

مقاله پژوهشی اصیل

نقش گیرنده‌های موسکارینی ناحیه تگمنتوم شکمی، در اکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی

فرزانه نظری سررنجه

دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

دکتر آمنه رضایوف^۱

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تهران

یاسمن رسولی

دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

دکتر محمدرضا زرین‌دست

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

هدف: ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA) مرکز اصلی پاداش است. در این تحقیق، اثرات تزریق آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی به ناحیه VTA، بر ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین بررسی شد. **روش:** کانول‌گذاری موش‌های بزرگ آزمایشگاهی به صورت دوطرفه در ناحیه VTA و با استفاده از دستگاه استریوتاکسی صورت گرفت. کلیه حیوانات جراحی شده به مدت یک هفته قبل از القای ترجیح مکان شرطی شده (CPP) دوره بهیودی را گذراندند. CPP به روش بدون سوگیری و به صورت یک برنامه پنج روزه در سه مرحله اجرا شد: مرحله پیش‌شرطی‌سازی یا آشنایی، مرحله شرطی‌سازی و مرحله آزمون. **یافته‌ها:** تیمارهای شرطی‌سازی با مقادیر مختلف سولفات مورفین توانست به صورت وابسته به مقدار، CPP معنی‌داری ایجاد کند. تزریق مقادیر مختلف فیزوستیگمین (مهارکننده کولین استراز) همراه با یک دوز بی‌اثر مورفین به داخل VTA توانست در یک روش وابسته به مقدار، اکتساب CPP را افزایش دهد. تزریق آتروپین، آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی، به داخل VTA توانست هم ترجیح مکان شرطی شده به وسیله دوز بالای مورفین و هم پاسخ تقویتی القاشده به وسیله فیزوستیگمین را مهار نماید. تزریق فیزوستیگمین داخل VTA به تنهایی تنفر مکانی معنی‌داری القا نمود، درحالی که آتروپین چنین اثری نداشت. مقادیر بالای فیزوستیگمین یا آتروپین به تنهایی و همچنین تزریق همزمان آتروپین و فیزوستیگمین در ترکیب با یک مقدار بی‌اثر مورفین باعث کاهش فعالیت حرکتی گردید. **نتیجه‌گیری:** گیرنده‌های موسکارینی ناحیه تگمنتوم شکمی در القای اثرات پاداشی مورفین نقش بسزایی دارند.

کلید واژه‌ها: مورفین، فیزوستیگمین، آتروپین، ترجیح مکان شرطی شده، ناحیه تگمنتوم شکمی

مقدمه

با حذف اثر مهارتی اینترنورون‌های گابانرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی^۱ (VTA)، نورون‌های دوپامینی این ناحیه را تحریک می‌کند و به این وسیله سبب افزایش انتقال دوپامین به هسته اکومبسنس و در نتیجه بروز اثرات پاداشی خود می‌شود (مک‌براید^۲،

بررسی‌های متعدد نشان داده‌اند که سیستم دوپامینی مزولیمبیک در بروز اثرات پاداشی مشتقات تریاک، از جمله مورفین، نقش مهمی به عهده دارد (مانزاندو^۳، آگویلاز^۴، رودریگویز-آریاس^۵ و مینارو^۶، ۲۰۰۱؛ اولمستید^۷ و فرانکلین^۸، ۱۹۹۷ الف و ب). مورفین

2- Manzanedo
4- Rodriguez-arias
6- Olmstead
8- ventral tegmental area

3- Aguilar
5- Minarro
7- Franklin
9- McBride

۱- نشانی تماس: تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست‌شناسی.

Email: rezayof@khayam.ut.ac.ir

فرزانه نظری سرنجه و همکاران

نقش دارند. استیل کولین در VTA از طریق اثر بر گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی، سبب دپولاریزاسیون نورون‌های دوپامینی می‌شود (یئومنز، ۱۹۹۵؛ پیدوپلیکو، دی‌بیاسی^{۲۸}، ویلیامز^{۲۹} و دنی، ۱۹۹۷)، بنابراین بین مشتقات تریاک و سیستم کولینرژیک در VTA برهم‌کنش وجود دارد (واکر^{۳۰}، مک‌گلین^{۳۱}، گری^{۳۲}، راگوزینو^{۳۳} و گلد^{۳۴}، ۱۹۹۱؛ زرین‌دست و جمشیدزاده، ۱۹۹۲). مطالعه دیگری نیز نقش سیستم کولینرژیک ناحیه هیپوکامپ پستی را در CPP مورفین تأیید نموده است (رضایوف، ذات‌علی، حائری روحانی و زرین‌دست، ۲۰۰۶). علیرغم اثبات نقش سیستم کولینرژیک در رفتارهای وابسته به پاداش و نقش مهم ناحیه VTA در فرآیند پاداش، تاکنون دربارهٔ ارتباط سیستم کولینرژیک و اپیوئیدرژیک ناحیه VTA در بروز اثرات پاداشی مشتقات تریاک تحقیقی نشده است. مطالعه حاضر با تحریک و مهار گیرنده‌های موسکارینی ناحیه VTA به‌وسیله فیزوستیگمین و آتروپین، نقش این گیرنده‌ها را در چگونگی القای CPP ناشی از مورفین بررسی کرده است.

