اساس تفاضل زمان سپری‌شده در ناحیهٔ دریافت دارو، در روز پیش از شرطی‌سازی و روز پس از شرطی‌سازی بر حسب ثانیه محاسبه شد. فعالیت حرکتی نیز در مرحله آزمون سنجیده شد.

1- change of preference

۲- آزمایش دوم: اثرات نیکوتین همراه با مورفین و یا بدون آن بر اکتساب CPP:

الف- اثر نیکوتین بر اکتساب CPP: مقادیر مختلفی از نیکوتین (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ µg/rat) به‌صورت درون هیپوکامپی، به سه گروه از حیوانات بلافاصله قبل از تجویز سالین (۱ ml/kg) در طی مرحله شرطی‌سازی داده شد.

در یک گروه دیگر ابتدا مقدار (۱ µl/rat) از حامل به داخل CA_1 هیپوکامپ تزریق شد و سپس به آنها (۱ ml/rat) از سالین به‌صورت زیرجلدی در طی مرحله شرطی‌سازی تجویز شد. همه حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق در مرحله آزمون قرار گرفتند و فعالیت حرکتی نیز در آنها اندازه‌گیری شد.

ب - اثر نیکوتین بر اکتساب CPP مورفین: چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلفی از نیکوتین (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ µg/rat) و حامل (۱ µl/rat) را به‌صورت درون هیپوکامپی بلافاصله قبل از تجویز مورفین (۰/۵ mg/kg) در طی مرحله شرطی‌سازی دریافت کردند. حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، بدون هیچگونه تزریقی در مرحله آزمون مورد سنجش قرار گرفتند و همچنین در این مرحله فعالیت حرکتی آنها سنجیده شد.

۳- آزمایش سوم: اثرات مکامیل‌آمین همراه با مورفین و یا بدون آن بر اکتساب CPP:

الف- اثر مکامیل‌آمین بر اکتساب CPP: توانایی مکامیل‌آمین (۲، ۴ و ۸ µg/rat) بر القای ترجیح مکان شرطی‌شده در سه گروه از حیوانات تحت شرطی‌سازی سه روزه آزمایش شد.

گروه دیگری نیز سالین درون هیپوکامپی (۱ µl/rat) همراه با سالین زیرجلدی (۱ ml/kg) را در طی مرحله شرطی‌سازی دریافت کرده، به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. کلیه حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، بدون هیچ تزریقی وارد مرحله آزمون شدند و در تمامی آنها فعالیت حرکتی در طی این مرحله اندازه‌گیری شد.

ب - اثر مکامیل‌آمین بر اکتساب CPP مورفین: چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلف مکامیل‌آمین(۲، ۴ و ۸ µg/rat) یا سالین (۱ µl/rat) را بلافاصله قبل از تجویز مورفین (۶ mg/kg) در طی مرحله شرطی‌سازی دریافت کردند. همگی آنها بعد از ۲۴ ساعت از آخرین تزریق و بدون هیچگونه تزریق دیگری مورد آزمون قرارگرفتند. فعالیت حرکتی در طی این مرحله اندازه‌گیری شد.

۴- آزمایش چهارم: اثر مکامیل‌آمین بر واکنش نیکوتین در طی القای CPP توسط مورفین: هشت گروه هشت‌تایی از حیوانات، یک تزریق داخل CA_1 سالین (۱ µl/rat) یا مکامیل‌آمین (۸ µgr/rat) دریافت کردند و پس از پنج دقیقه به آنها حامل (۱ µl/rat) و یا نیکوتین (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ µg/rat) داخل CA_1 تزریق شد. سرانجام همگی آنها فوراً مورفین (۰/۵ mg/kg) یا سالین (۱ ml/kg) را در طی مرحله شرطی‌سازی دریافت کردند و ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق وارد مرحله آزمون شدند. فعالیت حرکتی نیز در طی مرحله آزمون مورد ارزیابی قرار گرفت.

