

Burst Firing of the Ventral Tegmental Area Neurons through Bicuculline-Induced GABA-A Receptor Blockade

Fereshteh Tale¹, Firouz Ghaderi Pakdel^{1,2*}, Parviz Shahabi³, Somayyeh Naderi⁴

¹Department of Physiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

²Neurophysiology Research Center, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

³Neuroscience Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴Danesh Pey Hadi Co, Urmia Health Technology Development Center, Research and Technology Vice Chancellor, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

Article Info:

Received: 14 Dec 2015

Accepted: 23 Jan 2016

ABSTRACT

Introduction: Ventral Tegmental Area (VTA), as a major source of dopaminergic (DA) neurons, has crucial roles in the vital and pathologic conditions, such as drug dependence and depression. The receptors on the VTA-DA neurons with different density and diversity have modulatory effects on their target tissues, such as the cerebral cortex. The aim of the present study was to study the effect of GABA-A receptor blockade on the VTA-DA neuronal firing pattern. **Materials and Methods:**

Male Wistar rats (~200 gr) were randomly allocated in 8 groups with equal substitutive numbers (control, sham, and treatments). The VTA-DA neuronal firing patterns (simple-tonic or burst firing) were acquisitioned under urethane anesthesia and stereotaxic approach. Bicuculline as a GABA-A receptor antagonist were infused microiontophoretically intracerebroventricularly (5, 25, 50, 500, 1000, and 2500 ngr) and peri-injection neuronal firing were captured for burst firing detection. **Results:** The simple-tonic spiking of the VTA-DA neurons in the pre-injection period was about 5.78 spikes/sec overall with stable firing. Bicuculline microinjection dose-dependently modulated burst firing pattern. The abovementioned amounts of Bicuculline induced 5.2, 10.4, 23.4, 28.8, 35.9, 36.17 percent of neurons to fire burst with duration of 5.2, 8.7, 24.45, 29.87, 40.56, and 50.34 minutes, respectively. The post injection simple-tonic firing rates were also dose-dependently elevated from 8 to 358 percent of the pre-injection levels. **Conclusion:** The results showed that GABA-A receptors on the VTA-DA neurons can have regulatory roles on their firing patterns. The external GABAergic afferents or internal interneurons that mediate GABA modulation on the VTA-DA neurons can interfere in the efferent functions of the VTA-DA neurons.

Key words:

1. Ventral Tegmental Area
2. Dopaminergic Neurons
3. Neurons

*Corresponding Author: Firouz Ghaderi Pakdel

E-mail: info@fgpakdel.com

شلیک انفجاری نورون‌های ناحیه تگمنتوم شکمی از طریق مهار گیرنده GABA-A القاء شده با بیکوکولین

فرشته طالع^۱، فیروز قادری پاکدل^{۱،۲*}، پرویز شهرابی^۳، سمیه نادری^۴

^۱گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۲مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۳مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۴شرکت دانش پی هادی، مرکز رشد فناوری‌های سلامت ارومیه، معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۳ بهمن ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۲۳ آذر ۱۳۹۴

چکیده

مقدمه: ناحیه تگمنتوم شکمی، به عنوان یک منبع اصلی از نورون‌های دوپامینرژیک نقش‌های بسیار مهمی در حالت‌های حیاتی و پاتولوژیک از قبیل وابستگی دارویی و افسردگی داردند. گیرنده‌های روی نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی با تراکم و تنوع مختلف دارای اثرات تعديل کننده بر روی بافت‌های هدف‌شان مانند قشر مخ می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر انسداد گیرنده GABA-A روی الگوی شلیک نورونی دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی بود. **مواد و روش‌ها:** موش‌های صحرایی ویستار نر (تقرباً ۲۰۰ گرم) به طور تصادفی در هشت گروه با تعداد قابل جایگزین برابر (کنترل، شم و درمان‌ها) تقسیم شدند. الگوهای شلیک نورونی دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی (ساده-تونیک یا شلیک انفجاری) تحت بیهوشی اورتان و روش استریوتاکسیک به دست آمده بودند. بیکوکولین به عنوان یک آنتاگونیست گیرنده GABA-A به کمک روش میکروایون‌توفورز داخل بطن مغزی (۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ نانوگرم) تزریق گردید و به منظور تشخیص فعالیت‌های انفجاری نورونی به دنبال تزریق دارو، فعالیت‌های نورونی ثبت گردید. **افته‌ها:** وضعیت ساده-تونیک از نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی در دوره پیش جراحی به طور کلی حدود ۵/۷۸ اسپایک در ثانیه با شلیک پایدار بود. تزریق وابسته به دوز بیکوکولین، الگوی شلیک انفجاری را تعديل کرده بود. مقدارهای ذکر شده فوق از بیکوکولین به ترتیب منجر به القاء شلیک انفجاری ۵/۲، ۱۰/۴، ۲۳/۴، ۲۸/۸، ۳۵/۹ و ۳۶/۱۷ درصد از نورون‌ها با دوره زمانی ۵/۲، ۸/۷، ۲۰/۴۵، ۴۰/۵۶ و ۵۰/۳۴ دقیقه گردید. میزان شلیک ساده-تونیک همچنین پس از تزریق نسبت به سطوح پیش تزریق به صورت وابسته به دوز از ۸ تا ۳۵۸ درصد افزایش داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که گیرنده‌های GABA-A روی نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی می‌توانند نقش‌های تنظیمی روی الگوهای شلیک خودشان داشته باشند. آوران گاباژرژیک خارجی یا اینترنورون‌های داخلی که تنظیم گابا روی نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی را میانجیگری می‌کنند، می‌توانند در عملکرد واپران نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی دخالت کنند.

کلید واژه‌ها:

۱. ناحیه تگمنتوم شکمی
۲. نورون‌های دوپامینرژیک
۳. نورون‌ها

*نویسنده مسئول: فیروز قادری پاکدل

آدرس الکترونیکی: info@fgpakkdel.com

مقدمه

رخداد پاداش است، فعالیت نورون‌های دوپامینزیک VTA به صورت فازیک تغییر پیدا می‌کند (۲۰، ۲۱). در یک نگاه عمومی نورون‌های دوپامینزیک VTA دارای دو نوع الگوی فعالیت نورونی شامل فعالیت نورونی منظم^{۱۸} یا پیش‌آهنگی^{۱۹} و فعالیت نورونی انفجاری^{۲۰} می‌باشند (۲۱، ۲۲). تغییر الگوی فعالیت نورونی از فعالیت منظم یا ساده-تونیک^{۲۱} به انفجاری در طیف وسیعی از شرایط همانند شرایط محرومیت و بیماری اسکیزوفرنی می‌تواند تغییر یابد (۲۳). تغییر الگوی فعالیت نورون‌های دوپامینزیک VTA موجب رهایش مقادیر بیشتری از دوپامین در نورون‌های هدف در مناطق مختلف مغز شده و به نظر می‌رسد این تغییر فعالیت ضمن بر جسته ساختن محرك‌های وارد و ایجاد درک مناسب از محرك، موجب ایجاد نوعی یادگیری برای مغز نسبت به پیام‌ها و محرك‌های وارد می‌شود (۲۴).

ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک خارج سلولی از نورون‌های دوپامینزیک VTA نشان داده است که این نورون‌ها توسط آوران‌های گابالرژیک و نیز نورون‌های گابالرژیک درون VTA مهار می‌شوند (۲۵). کاهش ترشح GABA در روی گیرنده‌های پس‌سیناپسی نورون‌های دوپامینزیک VTA یکی از مهمترین عوامل اصلی تحريك‌پذیری آن‌ها بوده و در جوار ترشح مداوم گابا این نورون‌ها وارد یک دوره کاهش فعالیت می‌گردد (۲۶). احتمالاً گیرنده‌های گابا و گلوتامات در روی نورون‌های دوپامینزیک VTA در طی تکرار الگوهایی خاص از فعالیت‌های نورون‌های گابالرژیک روی آن‌ها، نورون‌های دوپامینزیک را دچار نوعی شکل‌پذیری سیناپسی یا پلاستیسیتی کرده (۲) و با توجه به اینکه گیرنده‌های GABA-A در روی نورون‌های دوپامینزیک از تراکم بسیار مناسبی برخوردار هستند، بسیاری از عملکردهای نورون‌های دوپامینزیک از طریق گیرنده‌های GABA-A در سیناپس‌های دندانیتی یا روی جسم سلولی نورون‌های دوپامینزیک VTA وساطت می‌شود (۲۷، ۲۸).

تجویز درون VTA موزیمول^{۲۳} به عنوان آگونیست و بیکوکلین^{۲۴} به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های GABA-A در حیواناتی که قبلاً تحت تیمار دارویی نبودند، موجب بروز اثرات تقویت^{۲۵} و پاداش^{۲۶} در حیوانات شده است. اثرات پاداش با به کار بردن آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی

ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA)^۱ به عنوان یکی از کانون‌های اصلی نورون‌های دوپامینزیک بوده و با توجه به مشارکت آن در سیستم لیمیک^۲ و نیز مدار پاداش^۳، نقش مهمی در رفتارهای انگیزشی^۴، فرایند وابستگی^۵ به مواد و اعتیاد^۶ و نیز بیماری‌های روانی^۷ بازی می‌کند (۱-۴). ترکیب نورونی VTA عمدتاً شامل نورون‌های دوپامینزیک^۸ حدود ۶۵٪، نورون‌های ترشح کننده گاما‌آمینوبوتیریک اسید یا نورون‌های گابالرژیک^۹ حدود ۳۰٪ و نورون‌های گلوتاماترژیک^{۱۰} حدود ۵٪ می‌باشد (۵-۸).

نورون‌های دوپامینزیک این قسمت از مغز تحت نام گروه A10 به مناطقی همانند هسته اکومبینس^{۱۱}، آمیگدال، هیپوکامپ و قشر جلوپیشانی^{۱۲} آکسون‌هایی را ارسال کرده و دستگاه دوپامینی مزوکورتیکولیمیک^{۱۳} را می‌سازد (۹). گروه مهمی از نورون‌های گابالرژیک VTA در بخشی از آن تجمع دارند که RMTg^{۱۴} نامیده می‌شوند. این ناحیه که به قسمت دمی VTA (tVTA)^{۱۵} نیز مشهور است، در وساطت رفتارهای پاداش برای بقاء موجود، اهمیت فراوانی دارد (۱۰، ۱۱).