روش

در این تحقیق از موش بزرگ آزمایشگاهی^{۳۵} نر نژاد ویستار^{۳۶} به وزن تقریبی ۳۰۰-۲۴۰ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بود، استفاده گردید. یک هفته قبل از شروع آزمایش، حیوانات به حیوانخانه دارای دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد و دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی شش صبح) منتقل و به‌صورت گروه‌های چهارتایی نگهداری شدند. هر گروه آزمایشی،

مورفی^۱ و ایکیموتو^۲، ۱۹۹۹؛ میلر^۳، فارستر^۴، یئومنز^۵ و بلاها^۶، ۲۰۰۵). اما به نظر می‌رسد که این مسیر دوپامینی تنها مسیر درگیر در اثرات پاداشی مشتقات تریاک نیست. VTA از هسته‌های تگمتموم پدونکولوپوننتین^۷ و پستی - جانی^۸ ورودی‌های کولینرژیک دریافت می‌کند که مستقیم و غیرمستقیم فعالیت نورون‌های دوپامینی و در نتیجه فعالیت سیستم پاداشی مغز را تحت تأثیر قرار می‌دهد (میلر و بلاها، ۲۰۰۵؛ میلر و همکاران، ۲۰۰۵). در نتیجه تنظیم کولینرژیک آزاد شدن دوپامین در تحریک پاداشی مغز بسیار ضروری است (یئومنز و باپتستان^۹، ۱۹۹۷؛ یئومنز، فارستر و بلاها، ۲۰۰۱). استیل کولین نقش مهمی در کنترل رفتارهای وابسته به پاداش، تغذیه و مهارت‌های حرکتی دارد (گریلنر^{۱۰}، بونسی^{۱۱}، سونسون^{۱۲}، برناردی^{۱۳} و مرکوری^{۱۴}، ۱۹۹۹؛ دی‌کیارا^{۱۵}، ۲۰۰۰). این ناقل عصبی از طریق اتصال به دو زیرنوع اصلی از گیرنده‌های غشایی، یعنی گیرنده‌های موسکارینی و گیرنده‌های نیکوتینی (که از ترکیب پنج زیرواحد از زیرواحد‌های $\alpha_1 - \alpha_2$ و $\beta_1 - \beta_2$ ایجاد می‌شوند) اثر خود را اعمال می‌کند (وولتورتون^{۱۶}، پیدوپلیکو^{۱۷}، بروید^{۱۸} و دنی^{۱۹}، ۲۰۰۳). مشخص شده است که VTA دارای مقادیر بالایی از آنزیم سازنده استیل کولین، یعنی استیل کولین ترانسفراز و آنزیم غیرفعال‌کننده آن، یعنی استیل کولین استراز می‌باشد (گرین‌فیلد^{۲۰}، ۱۹۹۱). اگرچه به گیرنده‌های موسکارینی ناحیه VTA توجه کمی شده، حضور آنها در VTA اثبات شده است (وینر^{۲۱}، لوی^{۲۲} و بران^{۲۳}، ۱۹۹۰).

تحریک گیرنده‌های موسکارینی که روی نورون‌های دوپامینی VTA قرار گرفته‌اند، باعث آزاد شدن دوپامین در هسته اکومبسن می‌شود (گرونیر^{۲۴}، پری^{۲۵} و راسموسن^{۲۶}، ۲۰۰۰) و این آزادسازی نقش مهمی در فعالیت سیستم پاداش دارد (یئومنز و باپتستان، ۱۹۹۷). مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که ترجیح مکان شرطی شده^{۲۷} (CPP) روش مناسبی برای ارزیابی وابستگی روانی و عوامل مغزی مؤثر بر آن می‌باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که مورفین باعث تولید CPP می‌شود (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۴؛ زرین‌دست، فتاحی، رستمی و رضایوف، ۲۰۰۵؛ رضایوف، رضوی، حائری روحانی، رسولی و زرین‌دست، ۲۰۰۷) و پیشنهاد کرده‌اند که سیستم‌های ناقل عصبی متعددی در بیان CPP مورفین

1- Murphy	2- Ikemoto
3- Miller	4- Forster
5- Yeomans	6- Blaha
7- pedunclopontine	8- laterodorsal
9- Baptista	10- Grillner
11- Bonci	12- Svensson
13- Bernardi	14- Mercuri
15- Di Chiara	16- Wooltorton
17- Pidoplichko	18- Broid
19- Dani	20- Greenfield
21- Weiner	22- Levey
23- Brann	24- Gronier
25- Perry	26- Rasmussen
27- Conditioned Place Preference	28- DeBiasi
29- Williams	30- Walker
31- McGlynn	32- Grey
33- Ragozzino	34- Gold
35- rat	36- Wistar

هشت حیوان داشت و هر حیوان فقط یک بار آزمایش می شد. تمام آزمایش ها نیز در زمان معینی از روز انجام می گرفت. برای انجام آزمایش های این تحقیق از مواد و داروهای زیر استفاده شد: کتامین هیدروکلراید و زایلین مخلوط شده که به عنوان داروی بیهوشی و به صورت درون صفاقی تزریق می شد؛ سولفات مورفین؛ فیزوستیگمین به عنوان آگونیست گیرنده های موسکارینی؛ آتروپین به عنوان آنتاگونیست گیرنده های موسکارینی.

به منظور جراحی و کانول گذاری، ابتدا حیوان وزن و سپس با تزریق درون صفاقی مخلوط کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) و زایلین (۴ mg/kg) بیهوش می شد. آن گاه با استفاده از دستگاه استریوتاکسی و مختصات ناحیه VTA بر اساس اطلس [از برگما ۵/۸ - قدامی - خلفی (AP)؛ از خط وسط ± 0.9 mm = میانی - جانبی (ML)؛ از سطح جمجمه ۸ mm = خلفی - شکمی (DV)]. کلیه حیوانات در ناحیه VTA کانول گذاری شدند. حیوانات جراحی شده به مدت یک هفته قبل از CPP دوره بهبودی را گذراندند. دستگاه ترجیح مکان شرطی شده (CPP) سه قسمتی و از جنس چوب و بر اساس طرح کار و وایت ساخته شده بود. روش ترجیح مکان شرطی شده بر اساس طرح بدون سوگیری و بر پایه روش دفونسکا^۱ و همکاران (۱۹۹۵) طراحی شده بود. این روش یک برنامه پنج روزه با سه مرحله مشخص می باشد که عبارتند از: مرحله پیش از شرطی سازی، مرحله شرطی سازی و مرحله آزمون (رضایوف و همکاران، ۲۰۰۶).