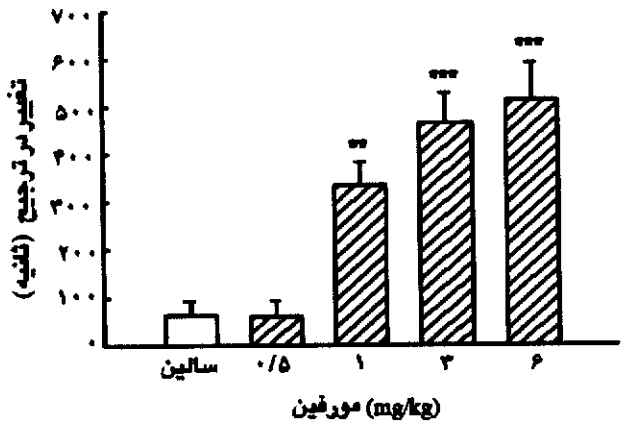
تحلیل آماری

در آزمایش‌های انجام‌شده به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایش، از روش تحلیل واریانس[1] (ANOVA) یکطرفه و دوطرفه و به دنبال آن از آزمون تعقیبی توکی[2] استفاده گردید و اختلاف با $p<0/05$ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزارهای SPSS و INSTAT استفاده شد.

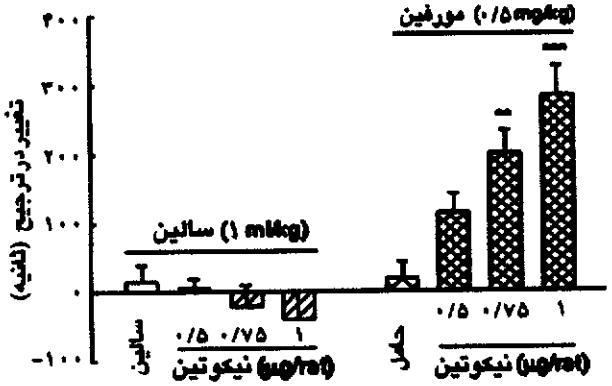
یافته‌ها

۱- آزمایش اول: منحنی دوز – پاسخ برای CPP مورفین: CPP ایجاد شده به‌وسیله تزریق زیرجلدی مقادیر مختلف مورفین در حیواناتی که ناحیهٔ CA_1 هیپوکامپ پشتی آنها کانول‌گذاری شده بود در شکل ۱ نشان داده شده است. آزمون آماری ANOVA یک طرفه نشان داد که تزریق زیرجلدی مورفین سبب القای CPP وابسته به دوز نسبت به گروه شاهد (سالین) شده است [$p<0/0001$ ، $F(4و35)=18/1$]. CPP معنی‌داری در مقادیر ۱، ۳ و ۶ mg/kg به‌دست آمد. بیشترین واکنش به‌دست آمده با مقدار ۶ mg/kg مورفین بود.

1- Analysis of Variance 2- Tukey's post hoc



شکل ۱- *ترجیح مکان شرطی‌شده ناشی از مورفین در حیواناتی که ناحیهٔ CA_1 هیپوکامپ پشتی آنها کانول‌گذاری شده است. داده‌ها بر اساس میانگین± خطای معیار میانگین در هر گروه شامل هشت حیوان بیان شده است*



شکل ۲- *اثرات تزریق دوطرفه نیکوتین به ناحیهٔ CA_1 هیپوکامپ پشتی به تنهایی یا همراه با مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده*