نورون‌های گابالرژیک این ناحیه و سایر نواحی اینترنورون‌هایی هستند که در عملکرد آن‌ها تفاوت چندانی تشخیص داده نشده ولی به نظر می‌رسد در بیشتر موارد این نورون‌ها به صورت اینترنورون قادر هستند فعالیت نورون‌های دوپامینزیک VTA را تنظیم نمایند. تحريك این نورون‌ها باعث تشدید رفتار اجتنابی و قطع تداوم رفتار پاداش می‌گردد (۱۲، ۱۳). اگرچه ورودی گابالرژیک روی نورون‌های دوپامینزیک VTA وجود دارد (۱۴-۱۶)، ولی نورون‌های گابالرژیک درون VTA نقش مهمی در کنترل عملکرد نورون‌های دوپامینزیک آن داشته و اثرات فارماکولوژیک برخی داروها و احتمالاً اثرات فیزیولوژیک برخی مسیرها و ناقلین عصبی^{۱۶} در تغییر میزان دوپامین ترشحی VTA، به تنظیم ناشی از آن‌ها مربوط می‌شود. این نورون‌ها دارای پاسخ متفاوتی به مواد و داروهای محرك و یا وابسته کننده می‌باشند (۱۷).

یکی از ویژگی‌های مهم نورون‌های دوپامینزیک VTA، تغییر فعالیت نورونی بسته به محرك وارد شده می‌باشد (۱۸). در هنگام ورود محرك غیرقابل پیش‌بینی پاداشی^{۱۷} به دنبال تکرار محرك‌های خنثی که بیانگر نزدیک شدن

^{۱۴} Rostromedial tegmental nucleus

^{۱۵} Tail of the ventral tegmental area

^{۱۶} Neurotransmitters

^{۱۷} Unpredicted reward

^{۱۸} Regular

^{۱۹} Pacemaker

^{۲۰} Burst

^{۲۱} Simple-tonic

^{۲۲} gamma-Aminobutyric acid

^{۲۳} Muscimol

^{۲۴} Bicuculline

^{۲۵} Reinforcing

^{۲۶} Rewarding

رعايت شد. اجرای کدهای اخلاقی ارائه شده توسط کمیته مزبور ضمن توصیف به محققین، مورد پایش مداوم قرار می‌گرفت. ۴۰ سر موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار با میانگین وزنی 20 ± 20 گرم استفاده شد. حیوانات در محل شرکت دانش پی هادی (به عنوان شرکت دانشبنیان دانشگاه علوم پزشکی ارومیه) تحت شرایط مناسب دمایی (2 ± 2 درجه سانتی گراد) نگهداری شده و در طول مدت نگهداری دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. نور محل نگهداری حیوانات شامل دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی از ۸ صبح) بوده و رطوبت آن تابع رطوبت محیط بوده است. حیوانات به صورت ۴ سر موش در یک قفس متوسط از جنس پلی کربنات نگهداری می‌شدند.

حیوانات به ۸ گروه ۵ سری و قابل جایگزینی تقسیم شده و در شیوه تقسیم‌بندی هیچ نوع دخالتی وجود نداشته است. گروه‌های حیوانی شامل یک گروه کنترل، یک گروه شاهد یا شم و ۶ گروه تیمار دارویی بوده است. گروه کنترل برای مشخص کردن ثبات شرایط آزمایشگاهی در ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک، گروه شم یا دریافت کننده حامل دارو (سرم فیزیولوژیک نرمال) برای مشخص کردن اثر حامل دارو استفاده شده است. ۶ گروه تیمار شامل گروه‌های دریافت کننده مقادیر بیکوکولین (به ترتیب ۵، ۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰۰ و ۲۵۰۰ نانوگرم، داخل بطن مغزی) بوده‌اند. بیکوکولین با سرعت ۲ میکرولیتر در دقیقه و در حجم مساوی ۱۰ میکرولیتر برای تمامی حیوانات تزریق می‌شد. محل تزریق در بطن همسو (بطن سمت راست) بوده و مطابق اطلس از مختصات صفحه شماره ۴۱ چاپ ششم اطلس پاکسینوس با mm DV=۰-۹۶ Bregma=۴ mm, ML=۲ mm استفاده شده و نوک الکترود تزریق در موقعیت مذکور قرار می‌گرفت. جهت جلوگیری از نشت مایع مغزی نخاعی از چسب بیولوژیک استفاده می‌گردید.

در این تحقیق چون حیوانات بلافصله بعد از انجام آزمایش‌ها کشته می‌شدند، کاشت الکترود تزریق به صورت موقت و با استفاده از هولدر دستگاه جراحی استریوتاکسیک صورت می‌گرفت. بعد از اتمام آزمایش‌ها مقدار ۲ میکرولیتر محلول رنگ پونتامین در بطن تزریق می‌شد تا اطمینان کافی در برش‌های بافتی حاصل گردد.

برای ثبت از نورون‌های دوپامینرژیک VTA، حیوانات پس از وزن شدن و با تزریق داخل صفاقی^{۲۷} داروی بیهوشی اورتان (Urethane, Sigma-Aldrich, USA) با دوز $1/2$ گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن حیوان،

یا آگونیست گیرنده‌های GABA-B مهار شده ولی اثرات تقویتی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. نتایج این تحقیق بیانگر دخالت دو طرف گیرنده‌های گابا روی فرایند پاداش از طریق نورون‌های دوپامینی و غیردوپامینی می‌باشد^{۲۸-۳۱}. به نظر می‌رسد این اثرات نوعی تناقض ناشی از عملکرد گیرنده‌های گابا در روی نورون‌های دوپامینرژیک و غیردوپامینرژیک در هسته VTA باشد. احتمالاً موزیمول موجب مهار نورون‌های گاباژیک VTA از طریق مکانیسم حذف مهار^{۲۹} و اثر حذف مهار نورون‌های گاباژیک روی نورون‌های دوپامینرژیک VTA می‌باشد^(۳۱).

تفسیر اثرات آنتاگونیست گیرنده گابا روی ایجاد پاداش وابسته به آنتاگونیست دوپامین یا غیروابسته به آن، هنوز در پرده ابهام است و به نظر می‌رسد بخشی از فرایند، به تغییر فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA برمی‌گردد. در مطالعه Kodangattil و همکاران نشان داده شده است که علی‌رغم مشارکت گیرنده‌های گلوتاماتی در بروز شکل‌پذیری‌های سیناپسی در VTA، نقش گیرنده‌های گابا در بروز این شکل‌پذیری وابسته به زمان اسپایک (STDP)^{۳۰} اهمیت فراوانی دارد^(۳۲). همچنین مطالعه Schweimer و همکاران روی مוש‌های knockout^{۳۱} نشان داده است که تغییر گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی موجب بروز شلیک‌های انفجاری^{۳۲} در نورون‌های دوپامینرژیک VTA می‌گردد^(۳۳). وجود نورون‌های دوپامینرژیک با فعالیت انفجاری در VTA در برخی مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است^(۳۴). ونگ^{۳۱} و همکاران نشان داده‌اند که فعالیت انفجاری در نورون‌های دوپامینرژیک VTA می‌تواند توسط برخی عوامل شیمیایی همانند ترکیبات گلوتاماتی کنترل گردد^(۳۵).

با توجه به اینکه تغییر الگوی فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک از حالت ساده -تونیک به حالت انفجاری می‌تواند موجب بروز اثرات ویژه‌ای در رفتارهای کنترل شونده توسط VTA گردد، در این تحقیق برای نشان دادن نقش گیرنده‌های گابا در روی نورون‌های دوپامینرژیک VTA، آنتاگونیست گیرنده‌های GABA-A، بیکوکولین به صورت داخل بطن مغزی (ICV)^{۳۳} و با مقادیر مختلف تزریق شد و الگوی فعالیت نورونی قبل و بعد از تزریق برای مشخص کردن بروز فعالیت‌های انفجاری نورون‌های دوپامینرژیک استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

کلیه روش‌های به کار برده شده و شرایط نگهداری حیوانات طبق اصول مورد تأیید کمیته‌های اخلاق در پژوهش‌های زیستی پزشکی کشور و دانشگاه علوم پزشکی ارومیه بوده و موازین مربوط به حقوق حیوانات

²⁷ Disinhibition

²⁸ Spike timing-dependent plasticity

²⁹ N-methyl-D-aspartate receptor

³⁰ Burst firings

³¹ Wang

³² Intracerebroventricular

³³ Intraperitoneal injection

برای ثبت فعالیت‌های نورونی الکترودهای شیشه‌ایی از جنس بوروسیلیکات (A-M System, USA) استفاده می‌شد. الکترود مناسب ثبت از طریق کشیدن الکترودهای شیشه‌ایی تهیه می‌شدند. مقاومت الکترودها حدود ۵ (۵±۲) مگا اهم بود. الکترود تهیه شده از محلول ۰/۵ مولار استات سدیم (Sigma-Aldrich, USA) حاوی ۲٪ پونتامین اسکای بلو (Puntamine Sky Blue, Santacruz) پر شده و به دقت حباب‌گیری می‌شدند. نوک الکترود با توجه به شاخص‌های استریوتاکسیک به سمت VTA هدایت شده و در محل هسته با استفاده از جایجایی میکرومتری، ثبت از فعالیت‌های نورونی به واسطه آمپلی‌فایر ثبت خارج سلولی (Electromodule 3111) صورت می‌گرفت. سیگنال‌های اخذ شده ۵۰۰۰۰ برابر تقویت و تحت تأثیر فیلتر باندپس (Hz ۳۰۰-۳۰۰۰) قرار می‌گرفتند.