مراحل آزمایش ها

۱- آزمایش اول، منحنی مقدار- پاسخ برای CPP مورفین: برای به دست آوردن منحنی مقدار- پاسخ، مقادیر مختلف سولفات مورفین (۰/۵، ۲/۵، ۵، ۷/۵ mg/kg) به صورت زیرجلدی تزریق شد. چهار گروه از حیوانات در طی مرحله شرطی سازی به تناوب مورفین و سالین دریافت کردند. به گروه پنجم نیز به عنوان گروه شاهد، در طی مرحله شرطی سازی فقط سالین تزریق شد. در طی مرحله آزمون، فعالیت حرکتی هر پنج گروه ارزیابی گردید.

۲- آزمایش دوم، اثر فیزوستیگمین (آگونیست گیرنده موسکارینی) همراه مورفین یا بدون آن بر اکتساب CPP: ابتدا

توانایی فیزوستیگمین در القای CPP، بدون حضور مورفین ارزیابی شد. به این ترتیب که در طی مرحله شرطی سازی ابتدا به سه گروه از حیوانات مقادیر مختلف فیزوستیگمین (۰/۵، ۲/۵ و ۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$) به صورت داخل VTA و بلافاصله بعد از آن سالین (۱ ml/kg) به صورت زیرجلدی تزریق شد. یک گروه نیز به عنوان شاهد ابتدا یک تزریق درون VTA سالین (۱ $\mu\text{l}/\text{rat}$) و بلافاصله بعد از آن تزریق زیرجلدی سالین (۱ ml/kg) دریافت کرد. همه گروه ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، بدون هیچ گونه تزریقی وارد مرحله آزمون شدند و طی این مرحله فعالیت حرکتی آنها نیز مورد سنجش قرار گرفت. چهار گروه دیگر از حیوانات در طی مرحله شرطی سازی ابتدا به صورت داخل VTA سالین (۱ $\mu\text{l}/\text{rat}$) یا فیزوستیگمین (۰/۵، ۲/۵ و ۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$) و سپس تزریق زیرجلدی مورفین (۰/۵ mg/kg) دریافت کردند و به این ترتیب اثر فیزوستیگمین بر اکتساب CPP مورفین ارزیابی شد. کلیه گروه ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق در مرحله آزمون قرار گرفتند. در این مرحله فعالیت حرکتی آنها نیز اندازه گیری شد.

۳- آزمایش سوم، اثر آتروپین (آنتاگونیست گیرنده موسکارینی) همراه مورفین یا بدون آن بر اکتساب CPP: برای ارزیابی اثر آتروپین بر اکتساب CPP مورفین، قبل از تزریق زیرجلدی مورفین و در طی مرحله شرطی سازی، به چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلف آتروپین (۱، ۲ و ۴ $\mu\text{g}/\text{rat}$) یا سالین (۱ $\mu\text{l}/\text{rat}$) به صورت درون VTA تزریق شد. سه گروه از حیوانات نیز ابتدا تزریق آتروپین (۱، ۲ و ۴ $\mu\text{g}/\text{rat}$) به داخل VTA و سپس تزریق زیرجلدی سالین (۱ ml/kg) دریافت کردند. یک گروه نیز به عنوان گروه شاهد، سالین درون مغزی (۱ $\mu\text{l}/\text{rat}$) همراه با سالین زیرجلدی (۱ ml/kg) دریافت کرد. در طی مرحله آزمون، فعالیت حرکتی همه گروه ها ارزیابی شد.

۴- آزمایش چهارم، اثر آتروپین بر واکنش فیزوستیگمین در طی CPP مورفین: پنج گروه از حیوانات یک تزریق داخل VTA سالین (۱ $\mu\text{l}/\text{rat}$) یا مقادیر مختلف آتروپین (۲، ۴ و ۸ $\mu\text{g}/\text{rat}$) را دریافت کردند و پس از پنج دقیقه به آنها سالین (۱ $\mu\text{l}/\text{rat}$) یا فیزوستیگمین (۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$) به صورت درون VTA تزریق شد. در طی مرحله

یافته‌ها

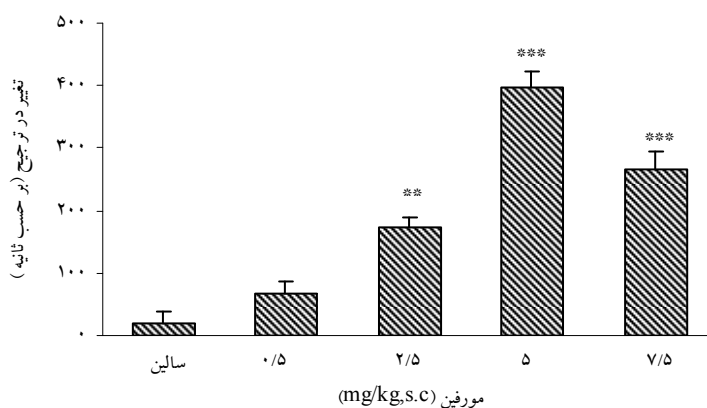
۱- آزمایش اول؛ منحنی مقدار- پاسخ برای CPP مورفین: شکل ۱- الف CPP ناشی از تزریق زیرجلدی مقادیر مختلف مورفین را در حیواناتی که ناحیه تگمنتوم شکمی آنها کانول گذاری شده بود، نشان می‌دهد. آزمون آماری ANOVA یک طرفه نشان داد که نسبت به گروه شاهد (سالین)، مورفین به صورت وابسته به مقدار سبب القای CPP شد [$p < 0.0001$, $F(4) = 35$]. مقادیر مختلف مورفین (۲/۵، ۵ و ۷/۵ mg/kg CPP) معنی داری ایجاد کرد و بیشترین پاسخ با ۵ mg/kg مورفین مشاهده شد. شکل ۱- ب) نشان می‌دهد که در مرحله آزمون، فعالیت حرکتی حیواناتی که در مرحله شرطی سازی مقادیر مختلفی از مورفین دریافت کرده بودند، نسبت به گروه سالین تفاوت معنی داری نداشت.