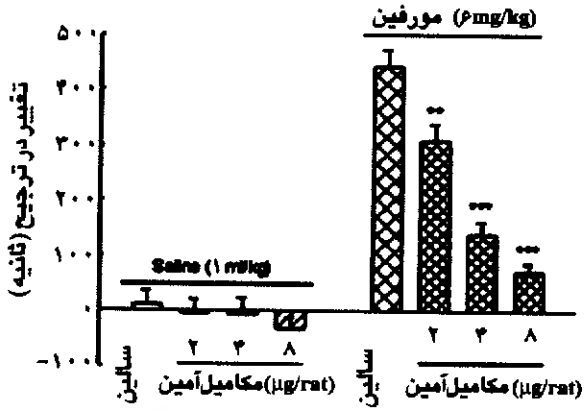
۲- آزمایش دوم: اثرات نیکوتین همراه یا بدون مورفین بر اکتساب CPP: شکل ۲ تاثیر تزریق دو طرفه مقادیر مختلف نیکوتین (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ µg/rat) یا سالین (۱ µl/rat) داخل CA_1 را در غیاب یا حضور مورفین (۰/۵ mg/kg) بر اکتساب CPP نشان می‌دهد. آزمون آماری ANOVA دوطرفه وجود تفاوت معنی‌داری را بین پاسخ نیکوتین و نیکوتین همراه با مورفین بر اکتساب CPP نشان داد. نتایج اثرات معنی‌دار به‌صورت زیر بود: [مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار: $p<0/001$، $F(3و56)=43/1$؛ اثر مقدار: $p<0/01$، $F(3و56)=4/4$؛ تیمار × مقدار: $p<0/0001$ و $F(3و56)=9/1$].

به‌علاوه نتایج مشخص کرد که دوز کمتر مورفین (۰/۵ mg/kg) یا نیکوتین (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ µg/rat) داخل CA_1 به‌تنهایی CPP معنی‌داری را القا نکرد، ولی مصرف نیکوتین همراه مورفین توانست اکتساب CPP به‌وسیله مورفین (۰/۵ mg/kg) را تقویت کند.

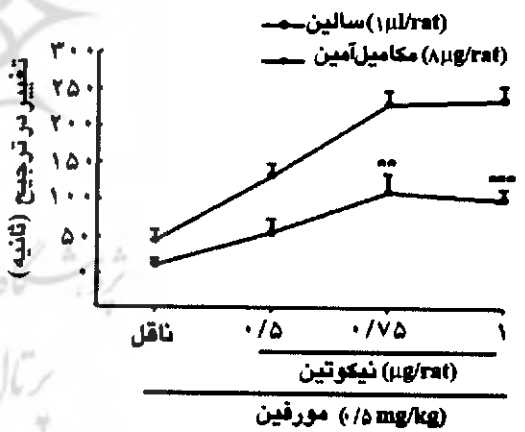
۳ – آزمایش سوم: اثرات مکامیل‌آمین با مورفین یا بدون مورفین بر اکتساب CPP: شکل ۳ تأثیر تزریق دوطرفه مقادیر مختلف مکامیل‌آمین (۲، ۴ و ۶ µg/rat) یا سالین (۱ µl/rat) را در غیاب یا حضور مورفین (۶ mg/kg) بر اکتساب CPP نشان می‌دهد. آزمون آماری ANOVA دوطرفه تداخل معنی‌داری را بین مورفین و مکامیل‌آمین در اکتساب CPP نشان داد [مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار: $p<0/001$، $F(3و56)=177/2$؛ اثرمقدار: $p<0/0001$، $F(3و56)=28/2$؛ تداخل تیمار× مقدار: $p<0/0001$، $F(3و56)=18/9$].

علاوه بر این، آزمون آماری ANOVA یک طرفه نشان داد که مقادیر مختلف مکامیل‌آمین (۲، ۴ و ۸ µg/rat) به تنهایی قادر به القای ترجیح یا تنفر مکان شرطی‌شده نمی‌باشد. همچنین مصرف مکامیل‌آمین همراه با مورفین توانست CPP القاشده به‌وسیله مورفین را به شکل وابسته به مقدار مهار نماید.

۴- آزمایش چهارم: اثر مکامیل‌آمین روی تقویت القاشده توسط نیکوتین در طی CPP مورفین: شکل ۴ اثرات مکامیل‌آمین (۸ µg/rat) روی ترجیح مکان القاشده به‌وسیله مورفین (۰/۵ mg/kg) در ترکیب با نیکوتین(۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ µg/rat) را نشان می‌دهد. ANOVA دوطرفه مشخص کرد که مکامیل آمین اثرات نیکوتین روی پاسخ مورفین را کاهش می‌دهد. [مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار: $p<0/001$، $F(3و56)=52/8$؛ اثر مقدار: $p<0/0001$، $F(3و56)=29/6$؛ تداخل تیمار× مقدار: $p<0/05$، $F(3و56)=3/3$]. نتایج نشان داد که مکامیل‌آمین پاسخ القاشده به‌وسیله نیکوتین را معکوس می‌کند و اثرات مورفین را مهار می‌نماید.