ثبت‌های صورت گرفته ضمن بررسی برخط^{۳۸} به صورت غیربرخط^{۳۹} توسط دو آنالیز کننده مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گرفتند. نرمافزار Igor Pro (Wavemetrics, USA) و رزن ۶/۳ جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات نورونی و استخراج اطلاعات مربوط به نرخ^{۴۰} شلیک نورون‌ها و سایر موارد استفاده شده است. در داده‌های ثبت شده بر اساس شاخص‌های از قبل مشخص شده مربوط به نورون‌های دوپامینرژیک، این دسته از نورون‌ها مورد استخراج قرار گرفته و سپس فعالیت نورونی با وضعیت ساده-تونیک^{۴۱} و انفعالی در نورون‌های ثبت شده استخراج می‌گردید. از جنبه الکتروفیزیولوژیک نورون‌های دوپامینرژیک دارای اسپایک‌های دو فازی (+/-) یا سه فازی (+/+/-) با طول زمانی یا دوره تناوب بیش از ۲/۵ هزارم ثانیه و نرخ شلیک کمتر از ۱۰ اسپایک در ثانیه می‌باشند^(۳۹-۴۲).

ثبتات در فواصل بین اسپایک‌ها (ISI)^{۴۲} که نشان دهنده وضعیت ساده-تونیک بوده و در نورون‌های دوپامینرژیک به طور برخط با استفاده از روش موج بیز (Window) discrimination (بررسی و محاسبه گردیده و به طور غیربرخط با استفاده از نرمافزار Igor Pro و XOP-که ویژه این نرمافزار است- ارزیابی گردید. پارامتر ISI در قالب هیستوگرام نسبت به زمان (ISITH)^{۴۳} در طول دوره فعالیت هر نورون ثبت شده و مورد ارزیابی قرار می‌گرفت^(۴۳). شاخص ارزیابی فعالیت انفعالی در نورون‌های دوپامینرژیک از قاعده رایج در مطالعات قبلی تبعیت می‌کرد.

به طور خلاصه بر حسب مطالعات قبلی در هنگام تبدیل فعالیت نورون از شلیک ساده-تونیک به فعالیت انفعالی ابتدا یک دوره خاموشی بین آخرین اسپایک ساده وجود داشته و معمولاً در هر فعالیت انفعالی،

بیهوده شده و پس از مستقر شدن در دستگاه جراحی استریوتاکسیک (Steolting, USA)، تحت جراحی استریوتاکسیک قرار می‌گرفتند. تلاش می‌شد ثبت‌های لازم در مدت زمان ۳ ساعت پس از بیهوده شد گردد. روند بیهوده کنترل شده و در صورت نیاز دوز یا دوزهای کمکی^{۴۴} برای برقراری سطح بیهوده مناسب در حیوانات تزریق می‌گردید^(۳۶). جراحی حیوانات تحت شرایط استریل و رعایت کلیه موادی اخلاقی صورت گرفته و شاخص‌های استریوتاکسیک پس از کنار زدن پوست روی کاسه سر مشخص و مختصات استریوتاکسیک آن‌ها محاسبه می‌گردید. بر اساس شاخص‌های اطلس جراحی‌های استریوتاکسیک و اتسون و پاکسینوس مختصات ورود به هسته VTA با توجه به وزن و مختصات Bregma و محور بین گوش‌ها^{۴۵} محاسبه می‌گردید. شاخص مناسب و استاندارد اطلس مذکور برای ورود به هسته VTA به صورت DV=۸/۶ mm, AP=۶/۸۴ mm, ML=۰/۵ mm می‌باشد. با توجه به شاخص‌های استریوتاکسیک اندازه‌گیری شده در سطح جمجمه هر حیوان مقادیر متناسب محاسبه و برای رسیدن به VTA مورد استفاده قرار می‌گرفت^(۳۷).

در هر ثبت ضمن رعایت نکات آناتومیک جراحی استریوتاکسیک، شواهد الکتروفیزیولوژیک فعالیت نورونی و در نهایت شواهد بافتی ناشی از برش مقاطع تثبیت شده با دقت بازبینی شده و نمونه‌های ثبت شده خطآمیز وارد آنالیز نمی‌گردید. برای مشخص شدن نوک الکترود پس از اتمام آزمایش‌ها جریان ایونتوفورتیک به میزان ۵۰ میکروآمپر و با بار منفی به مدت ۱۰ دقیقه در الکترود ثبت وارد می‌شد. مقادیر بسیار کم از رنگ پونتامین از الکترود خارج و در فضای اطراف نوک آن رسوی می‌کرد. در مقاطع اخذ شده این نقطه محل نوک الکترود محسوب می‌شد. تصویر محل مشخص شده روی صفحه ترسیمی اطلس همپوشان می‌گردید. در صورت خارج بودن محل رسوی از VTA داده‌های آن ثبت مورد استفاده قرار نمی‌گرفت.

در این تحقیق از روش ثبت تک نورون یا ثبت تک واحدی^{۴۷} برای اخذ فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک استفاده می‌گردید. به طور خلاصه الکترود شیشه‌ایی مناسبی تهیه و بر اساس مختصات اطلس جراحی استریوتاکسیک به طرف VTA هدایت و فعالیت اسپایک خارج سلولی نورون یا نورون‌ها اخذ می‌شدند. در این نوع از ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک بخش اسپایک خارج سلولی ناشی از پتانسیل عمل، ثبت و بر اساس الگوی استاندارد تفکیک و به واحدهای نورونی مناسب می‌گردد^(۳۸).

³⁴ Booster

³⁵ Interaural axis

³⁶ Bregma zero-zero

³⁷ Single neuron recording

³⁸ On-line

³⁹ Rate

⁴¹ Simple-tonic mode

⁴² Inter spike interval

⁴³ Inter spike interval time histogram

وضعیت انفجاری با استفاده از آزمون Wilcoxon signed rank مشخص شد و دوره فعالیت انفجاری استخراج گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌های بین گروهی و درون گروهی تغییرات وابسته به مقدار بپروری‌بیون در تبدیل وضعیت ساده-Tukey به وضعیت انفجاری از آزمون Kruskal-Wallis استفاده شد. حداقل سطح معنی‌داری برای کلیه داده‌ها معادل $P < 0.05$ در نظر گرفته شده است. در ارزیابی تغییر فعالیت ساده-Tukey هر نورون در قبل و بعد از تزریق و مراحل تغییر افزایش یا کاهشی بعد از تغییر و برگشت به فعالیت ساده-Tukey نسبت به قبل از تزریق، از آزمون Friedman به عنوان آزمون جایگزین پارامتریک repeated-measured one-way ANOVA استفاده شد. از نرم‌افزار Origin pro نسخه ۹ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است.

یافته‌ها

در این تحقیق نورون‌های دوپامینرژیک بر اساس شاخص‌های الکتروفیزیولوژیک بیان شده در مقالات از ثبت‌های انجام شده جدا می‌گردیدند. شاخص‌های اصلی برای جدایی این نورون‌ها شامل: طول زمان اسپاپیک بیش از ۲/۵ هزارم ثانیه، وجود حالت دو فازی یا سه فازی با فاز مثبت در قسمت اول، فرکانس شلیک کم (بین ۴ الی ۱۰ بار در ثانیه) مشخص و جدا می‌شدند. به طور خلاصه در این تحقیق میزان میزان شلیک نورون‌های دوپامینرژیک در ثبت‌های اخذ شده $\pm 5/78 \pm 1/1$ شلیک در ثانیه بوده است. تعداد ۲۳۰ نورون دوپامینرژیک که بعد از تزریق بیکوکولین دچار تغییر فعالیت از وضعیت ساده-Tukey به انفجاری شدند، جدا گشته و فعالیت آن‌ها نسبت به مقدار تزریقی بیکوکولین مشخص گردید. فواصل زمانی بین اسپاپیک‌های دوره‌های فعالیت Tukey و انفجاری برای نورون‌ها مشخص می‌گردید.

برای ارزیابی روایی و پایایی داده‌های اخذ شده و بهمنظور مشخص کردن پایداری ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک، داده‌های مربوط به گروه‌های کنترل و شاهد مورد ارزیابی قرار گرفتند. پایداری ثبت با توجه به ثبت‌های گروه کنترل مورد تأیید قرار گرفته و برای مشخص شدن اثر حجم حامل دارو در گروه‌های شاهد مقادیر فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک قبل و بعد از تزریق حامل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

الف) الگوی فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک در گروه شاهد

الگوی فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک در مosh‌های گروه شاهد یا شم قبل از تزریق حامل دارو (۱۰ دقیقه)، حین تزریق (۵ دقیقه) و بعد از اتمام تزریق حامل دارو ثبت می‌شد. ثبت بعد از تزریق به طور

حداقل دو اسپاپیک با فاصله بین اسپاپیک‌ها کمتر یا مساوی ۸۰ هزارم ثانیه بود. عمولاً هنگامی فعالیت انفجاری خاتمه یافته تلقی می‌شود که بین آخرین اسپاپیک شلیک انفجاری و شروع وضعیت ساده-Tukey یا اولین اسپاپیک انفجاری بعدی فاصله زمانی بیش از ۱۶۰ ms می‌نمند. درون هر قطار اسپاپیک انفجاری تعداد اسپاپیک‌های رخ داده، ISI اسپاپیک‌ها، دامنه اسپاپیک‌ها نسبت به آخرین اسپاپیک Tukey و تغییرپذیری^{۴۴} آن‌ها به روش‌های آماری مشخص می‌گردید.^{۴۴} تغییرات الگوی شلیک نورون‌های ثبت شده در وضعیت شلیک Tukey و ساده نسبت به شلیک انفجاری از نظر فواصل اسپاپیک برای جدایی نوع فعالیت مورد بررسی قرار گرفت. در نورون‌های ثبت شده که دارای هر دو فعالیت بوده‌اند محاسبه مقادیر ISI با توجه به مراحل ثبت در زمان‌های ثبیت فعالیت دوگانه توسط نرم‌افزار مشخص گردیده و محاسبات مورد نظر انجام گردید. فعالیت ساده-Tukey و فعالیت انفجاری ناشی از تزریق بیکوکولین به صورت داخل بطن مغزی در نورون‌های دوپامینرژیک آغاز می‌شد.