شرطی سازی، حیوانات به صورت زیرجلدی مورفین (۰/۵ mg/rat) یا سالین (۱ ml/kg) دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، همه گروه‌ها وارد مرحله آزمون شدند و فعالیت حرکتی آنها نیز اندازه گیری شد.

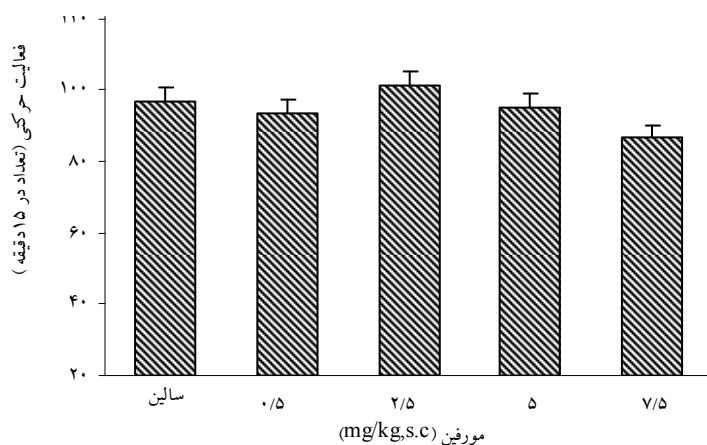
تحلیل آماری

در تمام آزمایش‌ها داده‌ها (نمرات شرطی شدن و فعالیت حرکتی) به صورت میانگین و خطای معیار میانگین ثبت شد. برای تعیین وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی، روش آنالیز واریانس یک طرفه و دوطرفه و به دنبال آن آزمون توکی به کار رفت و اختلاف $p < 0.05$ به عنوان تفاوت معنی دار در نظر گرفته شد. محاسبات آماری با نرم افزارهای SPSS و INSTAT انجام شد.

الف:



ب:

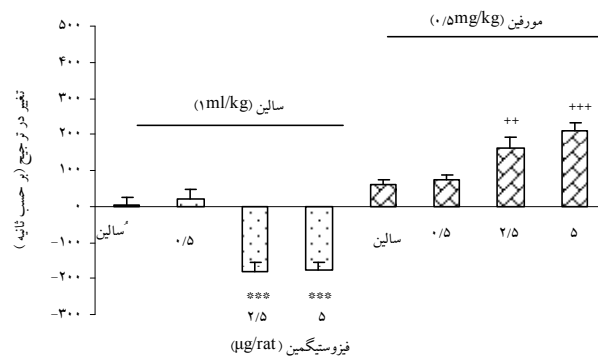


شکل ۱- الف) ترجیح مکان شرطی شده (CPP) ناشی از مورفین. ب) اثر تزریق مقادیر مختلف مورفین بر فعالیت حرکتی. $p < 0.0001$ و $p < 0.01$ در مقایسه با گروه شاهد.

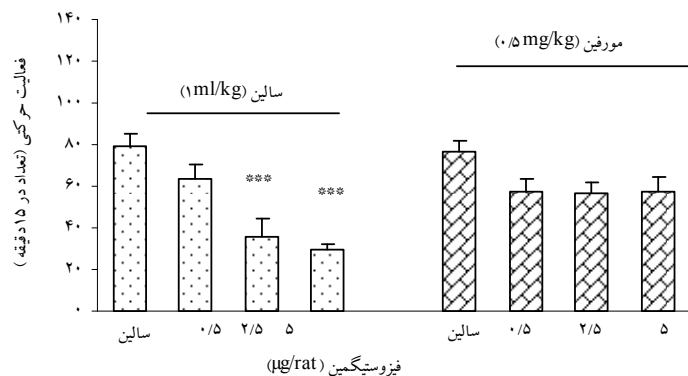
۲- آزمایش دوم؛ اثر فیزوستیگمین (آگونیست گیرنده موسکاربینی) همراه مورفین یا بدون آن بر اکتساب CPP: شکل (۲-الف) تأثیر تزریق دوطرفه مقادیر مختلف فیزوستیگمین (۰/۵، ۲/۵ و ۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$) یا سالین همراه یا بدون مورفین به درون ناحیه VTA را بر اکتساب CPP نشان می دهد. آزمون ANOVA دوطرفه وجود تداخل بین فیزوستیگمین و مورفین را در اکتساب CPP نشان داد [مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار: $F(۱ و ۵۶)=۱۷۶/۹$ ، $p<۰/۰۰۰۱$ ؛ اثر مقدار: $F(۳ و ۵۶)=۲/۸$ ، $p<۰/۰۰۵$ ؛ و تداخل تیمار \times مقدار: $F(۳ و ۵۶)=۳۲/۷$ ، $p<۰/۰۰۰۱$]. به علاوه تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق مقادیر زیاد فیزوستیگمین (۲/۵ و ۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$) به تنهایی باعث کاهش فعالیت حرکتی می شود [F(۳ و ۲۸)=۱۲/۶، $p<۰/۰۰۰۱$] ولی همراه با مورفین (۲/۵ و ۵ mg/kg) تأثیری بر فعالیت حرکتی ندارد.