شکل ۳- *اثرات تزریق دوطرفه مکامیل‌آمین به داخل CA_1 هیپوکامپ پشتی به تنهایی یا همراه با مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی‌شده*



شکل ۴- *اثرات تزریق دوطرفه سالین و مکامیل‌آمین قبل از تزریق نیکوتین به داخل ناحیهٔ CA_1 هیپوکامپ پشتی همراه با مورفین (۰/۵mg/kg) بر روی اکتساب ترجیح مکان شرطی‌شده*

بحث

در تحقیق حاضر، تیمارهای شرطی‌سازی با مورفین به‌صورت وابسته به مقدار، توانست CPP معنی‌داری را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ایجاد نماید. مشاهده شد که بیشترین اثر به وسیلهٔ 6 mg/kg مورفین به‌دست می‌آید. این یافته‌ها با مطالعات قبلی همخوان است و اثبات می‌نماید که اثرات پاداشی آگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی می‌تواند به محرک‌های محیطی شرطی شود؛ به عبارت دیگر، اثرات دارو با محرک‌های محیطی جفت می‌شود (شیپنبرگ[1]، هیدبردر[2] و لفوور[3]، ۱۹۹۶). از آنجا که مشتقات تریاک آزادشدن دوپامین را در نواحی مختلف مغز تنظیم می‌کنند (گوچی[4]، آجید[5]، گلووینسکی[6]، چرامی[7] و اکسیوت[8]، ۱۹۷۳)، احتمالاً این پدیده در شلیک عصبی نورون‌های دوپامینی در VTA و متعاقب آن افزایش دوپامین در هسته آکومبنس و سایر نواحی دخالت دارد (کوب، ۱۹۹۲). به هر حال شواهد زیادی وجود دارد که مشخص می‌کند، مکانیسم‌های غیردوپامینی هم می‌تواند در پاداش مورفین دخالت داشته باشد (کالیواس[9] و استوارت[10]، ۱۹۹۱). برخی مطالعات نشان می‌دهند که فعالیت گیرنده‌های نیکوتینی، تقویتی و پاداشی هستند (مک‌براید[11]، مورفی[12] و ایکیماتو[13]، ۱۹۹۹).

همچنین مطالعات نشان داده‌اند که یادگیری برای توسعه پاداش وابسته به مشتقات تریاک مهم است (لو[14]، زنگ[15]، لیو[16] و سنگ[17]، ۲۰۰۰) و سبب القای CPP می‌شود (بنینگر[18] و میلر[19]، ۱۹۹۸). بنابراین تحریک و مهار گیرنده‌های کولینرژیک در ناحیه CA_1 هیپوکامپ احتمالاً می‌تواند بیان و کسب ترجیح مکان شرطی‌شده مورفین را تغییر دهد.

در این راستا سایر تحقیقات انجام‌شده نشان می‌دهد که سیستم کولینرژیکی هیپوکامپ برای فعالیت‌های هیجانی و شناختی مرتبط با هیپوکامپ ضروری می‌باشد (آلوازی[20]، ۱۹۹۷).

در این مطالعه تزریق‌های دوطرفه نیکوتین به داخل نواحی CA_1 هیپوکامپ پشتی به همراه یک دوز بی‌اثر مورفین که CPP معنی‌داری را القا نمی‌کند، در طی کسب ترجیح مکانی توانست پاسخ مورفین را افزایش دهد. تحقیقات نشان می‌دهد

1- Shippenberg
2- Heidberder
3- Lefevour
4- Gauchy
5- Agid
6- Glowinski
7- Cheramy
8- Acute
9- Kalivas
10- Stewart
11- McBride
12- Murphy
13- Ikemoto
14- Lu
15- Zeng
16- Liu
17- Ceng
18- Beninger
19- Miller
20- Aloisi