در این گروه از تحقیقات به طور مرسوم از نمایش هیستوگرام ستونی برای نمایش داده‌ها استفاده می‌شود. برای ترسیم هیستوگرام عمولاً تعداد اسپاپیک نورون نسبت به دوره‌های مختلف به همراه تجزیه و تحلیل آن کافی است که به PSTH^{۴۵} می‌گویند. در خصوص تغییرات الگوی فعالیت نورونی ضمن ارزشمندی PSTH از هیستوگرام ستونی فواصل بین اسپاپیک‌ها استفاده می‌شود. به نمودار هیستوگرام ISI اصطلاحاً ISITH نیز می‌گویند. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصله شامل میزان فعالیت در واحد زمان و نیز تغییرات فواصل زمانی بین اسپاپیک‌ها از طریق آزمون‌های آماری مناسب انجام گردید. برای ISI در هر نورون مقدار ضریب تغییرات (CV)^{۴۶} در فعالیت‌های ساده-Tukey و نیز انفجاری به صورت درصد فعالیت پایه، قبل از تزریق محاسبه می‌گردید. برای به دست آوردن ضریب تغییرات وضعیت نورون‌ها، مقادیر نرخ شلیک و نیز ISI ابتدا با استفاده از آزمون Kruskal-Wallis one-way analysis of variance یا ANOVA گرفت. این آزمون همانند آزمون گرفت. برای مقادیر PSTH و ISITH مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. این آزمون همانند آزمون Mann-Whitney U برای مقادیر PSTH و ISITH مورد استفاده قرار گرفت. برای اخذ تغییر الگوی فعالیت نورون و استحصال فعالیت‌های انفجاری متعاقب آزمون Kruskal-Wallis از آزمون Wilcoxon signed rank استفاده شد. زمان حضور

⁴⁴ Variability

⁴⁵ Peri-stimulus time histogram

⁴⁶ Coefficient of variation

نورون دوپامینرژیک آورده شده است.

نورون‌های دوپامینرژیک ثبت شده در تحقیق حاضر از بین ثبت‌هایی انتخاب شده‌اند که دارای شرایط ثبت پایدار بوده و نرخ شلیک نورون‌ها به راحتی موجب تفکیک آن‌ها به نورون‌های واحد و جداگانه می‌گردید. این نورون‌ها معمولاً دارای نرخ شلیک کمتر از ۱۰ بوده و عملاً نرخ شلیک آن‌ها در حوالی ۵ شلیک در ثانیه بوده است. در تصویر ۳ نمونه‌ایی از ثبت صورت گرفته شده تا زمان برگشت به فعالیت قبل از تزریق ادامه می‌یافتد. نمونه‌ایی از فعالیت ساده‌تونیک و انفجاری در نورون‌های مذکور قبل و بعد از تزریق بیکوکولین در تصویر ۴ آورده شده است.

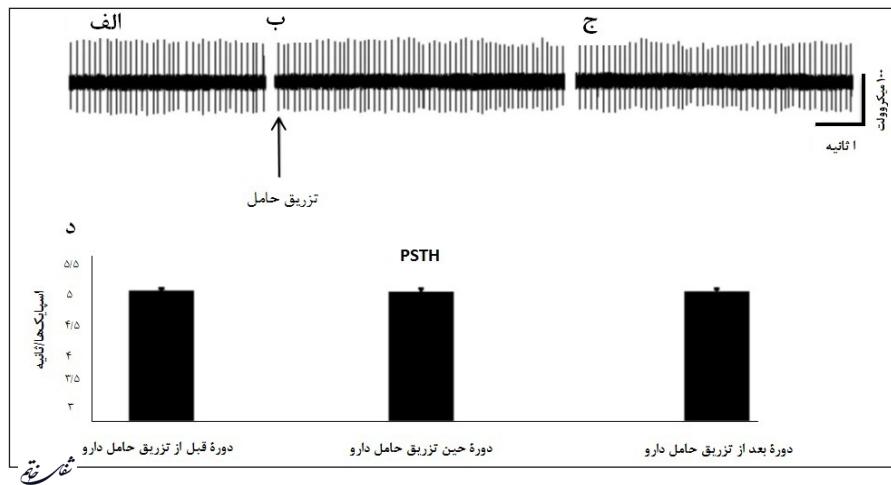
ج) تغییرات نرخ تولید اسپایک انفجاری در نورون‌های دوپامینرژیک

در این پژوهش بیکوکولین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های GABA-A به صورت داخل بطن مغزی تزریق می‌گردید. بیکوکولین در مقدار ۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ نانوگرم در حجم ۱۰ میکرولیتر و در مدت

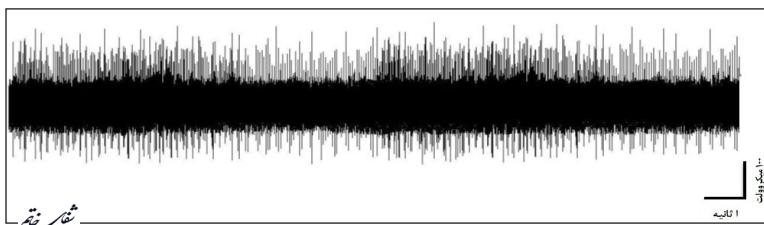
متوسط تا ۲ ساعت ادامه یافته و مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گرفتند. در بین ثبت‌های صورت گرفته تغییر الگوی فعالیت نورونی از ساده-تونیک به حالت انفجاری مشاهده نشد. میانگین فعالیت نورونی در این دسته از نورون‌ها $4/96 \pm 2/05$ اسپایک در ثانیه بوده است. در ثبت از گروه شم نورون‌های دوپامینرژیک ثبت شده از نظر میزان فعالیت نورونی در قبل، حین و بعد از تزریق مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. نتایج حاصل نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین داده‌های سه دوره مذکور در هر نورون بوده است. در تصویر ۱ نمونه‌ایی از ثبت‌های اخذ شده از نورون‌های دوپامینرژیک در گروه شاهد آورده شده است. همچنان‌که مشاهده می‌شود شلیک نورون‌های ثبت شده در سه دوره مذکور تفاوت معنی‌داری نسبت به هم ندارند.

ب) الگوی فعالیت تک نورون در تولید فعالیت انفجاری

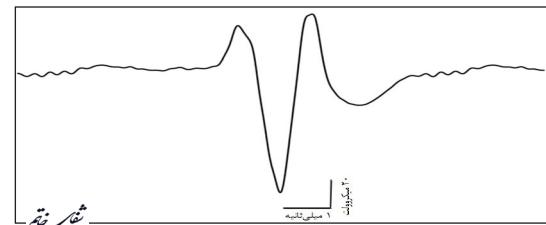
در ثبت‌های انجام گرفته نورون‌هایی با الگوی شلیک ساده-تونیک انتخاب می‌شدند. این نورون‌ها معمولاً بر اساس شکل اسپایک و نیز الگوی فرکانسی تخلیه از بقیه نورون‌ها جدا می‌شدند. در تصویر ۲ تصویر تیپیک



تصویر ۱- نمونه‌ایی از ثبت انجام شده از نورون‌های دوپامینرژیک هسته VTA در گروه موش‌های شاهد یا شم، در بخش الف قسمتی از ثبت یک نورون تیپیک دوپامینرژیک قبل از تزریق حامل دارو آورده شده است. در قسمت ب در حین و بعد از تزریق حامل دارو فعالیت نورون نشان داده شده است. در قسمت ج بعد از گذشت ۱/۵ ساعت از تزریق حامل دارو ثبت فعالیت نورون نشان داده شده است. در قسمت د مقداری شلیک نورون مذکور در سه دوره مذکور به صورت هیستوگرام نشان داده شده است. در خصوص این نورون قبل از تزریق میزان فعالیت نورون $4/96 \pm 2/05$ اسپایک در ثانیه، در حین تزریق $5/1 \pm 0/72$ اسپایک در ثانیه، و بعد از تزریق $4/96 \pm 2/05$ اسپایک در ثانیه بوده است. آنالیز آماری داده‌های حاصل بین سه دوره مذکور با استفاده از تست آماری one-way ANOVA بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین داده‌های سه دوره مذکور بوده است.



تصویر ۲- نمونه‌ایی از اسپایک خارج سلوی ثبت شده از هسته VTA. اسپایک‌ها به صورت غیر بخط و هم به صورت بخط برسی و جدا می‌شدند.

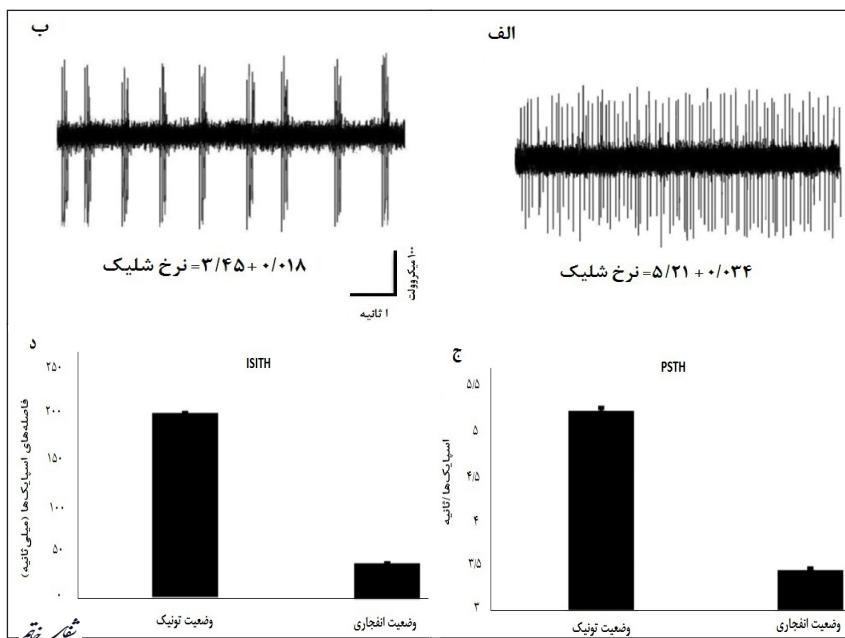


تصویر ۳- نمونه‌ایی از اسپایک از اسپایک خارج سلوی ثبت شده از هسته VTA. شاخص زیر تصویر در مجموع افقی نشان دهنده میکروولت (یک هزارم ثانیه) و در مجموع عمودی نشان دهنده میکروولت (میکروولت) می‌باشد. تصویر اسپایک جدا شده از نورون‌های دوپامینرژیک بیانگر این است که طول زمانی نورون‌های ثبت شده بیشتر از ۷۵ هزارم ثانیه بوده و اکثر آن‌ها دارای وضعیت سه فازی می‌باشد.