۲- آزمایش دوم؛ اثر فیزوستیگمین (آگونیست گیرنده موسکاربینی) همراه مورفین یا بدون آن بر اکتساب CPP: شکل (۲-الف) تأثیر تزریق دوطرفه مقادیر مختلف فیزوستیگمین (۰/۵، ۲/۵ و ۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$) یا سالین همراه یا بدون مورفین به درون ناحیه VTA را بر اکتساب CPP نشان می دهد. آزمون ANOVA دوطرفه وجود تداخل بین فیزوستیگمین و مورفین را در اکتساب CPP نشان داد [مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار: $F(۱ و ۵۶)=۱۷۶/۹$ ، $p<۰/۰۰۰۱$ ؛ اثر مقدار: $F(۳ و ۵۶)=۲/۸$ ، $p<۰/۰۰۵$ ؛ و تداخل تیمار \times مقدار: $F(۳ و ۵۶)=۳۲/۷$ ، $p<۰/۰۰۰۱$]. به علاوه تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق فیزوستیگمین (۲/۵ و ۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$) به تنهایی سبب تنفر مکانی شرطی شده^۱ می شود [F(۳ و ۲۸)=۱۲/۶، $p<۰/۰۰۰۱$]

الف:



ب:

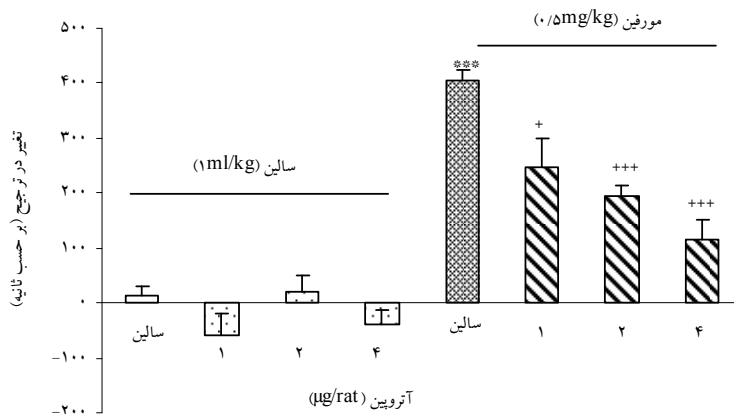


شکل ۲-الف) اثرات تزریق دوطرفه فیزوستیگمین به داخل VTA به تنهایی و همراه با مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده. ب- اثرات تزریق دوطرفه فیزوستیگمین (در غیاب یا حضور مورفین) به داخل ناحیه VTA بر فعالیت حرکتی در روز. $p<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل سالین/سالین؛ $p<۰/۰۰۱$ و $p<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل مورفین/سالین.

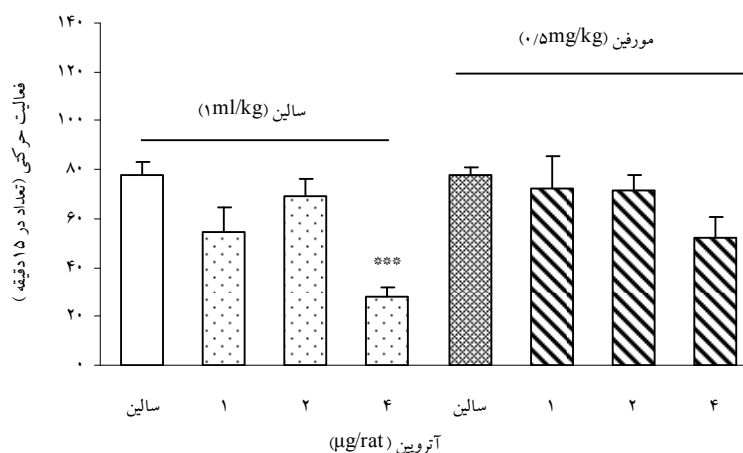
همراه با مورفین توانست CPP القا شده به وسیله مورفین را در یک روش وابسته به مقدار مهار نماید [$F(3, 28) = 13/8, p < 0/0001$]. شکل ۳- ب نیز اثر تزریق آتروپین را بر فعالیت حرکتی در روز آزمون نشان می دهد. آزمون تحلیل واریانس دوطرفه تأثیر معنی دار مقدار را نشان داد [$F(3, 56) = 7/4, p < 0/001$]. نتایج برای تیمار و تداخل تیمار \times مقدار تأثیر معنی داری نشان نداد. همچنین آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که مصرف بیشترین مقدار آتروپین ($4 \mu\text{g}/\text{rat}$) به تنهایی فعالیت حرکتی را کاهش می دهد [$F(3, 28) = 7/4, p < 0/0001$]. اما همراه با مورفین (mg/kg) ۵ بر فعالیت حرکتی اثری ندارد.