که تحریک گیرنده‌های نیکوتینی مرکزی خصوصاً آنهایی که در VTA قرار دارند، آزادشدن دوپامین را در هسته آکومبنس افزایش می‌دهد (کلارک[1]، فو[2]، جاکوبوویک[3]، فیبیگر[4]، ۱۹۸۸). مدارک متعددی حاکی از آن است که نیکوتین و مورفین اثر تقویتی خود را به‌علت تسهیل انتقال دوپامینرژیک ایجاد می‌کنند (دی‌کیارا[5]، ۱۹۸۸). وجود ارتباط بین گیرنده‌های نیکوتینی و سیستم‌های اوپیوئیدی در کنترل آزادشدن دوپامین و القای CPP (زرین‌دست، رضایوف، صحرائی، روحانی و رسولی، ۲۰۰۳)، نشان می‌دهد که تزریق نیکوتین داخل CA_1 خواص دوپامینی مورفین را افزایش می‌دهد و مشخص می‌کند که نیکوتین در یادگیری و حافظه دخالت دارد.

تحقیقات نشان می‌دهد که نیکوتین (اولاسون[6]، جنش[7] و تیلور[8]، ۲۰۰۳) به همراه مورفین یادگیری وابسته به پاداش و CPP را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی افزایش می‌دهد. مطالعات بیان می‌کند که تزریق‌های دوطرفه آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی، مکامیل‌آمین به داخل نواحی CA_1 هیپوکامپ پشتی به‌صورت وابسته به مقدار، ترجیح مکانی القاشده توسط کوکائین را نیز تخریب می‌کند (زاکاریو[9] و همکاران، ۲۰۰۱).

به‌نظر می‌رسد که آگونیست گیرنده‌های نیکوتینی باعث تسهیل اثرات تقویتی و پاداشی می‌شوند و مکامیل‌آمین به‌عنوان آنتاگونیست، واکنش‌های رفتاری القاشده توسط نیکوتین را متوقف می‌کند (ناکاهارا[10]، ۲۰۰۴). مکامیل‌آمین آزادشدن دوپامین توسط نیکوتین در هسته آکومبنس را مهار می‌کند (نیسل[11]، نومیکوس[12] و سونسون[13]، ۱۹۹۴). یافته‌های حاضر مشابه نتایج به‌دست آمده توسط گارسیاربولو[14]، داربرا[15] و فر[16] (۲۰۰۵) است که نشان دادند تزریق نیکوتین به داخل ناحیه CA_1 اثری وابسته به مقدار بر دریافت الکل در روش خودتزریقی دارد و می‌تواند توسط تزریق همزمان مکامیل‌آمین خنثی شود.

در مطالعه حاضر برای اولین بار، نشان داده شد که تزریق داروها داخل CA_1 در مقادیری که در این آزمایش‌ها استفاده شد نمی‌تواند فعالیت حرکتی را در مقایسه با گروه‌های شاهد، در طی فاز آزمون تغییر دهد. این مطلب نشان‌دهنده آن است که نتایج به‌دست آمده تحت تأثیر هیچگونه تغییر فعالیت حرکتی قرار نگرفته است (سوخوتینا[17]، ۲۰۰۱).

از سوی دیگر، نتایج حاصل برای اولین بار موید آن است که تزریق نیکوتین یا مکامیل‌آمین به داخل CA_1، به تنهایی ترجیح یا تنفر مکانی مشخصی را القا نکرد و تأثیری هم بر فعالیت‌های حرکتی در حیوانات نداشت. سایر مطالعات نشان داده‌اند که هیپوکامپ به‌تنهایی در سازوکارهای پاداشی دخالت ندارد (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۳) و به‌نظر می‌رسد احتمالاً گیرنده‌های نیکوتینی به‌تنهایی در نواحی CA_1 هیپوکامپ در شروع واکنش‌های پاداشی دخالت ندارند، ولی به علت دخالتشان در یادگیری وابسته به پاداش می‌توانند با CPP مورفین مرتبط شوند.