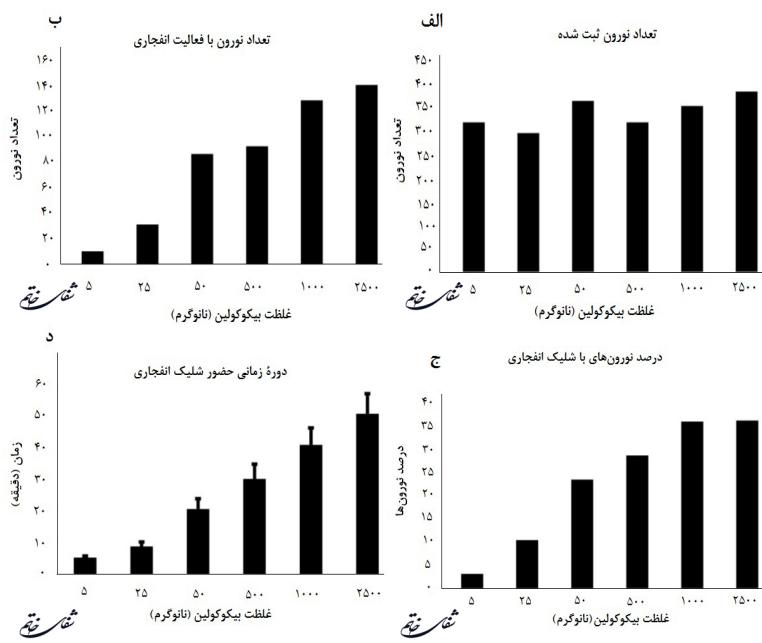
تحقیق

انفجاری در ثبت بوده است. میزان تغییر فعالیت نورون‌ها بعد از برگشت نیز مورد آنالیز قرار می‌گرفت. در نمودار ۱ میزان فعالیت وضعیت نورون‌های ثبت شده در غلظت‌های مختلف آورده شده است. همچنان که در نمودار نیز مشخص است، در غلظت ۵ نانوگرم از ۳۲۱ نورون ثبت شده تعداد $10 \pm 5/2$ (درصد) نورون پس از تزریق بیکوکولین فعالیت انفجاری نشان داده‌اند و زمان

زمان ۵ دقیقه به درون بطن راست مغز تزریق می‌شد. به مدت ۲۰ دقیقه قبل از تزریق و پس از رسیدن نورون به فعالیت پایدار، ثبت پایه از فعالیت ساده و تونیک نورون‌ها انجام می‌شد. در حین تزریق ثبت ادامه داشته و تا زمان برگشت نورون به فعالیت قبل از تزریق ثبت ادامه پیدا می‌کرد. مبنای برگشت فعالیت نورون به حالت وضعیت ساده-تونیک، عدم وجود اسپایک‌های



تصویر ۴- نمونه‌ایی از تغییر فعالیت یک واحد نورونی دوپامینزیک در ناحیه VTA باشی از تزریق بیکوکولین (۱ میکروگرم) در بطن مغزی، (الف) تصویر وضعیت ساده و تونیک نورون قبل از تزریق بیکوکولین (ب) تصویر فعالیت وضعیت انفجاری همان نورون ۱۰ دقیقه پس از تزریق بیکوکولین در بطن مغزی. توجه داشته باشید که فرکانس شلیک نورون کمتر شده است (ج) منحنی هیستوگرام زمانی نرخ شلیک نورون (PSTH) به سوت فرکانس شلیک قبل (۵/۲۱ ± ۰/۳۴) و بعد از (۷/۴۵ ± ۰/۱۸) شلیک در ثانیه تزریق بیکوکولین در بطن مغز (د) منحنی هیستوگرام فواصل زمانی بین اسپایک‌ها در قبل از (۳/۸۶/۵۶ ± ۰/۵۶) هزارام ثانیه و بعد از تزریق بیکوکولین (۵/۵۶ ± ۰/۶۷) در بطن مغز.



نمودار ۱- تغییرات الگوی فعالیت وضعیت انفجاری در نورون‌های ثبت شده در غلظت‌های مختلف بیکوکولین (الف) تعداد نورون‌های دوپامینزیک ثبت شده در غلظت‌های مختلف (ب) تعداد نورون‌های ثبت شده با فعالیت انفجاری در غلظت‌های مختلف (ج) درصد نورون‌هایی که از کل نورون‌ها فعالیت انفجاری را نشان دادند (د) زمان حضور فعالیت انفجاری در نورون‌های ثبت شده به دقیقه در نورون‌های ثبت شده با فعالیت انفجاری.

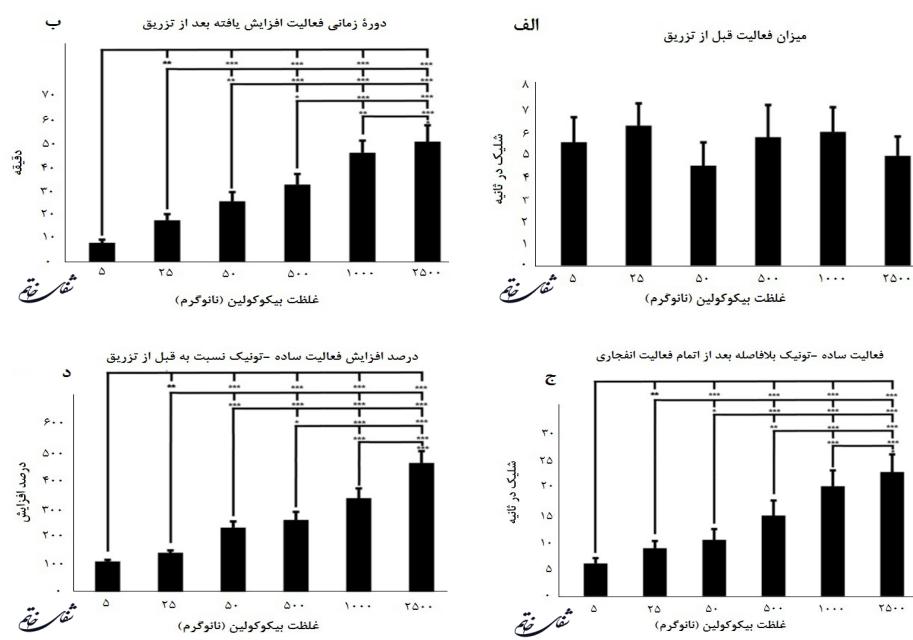
بحث و نتیجه‌گیری

همچنان‌که در نتایج مشخص شده است بیکوکولین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های آلفای گابا با مهار کردن این گیرنده‌ها در روی نورون‌های دوپامینرژیک VTA توانست فعالیت ساده و منظم آن‌ها را به هم زد و در درصد مناسبی از آن‌ها با غلظت‌های زیاد، موجب تبدیل فعالیت مداوم و ساده-تونیک به فعالیت انفحاری گردد. با توجه به نتایج حاصل نشان داده شده است که میزان اسپاکیدهی انفحاری با غلظت بیکوکولین افزایش یافته و در غلظت‌های کم تولید آن کاهش معنی‌داری دارد. به این ترتیب مهار گیرنده‌های GABA-A که روی نورون‌های دوپامینرژیک مستقر هستند موجب تغییرات شدیدی در خصلت الکتروفیزیولوژیک نورون‌های ناحیه تگمنتوم شکمی شده و در ایجاد الگوی عملکردی نورون‌های آن مؤثر باشد.

نورون‌های دوپامینرژیک VTA دارای شلیک نورونی تونیک و یا گاهی به صورت نامنظم با فرکانس کم و در حدود ۳ الی ۸ شلیک در ثانیه می‌باشند. مطالعات اولیه بیانگر وجود گروههایی از نورون‌ها با فعالیت‌های مختلف در VTA بوده است. چهار گروه نورونی شامل نورون‌های هیپرپلاریزه بدون شلیک^{۴۷}، نورون‌های با شلیک واحد^{۴۸}، نورون‌های با شلیک انفحاری و نورون‌های دپلاریزه غیرفعال^{۴۹}، از تقسیم‌بندی‌های مهم این نورون‌ها

طی شده حدود $0/5 \pm 5/2$ دقیقه بوده است. این ارقام به ترتیب برای غلظت ۲۵ نانوگرم ۳۱ نورون از ۲۹۸ نورون (۱۰/۴ درصد) با زمان $1/4 \pm 8/7$ دقیقه، برای غلظت ۵۰ نانوگرم، ۸۶ نورون از ۳۶۷ نورون (۲۳/۴ درصد) با زمان $2/23 \pm 20/45$ دقیقه، برای غلظت ۵۰۰ نانوگرم ۵۲ نورون از ۳۲۱ نورون (۲۸/۶۷ درصد) با زمان $4/67 \pm 4/29$ دقیقه، برای غلظت ۱۰۰۰ نانوگرم، ۱۲۸ نورون از ۳۵۶ نورون (۳۵/۹۶ درصد) با زمان $5/34 \pm 40/56$ دقیقه و برای غلظت ۲۵۰۰ نانوگرم ۲۵۰ نورون از ۳۸۷ نورون (۳۶/۱۷ درصد) با زمان $6/3 \pm 50/34$ دقیقه بوده است.