۳- آزمایش سوم؛ اثر آتروپین (آتاگونست گیرنده موسکارینی) همراه یا بدون مورفین بر اکتساب CPP: شکل ۳- الف اثرات تزریق دوطرفه مقادیر مختلف آتروپین (۱، ۲، ۴ $\mu\text{g}/\text{rat}$) یا سالین ($1 \mu\text{l}/\text{rat}$) را به درون ناحیه VTA همراه یا بدون مورفین بر اکتساب CPP نشان می دهد. آزمون تحلیل واریانس دوطرفه وجود تداخل معنی دار بین مورفین و آتروپین را بر اکتساب CPP نشان داد [مقایسه داخل گروهی: اثر تیمار $F(1, 56) = 143/8, p < 0/001$; اثر مقدار: $F(3, 56) = 10/9, p < 0/001$; تداخل تیمار \times مقدار: $F(3, 56) = 7/3, p < 0/0001$]. همچنین آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق مقادیر مختلف آتروپین به تنهایی درون VTA قادر به القای CPP نمی باشد. به علاوه مصرف آتروپین

الف:



ب:

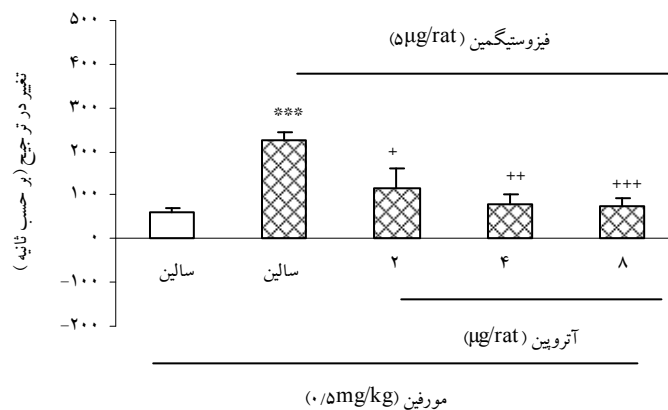


شکل ۳- الف) اثر تزریق دوطرفه آتروپین به VTA به تنهایی و همراه با مورفین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده. ب): اثرات تزریق دوطرفه آتروپین در غیاب یا حضور مورفین ($5 \text{ mg}/\text{kg}$) به ناحیه VTA بر فعالیت حرکتی در روز آزمون. $p < 0/001$ در مقایسه با گروه شاهد سالین/سالین؛ $p < 0/001$ و $p < 0/05$ در مقایسه با گروه شاهد مورفین/سالین.

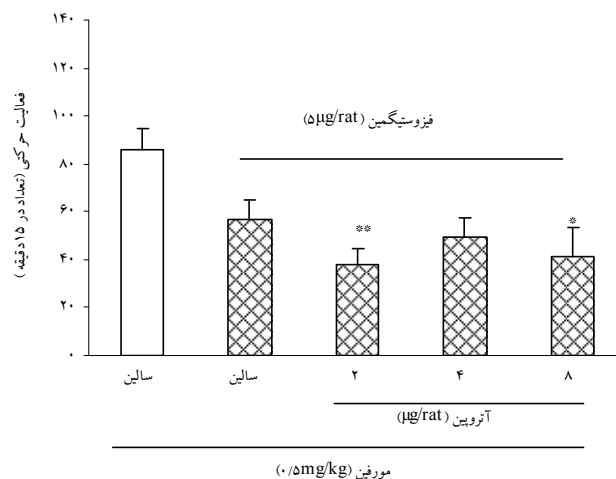
مورفین را مهار می کند. شکل ۴- ب نیز برهم کنش آتروپین و فیزوستیگمین را بر فعالیت حرکتی، در روز آزمون در طی شرطی سازی سه روزه با مورفین نشان می دهد. تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق دوطرفه آتروپین (۲، ۴ و ۸ $\mu\text{g}/\text{rat}$) قبل از فیزوستیگمین (۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$)، همراه با مورفین (۰/۵ mg/kg) فعالیت حرکتی را کاهش می دهد [F(۴ و ۳۵) = ۴/۷ $p < ۰/۰۱$].

۴- آزمایش چهارم؛ اثر آتروپین بر واکنش فیزوستیگمین در طی CPP مورفین: شکل ۴- الف اثر تزریق درون VTA آتروپین (۲، ۴ و ۸ $\mu\text{g}/\text{rat}$) را بر ترجیح مکانی القاشده به وسیله مورفین (۰/۵ mg/kg) در ترکیب با فیزوستیگمین (۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$) نشان می دهد. تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که آتروپین پاسخ تقویتی القاشده به وسیله فیزوستیگمین در ترکیب با مورفین را تغییر می دهد. نتایج حاکی از آن بود که آتروپین اثر فیزوستیگمین بر پاسخ

الف:



ب:



شکل ۴- الف) اثرات تزریق دوطرفه آتروپین قبل از تزریق فیزوستیگمین به داخل VTA در حضور مورفین (۰/۵ mg/kg) بر اکتساب CPP. اثرات برهم کنش آتروپین و فیزوستیگمین بر فعالیت حرکتی در روز آزمون. $p < ۰/۰۵$ ، $p < ۰/۰۱$ ، $p < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شاهد سالین/مورفین؛ $p < ۰/۰۰۱$ ، $p < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شاهد سالین/مورفین/آتروپین. $p < ۰/۰۵$ ، $p < ۰/۰۱$ در مقایسه با گروه شاهد سالین/فیزوستیگمین/مورفین.