برخی تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت گیرنده‌های نیکوتینی (هانتر[18]، دفیبره[19]، پاپکه[20]، کم[21] و میر[22]، ۱۹۹۴) در هیپوکامپ، القای LTP را تسهیل می‌کند. علاوه بر آن مکامیل‌آمین (نیشیزاکی[23] و همکاران، ۱۹۹۹) القای LTP ارتباطی را کاهش می‌دهد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر و مطالعات سایر محققان می‌توان چنین نتیجه گرفت که تزریق‌های داخل CA_1 آگونیست‌ها یا آنتاگونیست‌های گیرنده‌های نیکوتینی کولینرژیکی به‌ترتیب یادگیری و حافظه را تسهیل یا مهار می‌کنند، بنابراین قادرند ترجیح مکانی القاشده توسط مورفین را به‌ترتیب ایجاد یا مهار نمایند. شواهد نشان داده‌اند که احتمالاً هیپوکامپ برای ترکیب محرک‌های محیطی و پاسخ‌های داخلی تولیدشده مورد نیاز است. تحقیقات نشان داده است که هیپوکامپ پشتی شرطی‌سازی زمینه را هم در شرطی‌سازی ترس

1- Clarke
2- Fu
3- Jakubovic
4- Fibiger
5- Di Chiara G.
6- Olausson
7- Jentsch
8- Taylor
9- Zachariou
10- Nakahara
11- Nisell
12- Nomikos
13- Svensson
14- Garcia-Rebollo
15- Darbra
16- Ferre
17- Sukhotina
18- Hunter
19- De Fiebre
20- Papke
21- Kem
22- Meyer
23- Nishizaki

و هم در شرطی‌سازی مکانی (فربینتنو[1] و مک‌دونالد[2] ۲۰۰۱) میانجی‌گری می‌کند. بر این اساس نتایج حاضر نشان می‌دهند که تحریک گیرنده‌های نیکوتینی می‌تواند با یادگیری زمینه‌ای CPP تداخل کند. تحقیقات نشان داده‌اند که تزریق مورفین مستقیماً به داخل هیپوکامپ می‌تواند CPP را القا کند (کوریگال[3] و لینسمن،[4] ۱۹۸۸).

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

موارد زیر به عنوان پیشنهادهایی برای مطالعات بعدی ارایه می‌گردد: بررسی نقش گیرنده‌های نیکوتینی کولینرژیکی سایر نواحی مرتبط با سیستم پاداش مغز نظیر سپتوم میانی، هیپوتالاموس و لوکوس سرولئوس در وابستگی روانی به مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی؛ بررسی برهم‌کنش سیستم دوپامینرژیک و نیکوتینی کولینرژیک هیپوکامپ در وابستگی روانی به مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی؛ بررسی نقش سیستم نیکوتینی کولینرژیک در ناحیه تگمنتوم شکمی، هسته آکومبنس، هیپوکامپ و آمیگدال بر القای تحمل و افزایش حساسیت نسبت به مورفین با استفاده از روش ترجیح مکان شرطی‌شده در موش بزرگ آزمایشگاهی.

سپاسگزاری

از زحمات فراوان مسؤولین آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشکده زیست شناسی پردیس علوم دانشگاه تهران بسیار تشکر می‌گردد.

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۳/۱۸؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۱/۱۷

1- Ferbinteanu
2- McDonald
3- Corrigall
4- Linseman

منابع

Acquas, E., Wilson, C., & Fibiger, H. C. (1996). Conditioned and unconditioned stimuli increase frontal cortical and hippocampal acetylcholine release: Effect habituation and fear. *Journal of Neuroscience,16*, 3089-3096.

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

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

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. *Beahavioral and Neural Biology*, *61*, 242-250.

Carr G. D., & White, N. M. (1983) Conditioned place preference from intraaccumbens but not intra-caudate amphetamine injections. *Life Science, 33*, 2551–2557.

Clarke, P. B., Fu, D. S., Jakubovic, A., & Fibiger, H. C. (1988). Evidence that Mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *246*, 701-708.

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 morphine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *30*, 787-789.