د) افزایش فعالیت ساده-تونیک نورون‌های دوپامینرژیک پس از قطع تولید شلیک انفحاری پس از اتمام تولید فعالیت‌های انفحاری در نورون‌های دوپامینرژیک، ثبت‌های ساده-تونیک تا زمان برگشت فعالیت نورون به قبل از تزریق ادامه پیدا می‌کرد. نکته بسیار جالب، افزایش فعالیت ساده-تونیک به صورت وابسته به مقدار در گروههای دریافت کننده بیکوکولین بوده است. از جنبه درصد افزایش فعالیت نسبت به قبل از تزریق بیکوکولین بر حسب مقادیر ۵، ۵۰، ۲۵، ۱۵۵، ۱۲۸، ۳۸، ۲۳۳، ۱۵۵ و ۱۰۰۰ و ۲۵۰۰ نانوگرم به ترتیب ۸، ۸، ۲۵، ۲۵، ۱۷، ۸، ۴۶ و ۵۰ دقیقه بوده است. در نمودار ۲ تغییرات و نیز تفاوت‌های آماری بین مقادیر اخذ شده آورده شده است.



نمودار ۲- تغییرات مقادیر فعالیت ساده-تونیک بعد از اتمام فعالیت انفحاری نسبت به غلظت‌های مختلف بیکوکولین (الف) مقادیر فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک در ثبت‌های اخذ شده (اسپاکیدهی در ثانیه) ب) مقادیر دوره زمانی فعالیت ساده-تونیک افزایش یافته (ج) میزان فعالیت افزایش یافته به صورت شلیک در هر ثانیه بعد از اتمام فعالیت انفحاری (د) درصد تغییرات فعالیت ساده-تونیک در هر غلظت نسبت به دوره قبلاً از تزریق، مقادیر تفاوت با سطوح معنی‌داری برای $P < 0/01$ و $***P < 0/001$ نشان داده شده است. برای ارزیابی تفاوت‌های قبلاً و بعد از تزریق از آزمون Friedman استفاده شده است.

⁴⁷ Hyperpolarized, non-firing

⁴⁸ Single spike firing

⁴⁹ Depolarization inactivation

ترکیبات دیگر همانند کلوزاپین^{۵۰} به عنوان یک داروی ضد روانپریشی اثرات خود را از طریق گیرنده‌های گلوتامات انجام می‌دهد.

در کارهای کلینیکی نشان داده شده است که کاینورنیک اسید به عنوان آنتاگونیست گیرنده گلوتامات در ناحیه گلایسین گیرنده NMDA و همچنین آنتاگونیست گیرنده نیکوتینی^{۵۱} اثرات تحریکی کلوزاپین را معکوس کرده و به یک اثر مهاری تبدیل می‌کند. مطالعه Schwieler و همکاران روی فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA با استفاده از ثبت فعالیت‌های نورون‌های مذکور نشان دادند که تزریق داخل وریدی کلوزاپین به صورت داخل وریدی ۱/۲۵ تا ۱۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلو وزن) افزایش معنی‌داری در فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک ایجاد کرده و نیز موجب فعالیت انفجاری در این نورون‌ها می‌شود.

اثرات تحریکی مذکور با تجویز آنتاگونیست گیرنده NMDA گلوتامات، MK 801 موقوف می‌شود. این در حالی است که تجویز پیش تیماری آنتاگونیست مکان گلایسینی گیرنده NMDA گلوتامات یعنی ۱,۳۲۴ L-701,324 موجب می‌شود اثرات کلوزاپین روی نورون‌های دوپامینرژیک VTA به میران ضعیفی به اثرات مهاری تبدیل شده و کاهش در شلیک نورون‌ها و نیز کاهش تولید فعالیت انفجاری صورت گیرد. پیش تیمار با آنتاگونیست گیرنده^۷ MLA با alpha^۷ موجب تغییر فعالیت تحریکی نورون‌های دوپامینرژیک VTA نگردید. به نظر می‌رسد کلوزاپین اثرات تحریکی خود روی نورون‌های دوپامینرژیک را از طریق ناحیه گلایسین گیرنده‌های گلوتامات انجام داده و احتمالاً اثرات گلایسین را مهار می‌کند (۵۲). البته سیستم گلوتاماتی به عنوان سیسم تعديل کننده فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA تحت تأثیر سایر مسیرهای پیامرسانی^{۵۳} داخل نورون‌ها نیز قرار می‌گیرد. مهار فعالیت مسیر آنزیمی سیکلواکسیژناز که موجب افزایش معنی‌دار کاینوریک اسید نورون‌های مذکور شده و اثرات این مسیر نیز از طریق سیستم گلوتاماتی تعديل می‌شود (۵۴).

پاسخ نورون‌های دوپامینرژیک VTA به برخی از داروها و ترکیبات غیردوپامینی نیز از طریق نه تنها تغییر تعداد فعالیت نورونی بلکه از طریق تغییر الگوی فعالیت صورت می‌گیرد. مطالعه Lejeune و همکاران نشان داده است که نورون‌های دوپامینرژیک VTA دارای پاسخ انفجاری به لیگاند گیرنده‌های سروتونینی از نوع 5-HT1A یعنی فلزینوکسان^{۵۴} و S-15535 و WAY 100,635 می‌باشند. فلزینوکسان که آگونیستی با تمایل بالای گیرنده‌های 5-HT1A پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی می‌باشد قادر است شلیک نورون‌های سروتونرژیک هسته رافه پشتی^{۵۵}

می‌باشد (۴۵). تغییر وضعیت نورونی در موش‌های آزمایشگاهی بزرگ، اولین بار نسبت به ورود محرك حسی و یا رخداد حرکت در حیوان در جهت رسیدن به هدف خاص مشخص شده است (۴۶). الگوی شلیک انفجاری نورون‌های دوپامینرژیک در موش‌های آزمایشگاهی به هنگام حرکات کوچک سبیل‌های آن‌ها و نیز بوکشیدن در محیط‌های جدید نیز رخ داده و نیز به هنگام جابجایی عمده سبیل‌های حیوان نیز رخ می‌دهد و این نوع الگوی شلیک نورونی در هنگام توجه و چرخش سر حیوان به محرك‌های شنوایی به طور گذراخ می‌دهد (۴۷).

VTA شواهد الکتروفیزیولوژیک در ثبت‌های نورون‌های در حیوانات بیهوش شده با کلرال هیدرات^{۵۶} بیانگر وجود احتمال شلیک انفجاری بیشتر در نورون‌های دوپامینرژیک آن نسبت به سایر نواحی مغزی حاوی این دسته از نورون‌ها همانند جسم سیاه می‌باشد (۴۸). تغییر الگوی فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA می‌تواند تحت تأثیر ماده بیهوش کننده نیز قرار گیرند. تجویز کلرال هیدرات به صورت پیش درمان و پس درمان در گربه‌هایی با حرکت آزاد نشان داده است که در این حیوانات فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک افزایش پیدا می‌کند. این یافته‌ها نشان می‌دهند VTA که در نورون‌های دوپامینرژیک VTA نه تنها در هنگام ورود تحریکات حسی بلکه در جوار برخی ترکیبات نیز فعالیت انفجاری در آن‌ها القاء می‌گردد (۴۹).

تغییر وضعیت نورونی در نورون‌های VTA در جوار برخی ترکیبات و داروها در برخی مطالعات دیگر نیز مشخص شده است. به کارگیری موضعی کاینورنات^{۵۱} به صورت تزریق تحت فشار یا ایونتوفورتیک به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های گلوتامات موجب مهار شلیک انفجاری نورون‌های VTA و تبدیل آن به وضعیت ساده می‌گردد. به نظر می‌رسد بستن کانال‌های وابسته به گلوتامات موجب بروز حذف شلیک انفجاری می‌گردد. احتمالاً نورون‌های آوران تحریکی و یا اینترنورون‌های تحریکی موضعی با ترشح گلوتامات موجب برقراری جریان کلسمیمی به درون سلول شده و در مراحلی از فعالیت نورون‌های VTA با تغییر فاز عملکردی موجب تغییر فرایندهای تحت کنترل آن خواهد شد. شاید تغییر فاز الکتروفیزیولوژیک نورون‌های VTA عامل مهمی برای توصیف برخی یافته‌های متفاوت و یا متناقض در توصیف کنترل‌های نورون‌های این هسته باشد (۵۰). این نوع تغییر فعالیت در هنگام مهار هیدروکسیلز کاینورنات در حیوانات آزمایشگاه نیز مشاهده می‌گردد (۵۱، ۵۲).

تغییر فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک به حضور داروها و ترکیبات اتصال شونده روی گیرنده‌های گلوتامات نه تنها موجب تعديل پاسخ این نورون به ترکیبات مؤثر روی گیرنده‌های گلوتامات است، بلکه برخی داروها و

^{۵۰} Chloral hydrate

^{۵۱} Kynurenic

^{۵۲} Clozapine

^{۵۳} Signaling

^{۵۴} Flesinoxan

^{۵۵} Dorsal raphe nucleus

داده و الگوی فعالیت را کمتر منظم می‌کرد. احتمالاً اثر ایدازوکسان از طریق مهار گیرنده‌های پیش‌سیناپسی آلفا-۲ ایجاد شده و با به کار بردن پرازووسین از بین می‌رفت. به نظر می‌رسد آوران‌های آدرنرژیک از طریق گیرنده‌های نورآدرنرژیک مستقر در نورون‌های دوپامینرژیک موجب تعدیل فعالیت این نورون‌ها می‌گردد. گیرنده‌های آلفا-۱ روی این نورون‌ها به صورت تحریکی موجب تنظیم الگوی فعالیت نورون‌ها شده و گیرنده‌های پیش‌سیناپسی آدرنرژیک نیز از طریق مهار رهایش ناقلین عصبی موجب کاهش فعالیت این نورون‌ها می‌گردد.^{۵۶}

در خصوص تأثیر سیستم گاباآلرژیک در تعدیل و یا تنظیم فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک بهویژه نورون‌های دوپامینرژیک VTA به صورت ثبت خارج سلولی مطالعه کمتری صورت گرفته است. مطالعه Erhardt و همکاران روی فعالیت انفجاری نورون‌های VTA نشان داده است که نه تنها گیرنده‌های ناقلین عصبی تحریکی بلکه گیرنده‌های گابا نیز در کنترل فعالیت این دسته از نورون‌ها مشارکت می‌کنند. مطالعه آن‌ها نشان داده است که تجویز سیستمیک آگونیست گیرنده بتای گابا موجب تعدیل فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA شده است. تجویز بالکلوفن^{۵۷} به عنوان آگونیست گیرنده GABA-B به صورت وابسته به دوز فعالیت ساده-تونیک نورون‌های دوپامینرژیک و نیز فعالیت انفجاری این نورون‌ها را کاهش داد. افزایش در منظم شدن فعالیت‌های نورون‌ها مشاهده شد. اثرات بالکلوفن توسط آنتاگونیست گیرنده GABA-B CGP 35348 کاملاً متوقف شد. تجویز به تنها ۴۸ CGP به صورت داخل وریدی همانند اثر موضعی، توانست موجب ایجاد فعالیت انفجاری در نورون‌های دوپامینرژیک شود.^{۵۸}

نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه ماده سیاه تحت تأثیر تجویز داخل وریدی آگونیست گیرنده GABA-B یا بالکلوفن در دوز کمتر ۱۰ تا ۱۶ میلی‌گرم به ازاء هر کیلو وزن بدن) فعالیت نورون‌ها را تنظیم کرده و فعالیت انفجاری را کاهش داده ولی در دوزهای بیشتر ۱۶ تا ۳۲ میلی‌گرم به ازاء هر کیلو وزن بدن) فعالیت عادی نورون نیز کاهش یافت. به کارگیری میکروایونتوفورتیک بالکلوفن موجب تنظیم فعالیت نورون و کاهش فعالیت انفجاری می‌گردد. ترکیب CGP 35348 (۲۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن، وریدی) به عنوان آنتاگونیست گیرنده GABA-B شامل پرازووسین^{۵۹} به عنوان آنتاگونیست گیرنده آلفا-۱ و ایدازوکسان^{۶۰} به عنوان آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲ صورت می‌گرفت، پرازووسین به صورت وابسته به دوز موجب کاهش فعالیت انفجاری نورون‌های دوپامینرژیک شده و موجب منظم شدن شلیک‌های نورونی می‌شد که با پیش تیمار با رزپرین^{۶۱} از بین می‌رفند. ایدازوکسان تعداد شلیک‌ها و نیز رخداد فعالیت انفجاری را افزایش

یا DRN را مهار کرد. عملکرد مهاری فلزینوکسان توسط ترکیب WAY 100,635 (آنتاگونیست گیرنده‌های پیش‌سیناپسی ۵-HT1A) متوقف می‌شود. البته ترکیب S-15535 که به صورت یک آگونیست و آگونیست نسبی روی گیرنده‌ها به ترتیب پیش و پس‌سیناپسی اثر می‌کند، همانند فلزینوکسان موجب مهار شلیک نورون‌های هسته رافه پشتی متوقف شونده توسط ترکیب WAY 100,635 می‌شود.

برخلاف اثرات مذکور ترکیبات فوق روی نورون‌های هسته رافه پشتی، ترکیبات فلزینوکسان و S-15535 به صورت وابسته به مقدار و به حالت مونوفاریک^{۶۲} فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA را افزایش می‌دهند. البته در این تحریک نورون‌های مذکور حالت شلیک ساده خود را به شلیک انفجاری تبدیل می‌کنند. اثرات فلزینوکسان و ترکیب S-15535 روی شلیک نورون‌های دوپامینرژیک VTA توسط ترکیب WAY 100,635 متوقف می‌گردد. به نظر می‌رسد نورون‌های دوپامینرژیک VTA در بروز اثرات ضد افسردگی داروهای سرتونرژیک با افزایش فعالیت و یا تغییر فعالیت از حالت وضعیت ساده به اسپایکینگ وضعیت انفجاری مشارکت دارند.^{۵۵}

تزریق کاینورات به صورت موضعی در درون هسته VTA به صورت ایونوفورتیک و یا تحت فشار موجب انسداد گیرنده‌های اسیدآمینه تحریکی گلوتامات شده و از این طریق توانست موجب توقف فعالیت انفجاری در نورون‌های دوپامینرژیک VTA شده در حالی که فرکانس فعالیت‌های تونیک-ساده را کمی افزایش داد. به نظر می‌رسد اوران‌های حاوی ناقلین عصبی تحریکی به طور مستقیم موجب تنظیم فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA گشته و به طور دینامیک، ورودی‌های تحریکی موجب تنظیم فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA نسبت به بسیاری از شرایط حاکم بر این هسته می‌گردد.^{۵۰}

مطالعه Svensson و Grenhoff^{۶۳} نیز نشان داده است که نه تنها گیرنده‌های اسیدهای آمینه تحریکی بلکه گیرنده‌های دیگر یا آوران‌های دیگر نیز قادر به تنظیم فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک می‌باشند. در تحقیق مذکور فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک VTA به صورت ثبت خارج سلولی مورد بررسی قرار گرفته است؛ در حالی که تزریق سیستمیک آنتاگونیست‌های آدرنرژیک شامل پرازووسین^{۵۷} به عنوان آنتاگونیست گیرنده آلفا-۱ و ایدازوکسان^{۶۰} به عنوان آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲ صورت می‌گرفت، پرازووسین به صورت وابسته به دوز موجب کاهش فعالیت انفجاری نورون‌های دوپامینرژیک شده و موجب منظم شدن شلیک‌های نورونی می‌شد که با پیش تیمار با رزپرین^{۶۱} از بین می‌رفند. ایدازوکسان تعداد شلیک‌ها و نیز رخداد فعالیت انفجاری را افزایش

^{۵۶} Reserpine

^{۵۷} Prazosin

^{۵۸} Monophasicity

^{۵۹} Baclofen

^{۶۰} Idazoxan

آوران‌های گاباژیک می‌توانند برای مدت محدودی تولید اسپایک‌های انفجاری را از دست داده و شاید گیرنده‌های گابا بتوانند یک مسیر تنظیمی تعدیلی مناسبی برای این نورون‌ها باشند.

تشکر و قدردانی

این تحقیق بخشی از داده‌های استخراجی از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد خانم فرشته طالع می‌باشد. پایان‌نامه مذکور با حمایت کامل مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی استان آذربایجان غربی (رومیه) تحت قرارداد شماره ۱۶۴۷ انجام شده است. نویسنده‌گان مقاله از کلیه حمایت‌های مالی مذکور تشکر و قدردانی می‌نمایند. کلیه فرایندهای تحقیق در محل شرکت دانش پی‌هادی به عنوان شرکت دانش‌بنیان دانشگاه علوم پزشکی ارومیه انجام شده است. نویسنده‌گان مقاله را مطالعه کرده و عدم وجود تعارض منافع خود را اعلام می‌نمایند. حق انتشار به صورت آزاد برای مجله انتشار دهنده محفوظ می‌باشد.

به نظر می‌رسد اثر فعال یا غیرفعال شدن گیرنده‌های گابا روی نورون‌های دوپامینژیک در ناحیه VTA می‌تواند قدری متفاوت باشد. با توجه به اینکه اثر گیرنده‌های GABA-A در روی نورون‌های دوپامینژیک یک حالت تنظیمی و تعدیلی می‌تواند داشته باشد به نظر می‌رسد یافته‌های این پژوهش تا حدودی به نقش تنظیمی گیرنده‌های GABA-A اشاره داشته است. همچنان که در GABA-A این پژوهش مشخص گردید، مهار گیرنده‌های GABA-A به وسیله بیکوکولین به طور معنی‌داری توانسته است موجب بروز اسپایک‌های انفجاری در نورون‌های تحت مطالعه گردد. در واقع نورون‌های ثبت شده دارای فعالیت انفجاری نبوده و در حالت شلیک منظم ساده -تونیک قرار داشتند. این نورون‌ها تحت تأثیر مستقیم بیکوکولین تحیریک شده و قادر شدند پاسخ‌های انفجاری از خود نشان دهند. رفتارهای تغییریافته نورونی و افزایش فعالیت نورون‌ها پس از برطرف شدن اثرات بیکوکولین نیز مؤید این موضوع می‌باشد که این نورون‌های تحت تأثیر

منابع

- Anakwenze CP, Coronado-Interis E, Aung M, Jolly PE. A theory-based intervention to improve breast cancer awareness and screening in jamaica. *prevention science: the official journal of the society for prevention research*. 2015; 16(4): 578-85.
- Luscher C, Malenka RC. Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: from molecular changes to circuit remodeling. *Neuron*. 2011; 69(4): 650-63.
- Nestler EJ, Carlezon WA, Jr. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biological psychiatry. Biol Psychiatry*. 2006; 59(12): 1151-9.
- Wise RA. Dopamine, learning and motivation. *Nature reviews Neuroscience*. 2004; 5(6): 483-94.
- Margolis EB, Lock H, Hjelmstad GO, Fields HL. The ventral tegmental area revisited: is there an electrophysiological marker for dopaminergic neurons? *J Physiol*. 2006; 577(Pt 3): 907-24.
- Nair-Roberts RG, Chatelain-Badie SD, Benson E, White-Cooper H, Bolam JP, Ungless MA. Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience*. 2008; 152(4): 1024-31.
- Swanson LW. The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res Bull*. 1982; 9(1-6): 321-53.
- Yamaguchi T, Wang HL, Li X, Ng TH, Morales M. Mesocorticolimbic glutamatergic pathway. *J Neurosci*. 2011; 31(23): 8476-90.
- Albanese A, Minciacchi D. Organization of the ascending projections from the ventral tegmental area: a multiple fluorescent retrograde tracer study in the rat. *J Comp Neurol*. 1983; 216(4): 406-20.
- Brinschwitz K, Dittgen A, Madai VI, Lommel R, Geisler S, Veh RW. Glutamatergic axons from the lateral habenula mainly terminate on GABAergic neurons of the ventral midbrain. *Neuroscience*. 2010; 168(2): 463-76.
- Jhou TC, Geisler S, Marinelli M, Degarmo BA, Zahm DS. The mesopontine rostromedial tegmental nucleus: A structure targeted by the lateral habenula that projects to the ventral tegmental area of Tsai and substantia nigra compacta. *J Comp Neurol*. 2009; 513(6): 566-96.
- Tan KR, Yvon C, Turiault M, Mirzabekov JJ, Doebecker J, Labouébe G, et al. GABA neurons of the VTA drive conditioned place aversion. *Neuron*. 2012; 73(6): 1173-83.
- van Zessen R, Phillips JL, Budygin EA, Stuber GD. Activation of VTA GABA neurons disrupts reward consumption. *Neuron*. 2012; 73(6): 1184-94.
- Beier KT, Steinberg EE, DeLoach KE, Xie S, Miyamichi K, Schwarz L, et al. Circuit architecture of

- VTA dopamine neurons revealed by systematic input-output mapping. *Cell.* 2015; 162(3): 622-34.
15. Kudo T, Uchigashima M, Miyazaki T, Konno K, Yamasaki M, Yanagawa Y, et al. Three types of neurochemical projection from the bed nucleus of the stria terminalis to the ventral tegmental area in adult mice. *J Neurosci.* 2012; 32(50): 18035-46.
 16. Zahm DS, Cheng AY, Lee TJ, Ghobadi CW, Schwartz ZM, Geisler S, et al. Inputs to the midbrain dopaminergic complex in the rat, with emphasis on extended amygdala-recipient sectors. *J Comp Neurol.* 2011; 519(16): 3159-88.
 17. Kaufling J, Waltisperger E, Bourdy R, Valera A, Veinante P, Freund-Mercier MJ, et al. Pharmacological recruitment of the GABAergic tail of the ventral tegmental area by acute drug exposure. *Br J Pharmacol.* 2010; 161(8): 1677-91.
 18. Schultz W. Dopamine neurons and their role in reward mechanisms. *Curr Opin Neurobiol.* 1997; 7(2): 191-7.
 19. Schultz W, Dayan P, Montague PR. A neural substrate of prediction and reward. *Science.* 1997; 275(5306): 1593-9.
 20. Schultz W. Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol.* 1998; 80(1): 1-27.
 21. Cooper DC. The significance of action potential bursting in the brain reward circuit. *Neurochem Int.* 2002; 41(5): 333-40.
 22. Komendantov AO, Komendantova OG, Johnson SW, Canavier CC. A modeling study suggests complementary roles for GABA_A and NMDA receptors and the SK channel in regulating the firing pattern in midbrain dopamine neurons. *J Neurophysiol.* 2004; 91(1): 346-57.
 23. Grace AA. The tonic/phasic model of dopamine system regulation and its implications for understanding alcohol and psychostimulant craving. *Addiction.* 2000; 95(2): 119-28.
 24. Schultz W. Getting formal with dopamine and reward. *Neuron.* 2002; 36(2): 241-63.
 25. Grace AA, Floresco SB, Goto Y, Lodge DJ. Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *Trends Neurosci.* 2007; 30(5): 220-7.
 26. Melis M, Pillolla G, Perra S, Colombo G, Muntoni AL, Pistis M. Electrophysiological properties of dopamine neurons in the ventral tegmental area of Sardinian alcohol-preferring rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2009; 201(4): 471-81.
 27. Heikkinen AE, Moykkynen TP, Korpi ER. Long-lasting modulation of glutamatergic transmission in VTA dopamine neurons after a single dose of benzodiazepine agonists. *Neuropsychopharmacology.* 2009; 34(2): 290-8.
 28. Saal D, Dong Y, Bonci A, Malenka RC. Drugs of abuse and stress trigger a common synaptic adaptation in dopamine neurons. *Neuron.* 2003; 37(4): 577-82.
 29. Ikemoto S, Murphy JM, McBride WJ. Self-infusion of GABA(A) antagonists directly into the ventral tegmental area and adjacent regions. *Behav Neurosci.* 1997; 111(2): 369-80.
 30. Ikemoto S, Murphy JM, McBride WJ. Regional differences within the rat ventral tegmental area for muscimol self-infusions. *Pharmacol Biochem Behav.* 1998; 61(1): 87-92.
 31. Laviolette SR, van der Kooy D. GABA(A) receptors in the ventral tegmental area control bidirectional reward signalling between dopaminergic and non-dopaminergic neural motivational systems. *Eur J Neurosci.* 2001; 13(5): 1009-15.
 32. Kodangattil JN, Dacher M, Authement ME, Nugent FS. Spike timing-dependent plasticity at GABAergic synapses in the ventral tegmental area. *J Physiol.* 2013; 591(19): 4699-710.
 33. Schweimer JV, Couillon GS, Betts JF, Burnet PW, Engle SJ, Brandon NJ, et al. Increased burst-firing of ventral tegmental area dopaminergic neurons in D-amino acid oxidase knockout mice *in vivo*. *Eur J Neurosci.* 2014; 40(7): 2999-3009.
 34. Li W, Doyon WM, Dani JA. Quantitative unit classification of ventral tegmental area neurons *in vivo*. *J Neurophysiol.* 2012; 107(10): 2808-20.
 35. Wang SS, Wei CL, Liu ZQ, Ren W. The influence of L-glutamate and carbachol on burst firing of dopaminergic neurons in ventral tegmental area. *Sheng li xue bao: [Acta physiologica Sinica].* 2011; 63(1): 25-30.
 36. Maggi CA, Meli A. Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems Part 1: General considerations. *Experientia.* 1986; 42(2): 109-14.
 37. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego: Academic Press. 2007.

38. Pinault D. The Juxtacellular Recording-Labeling Technique. *Neuromethods*. 2010; 54: 41-75.
39. White FJ, Wang RY. Electrophysiological evidence for A10 dopamine autoreceptor subsensitivity following chronic D-amphetamine treatment. *Brain Res*. 1984; 309(2): 283-92.
40. Mansvelder HD, Keath JR, McGehee DS. Synaptic mechanisms underlie nicotine-induced excitability of brain reward areas. *Neuron*. 2002; 33(6): 905-19.
41. Marinelli M, Cooper DC, Baker LK, White FJ. Impulse activity of midbrain dopamine neurons modulates drug-seeking behavior. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003; 168(1-2): 84-98.
42. Ungless MA, Magill PJ, Bolam JP. Uniform inhibition of dopamine neurons in the ventral tegmental area by aversive stimuli. *Science*. 2004; 303(5666): 2040-2.
43. Hyland BI, Reynolds JNJ, Hay J, Perk CG, Miller R. Firing modes of midbrain dopamine cells in the freely moving rat. *Neuroscience*. 2002; 114(2): 475-92.
44. Shi WX. Slow oscillatory firing: a major firing pattern of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *J Neurophysiol*. 2005; 94(5): 3516-22.
45. Grace AA, Bunney BS. The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: single spike firing. *J Neurosci*. 1984; 4(11): 2866-76.
46. Miller JD, Sanghera MK, German DC. Mesencephalic dopaminergic unit activity in the behaviorally conditioned rat. *Life Sci*. 1981; 29(12): 1255-63.
47. Freeman AS, Bunney BS. Activity of A9 and A10 dopaminergic neurons in unrestrained rats: further characterization and effects of apomorphine and cholecystokinin. *Brain Res*. 1987; 405(1): 46-55.
48. Grenhoff J, Ugedo L, Svensson TH. Firing patterns of midbrain dopamine neurons: differences between A9 and A10 cells. *Acta Physiol Scand*. 1988; 134(1): 127-32.
49. Steinfels GF, Heym J, Jacobs BL. Single unit activity of dopaminergic neurons in freely moving cats. *Life Sci*. 1981; 29(14): 1435-42.
50. Charley PJ, Grenhoff J, Chergui K, De la Chapelle B, Buda M, Svensson TH, et al. Burst firing of mesencephalic dopamine neurons is inhibited by somatodendritic application of kynureneate. *Acta Physiol Scand*. 1991; 142(1): 105-12.
51. Erhardt S, Engberg G. Increased phasic activity of dopaminergic neurones in the rat ventral tegmental area following pharmacologically elevated levels of endogenous kynurenic acid. *Acta Physiol Scand*. 2002; 175(1): 45-53.
52. Linderholm KR, Alm MT, Larsson MK, Olsson SK, Goiny M, Hajos M, et al. Inhibition of kynureanine aminotransferase II reduces activity of midbrain dopamine neurons. *Neuropharmacology*. 2016; 102: 42-7.
53. Schwieler L, Engberg G, Erhardt S. Clozapine modulates midbrain dopamine neuron firing via interaction with the NMDA receptor complex. *Synapse*. 2004; 52(2): 114-22.
54. Schwieler L, Linderholm KR, Nilsson-Todd LK, Erhardt S, Engberg G. Clozapine interacts with the glycine site of the NMDA receptor: electrophysiological studies of dopamine neurons in the rat ventral tegmental area. *Life Sci*. 2008; 83(5-6): 170-5.
55. Lejeune F, Millan MJ. Induction of burst firing in ventral tegmental area dopaminergic neurons by activation of serotonin (5-HT)1A receptors: WAY 100,635-reversible actions of the highly selective ligands, flesinoxan and S 15535. *Synapse*. 1998; 30(2): 172-80.
56. Grenhoff J, Svensson TH. Prazosin modulates the firing pattern of dopamine neurons in rat ventral tegmental area. *Eur J Pharmacol*. 1993; 233(1): 79-84.
57. Erhardt S, Mathe JM, Chergui K, Engberg G, Svensson TH. GABA(B) receptor-mediated modulation of the firing pattern of ventral tegmental area dopamine neurons *in vivo*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2002; 365(3): 173-80.
58. Engberg G, Kling-Petersen T, Nissbrandt H. GABAB-receptor activation alters the firing pattern of dopamine neurons in the rat substantia nigra. *Synapse*. 1993; 15(3): 229-38.