بحث

تحقیق حاضر نشان داد که تزریق دوطرفه آتروپین به داخل VTA در یک روش وابسته به مقدار از ترجیح مکانی القاشده به وسیله مورفین (5 mg/kg) ممانعت می کند. ضمناً مشاهده شد که آتروپین اثر تقویتی فیزوستیگمین را بر پاسخ مورفین مهار می کند. در این راستا مطالعات قبلی نشان داده است که تزریق آتروپین به VTA سبب مهار خودتحریکی و کاهش ولع غذایی (رادا^۱، مارک^۲، یئومنز و هوپل^۳، ۲۰۰۰) و همچنین مهار پاداش خودتحریکی مغز می گردد (یئومنز و باپتیستا، ۱۹۹۷). مهار گیرنده های موسکارینی VTA اثرات تحریکی مورفین بر انتقال دوپامینی مزوآکومبسنس و نیگرواستریاتال را کاهش می دهد (میلر و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج مؤید آن است که گیرنده های موسکارینی VTA در CPP مورفین نقش دارند. ضمن این که تزریق بیشترین مقدار فیزوستیگمین به داخل VTA، به تنهایی تنفر مکانی شرطی شده را القا می نماید، در حالی که در ترکیب با مورفین فاقد چنین اثری است. گرپلنر و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند که موسکارین، کارباکول و فیزوستیگمین پتانسیل سیناپسی تحریکی در نورون های دوپامینی VTA و بخش متراکم جسم سیاه را کاهش می دهد. به احتمال قوی این اثر مهاری ناشی از فعال شدن گیرنده های موسکارینی پیش سیناپسی M₃ می باشد. مطالعات متعدد نشان داده اند که گیرنده های موسکارینی اثرات پس سیناپسی مستقیم روی نورون ها دارند و بنابراین می توانند انتقال سیناپسی را در قسمت های مختلف مغز از طریق عمل بر گیرنده های مختلف یا از طریق مهار پیش سیناپسی تنظیم کنند (هسو^۴، هوانگ^۵ و گین^۶، ۱۹۹۵). از طرفی مطالعه ما نشان داد که تزریق بالاترین مقدار فیزوستیگمین یا آتروپین به تنهایی در داخل VTA فعالیت حرکتی را کاهش می دهد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان چنین استدلال کرد که اثر مقدار بالای فیزوستیگمین بر تولید CPP ممکن است به دلیل تأثیر دارو بر حرکت باشد. تزریق ترکیب آتروپین و فیزوستیگمین به داخل VTA همراه با مورفین سبب کاهش فعالیت حرکتی در طی فاز آزمون گردید. با توجه به نتایج به دست آمده احتمال دارد که کاهش فعالیت حرکتی به وسیله

در مطالعه حاضر تزریق مقادیر مختلف مورفین (۷/۵ mg/kg - ۰/۵) توانست به صورت وابسته به مقدار، CPP معنی داری در موش های بزرگ آزمایشگاهی تولید نماید. این یافته ها همخوان با مطالعات قبلی (اولمستید و فرانکلین، ۱۹۹۷ الف، ب)، نشان می دهد که مورفین اثرات پاداشی خود را از طریق یادگیری ارتباطی با محیطی که این اثرات در آن رخ داده است، القا می نماید. در تحقیق حاضر نشان داده شد که مقادیر به کار رفته مورفین توانست فعالیت حرکتی را در مقایسه با گروه شاهد در طی مرحله آزمون تغییر دهد. بسیاری از شواهد بیان می کند که فعال شدن سیستم دوپامینی مزولیمبیک برای بیان ترجیح مکان شرطی شده ضروری است (مک براید و همکاران، ۱۹۹۹؛ مانزاندو و همکاران، ۲۰۰۱). با وجود این، شواهد دیگر مؤید آن است که سایر سیستم های نوروترانسمیتری و جایگاه های مغزی، گرچه ممکن است خود اثرات پاداشی نداشته باشند، اما از طریق دخالت در فرآیندهایی که برای بیان CPP ضروری می باشند، می توانند بر پاداش مورفین تأثیر بگذارند (اولمستید و فرانکلین، ۱۹۹۷ الف، ب). در تحقیق حاضر نقش گیرنده های موسکارینی VTA بر CPP مورفین بررسی شد.

مطالعه حاضر نشان داد که تحریک گیرنده های موسکارینی VTA به وسیله فیزوستیگمین (مهارکننده آنزیم کولین استراز) در ترکیب با یک مقدار بی اثر مورفین (۰/۵ mg/kg) به صورت وابسته به مقدار، CPP معنی داری القا می نماید. این اثر فیزوستیگمین مطابق با مطالعاتی است که نشان داده اند تزریق ترکیبی مورفین و فیزوستیگمین اثرات ضد درد مشتقات تریاک را افزایش می دهد (بیلین^۱ و همکاران، ۱۹۹۷). به علاوه مشخص شده است که آثار پاداشی مورفین که در CPP اندازه گیری می شود، در موش های فاقد گیرنده های M₅ موسکارینی کاهش می یابد (باسیل^۲ و همکاران، ۲۰۰۲). گرونیر و همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند که تحریک گیرنده های موسکارینی VTA سبب شلیک عصبی نورون های دوپامینی در VTA و متعاقب آن افزایش دوپامین در VTA، هسته اکومبسنس و قشر پیشانی می شود. بنابراین به احتمال قوی تزریق فیزوستیگمین به VTA از طریق مکانیسم گفته شده، خواص دوپامینی مورفین را در هسته اکومبسنس افزایش می دهد. همچنین

1-Beilin
3- Rada
5- Hoebel
7- Huang

2-Basile
4- Mark
6- Hsu
8- Gean

سپاسگزاری

از زحمات فراوان مسئولان آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه تهران، به خصوص سرکار خانم لادن دلفی سپاسگزاری می‌گردد.

داروها در طی فاز آزمون، از القای ترجیح مکان شرطی شده به وسیله مورفین ممانعت کند.
بنابراین به نظر می‌رسد که گیرنده‌های موسکارینی ناحیه تگمتوم شکمی در القای اثرات پاداشی مورفین نقش بسزایی ایفا می‌کنند.

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۶/۱۴؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۵/۱۲/۱۰

منابع

- Basile, A. S., Fedorova, I., Zapata, A., Liu, X., Shippenberg, T., & Duttaroy, A. (2002). Deletion of the M5 muscarinic acetylcholine receptor attenuates morphine reinforcement and withdrawal but not morphine analgesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 11452-11457.
- Beilin, B., Nemirovsky, A. Y., Zeidel, A., Maibord, E., Zelman, V., & Katz, R. L. (1997). Systemic physostigmine increases the antinociceptive effect of spinal morphine. *Pain*, 70, 217-221.
- Carr, G. D., & White, N. M. (1983). Conditioned place preference from intraaccumbens but not intra-caudate amphetamine injections. *Life Sciences*, 33, 2551-2557.
- 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.
- Greenfield, S. A. (1991). A non-cholinergic action of acetylcholinesterase (AChE) in the rat brain: From neuronal secretion to the generation of movement. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 11, 55-77.
- Grillner, P., Bonci, A., Svensson, T. H., Bernardi, G., & Mercuri, N. B. (1999). Presynaptic muscarinic (M3) receptors reduce excitatory transmission in dopamine neurons of the rat mesencephalon. *Neuroscience*, 91, 557-565.
- Gronier, B., Perry, K. W., & Rasmussen, K. (2000). Activation of the mesocorticolimbic dopaminergic system by stimulation of muscarinic cholinergic receptors in the ventral tegmental area. *Psychopharmacology*, 147, 347-355.
- Hsu, K. S., Huang, C. C., & Gean, P. W. (1995). Muscarinic depression of excitatory synaptic transmission mediated by the presynaptic M3 receptors in the rat striatum. *Neuroscience Letters*, 197, 141-144.
- Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodriguez-arias, M., & Minarro, J. (2001). Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behavioural Brain Research*, 121, 189-197.
- McBride, W. J., Murphy, J. M., & Ikemoto, S. (1999). Localization of brain reinforcement mechanisms: Intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behavioural Brain Research*, 101, 129-152.
- Miller, A. D., & Blaha, C. D. (2005). Midbrain muscarinic receptor mechanisms underlying regulation of mesoaccumbens and nigrostriatal dopaminergic transmission in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 21, 1837-1846.
- Miller, A. D., Forster, G. L., Yeomans, J. S., & Blaha, C. D. (2005). Midbrain muscarinic receptors modulate morphine-induced accumbal and striatal dopamine efflux in the rat. *Neuroscience*, 136, 531-538.
- Olmstead, M. C., & Franklin, B. J. (1997a). The development of a conditioned place preference to morphine: Effects of lesions of various CNS sites. *Behavioral Neuroscience*, 111, 1313-1323.
- Olmstead, M. C., & Franklin, B. J. (1997b). The development of a conditioned place preference to morphine: Effects of microinjections into various CNS sites. *Behavioral Neuroscience*, 111, 1324-1334.
- Pidoplichko, V. I., DeBiasi, M., Williams, J. T., & Dani, J. A. (1997). Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature*, 390, 401-404.
- Rada, P. V., Mark, G. P., Yeomans, J. J., & Hoebel, B. G. (2000). Acetylcholine release in ventral tegmental area by hypothalamic self-stimulation, eating, and drinking. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65, 375-379.
- Rezayof, A., Zatali, H., Haeri-Rohani, A., & Zarrindast M. R. (2006). Dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors are involved in mediating morphine reward. *Behavioural Brain Research*, 166, 281-290.
- Rezayof, A., Razavi, S., Haeri-Rohani, A., Rassouli, Y., & Zarrindast, M. R. (2007). GABA(A) receptors of hippocampal CA1 regions are involved in the acquisition and expression of morphine-induced place preference. *European Neuropsychopharmacology*.

- Walker, D. L., McGlynn, T., Grey, C., Ragozzino, M., & Gold, P. E. (1991). Naloxone modulates the behavioral effects of cholinergic agonists and antagonists. *Psychopharmacology*, *105*, 57-62.
- Weiner, D. M., Levey, A. I., & Brann, M. R. (1990). Expression of muscarinic acetylcholine and dopamine receptors mRNAs in rat basal ganglia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *87*, 7050-7054.
- Wooltorton, J. R., Pidoplichko, V. I., Broide, R. S., & Dani, J. A. (2003). Differential desensitization and distribution of nicotinic acetylcholine receptor subtypes in midbrain dopamine areas. *Journal of Neuroscience*, *23*, 3176-3185.
- Yeomans, J. (1995). Electrically evoked behaviors: Axons and synapses mapped with collision tests. *Behavioral Brain Research*, *67*, 121-132.
- Yeomans, J., & Baptista, M. (1997). Both nicotinic and muscarinic receptors in ventral tegmental area contribute to brain-stimulation reward. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *57*, 915-921.
- Yeomans, J., Forster, G., & Blaha, C. (2001). M5 muscarinic receptors are needed for slow activation of dopamine neurons and for rewarding brain stimulation. *Life Science*, *68*, 2449-2456.
- Zarrindast, M. R., & Jamshidzadeh, A. (1992). Inhibitory effect of morphine on yawning induced by cholinergic and dopamine D2 receptor activation in rats. *British Journal of Pharmacology*, *105*, 675-678.
- Zarrindast, M. R., Lahiji, P., Shafaghi, B., & Sadegh, M. (1998). Effects of GABAergic drugs on physostigmine-induced improvement in memory acquisition of passive avoidance learning in mice. *General Pharmacology: The Vascular System*, *31*, 81-86.
- 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., Fattahi, Z., Rostami, P., & Rezayof, A. (2005). Role of the cholinergic system in the rat basolateral amygdala on morphine-induced conditioned place preference. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *82*, 1-10.