De Fonseca, F. R. D., Rubio, P., Martin-Caldon, J. L., Caine, S. B., Koob, G. F., & Navarro, M. (1995). The dopamine receptor agonist 7-OH-DPAT modulates the acquisition and expression of morphine-induced place preference. *European Journal of Pharmacology, 274*, 47–55.

Di Chiara, G. (2000). Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *European Journal of Pharmacology*, *393*, 295-314.

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

Farr, S. A., Flood, J. F., & Morley, J. E. (2000). The effect of cholinergic, GABAergic, serotonergic, and glutamatergic receptor modulation on posttrial memory processing in the hippocampus. *Neurobioloy, Learning and Memory*, *73*, 150-167.

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

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

Garcia-Rebollo, Y., Darbra, S., & Ferre, N. (2005). Intra-hippocampal nicotine in alcohol drinking rats--effects on lever–press response. *European Neuropsycho-pharmacology, 15*, 43-49.

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*, 311-319.

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

Hunter, B. E., de Fiebre, C. M., Papke, R. L., Kem, W. R., & Meyer, E. M. (1994). A novel nicotinic agonist facilitates induction of long-term potentiation in the rat hippocampus. *Neuroscience Letters, 168*, 130-134.

Inglis, F. M., & Fibiger, H. C. (1995). Increases in hippocampal and frontal cortical acetylcholine release associated with presentation of sensory stimuli. *Neuroscience, 66*, 81-86.

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 CA_1 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 P. W. Kalivas & C. D. Barnes (Eds.), *Limbic motor circuits and neuropsychiatry* (pp. 289-305). Boca Raton, CRC Press.

Lu, L., Zeng, S., Liu, D., & Ceng, X. (2000). Inhibition of the amygdala and hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II attenuates the dependence and relapse to morphine differently in rats. *Neuroscience Letters, 291*, 191-195.

McBride, W. J., Murphy, J. M., & Ikemoto, S. (1999). Localization of brain reinforcement mechanisms: Intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behavioral Brain Research, 101*, 129-152.

Nakahara, D. (2004). Influence of nicotine on brain reward systems: Study of intracranial self-stimulation. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1025*, 489-490.

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

Nisell, M., Nomikos, G. G., & Svensson, T. H. (1994). Systemic nicotine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens is regulated by nicotinic receptors in the ventral tegmental area. *Synapse, 16*, 36-44.

Nishizaki, T., Matsuoka, T., Nomura, T., Matsuyama, S., Watabe, S., Shiotani, T., & Yoshii, M. (1999). A long-term-potentiation-like facilitation of hippocampal synaptic transmission induced by the nootropic nefiracetam. *Brain Research, 826*, 281-288.

Olausson, P., Jentsch, J. D., & Taylor, J. R. (2003). Repeated nicotine exposure enhances reward-related learning in the rat. *Neuropsychopharmacology, 28*, 1264-1271.

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

Paxinos, G., & Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, Sydney.

Schildein, S., Huston, J. P., & Schwarting, R. 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*, 277-290.

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

Sukhotina, I. A. (2001). Morphine withdrawal-facilitated aggression is attenuated by morphine-conditioned stimuli. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 68*, 93-98.

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*, 195–202.

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,* 508-519.

van Ree, J. M., Gerrits, M. A., Vanderschuren, L. J. (1999). Opioids, reward and addiction: An encounter of biology, psychology, and medicine. *Pharmacology and Therapeutics, 51,* 341-396.

White, N. M. (1996). Addictive drugs as reinforcers: Multiple partial actions on memory systems. *Addiction, 91,* 921-949.

Zachariou, V., Caldarone, B. J., Weathers-Lowin, A., George, T. P., Elsworth, J. D., Roth, R. H., Changeux, J. P., & Picciotto, M. R. (2001). Nicotine receptor inactivation decreases sensitivity to cocaine. *Neuropsychopharmacology, 24,* 576-589.

Zarrindast, M. R., Ahmadi, 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,* 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), 81-89.

Zarrindast, M. R., Rezayof, A., Sahraei, H., Haeri-Rohani, A., & Rassouli, Y. (2003). Involvement of dopamine D1 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat. *Brain Research, 965,* 212-221.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی