

The effects of locus coeruleus electrical stimulation on brain waves of morphine dependent rats

Safoura Raufi* , Hojjatollah Alaii

Dept. Physiology, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran

Abstract

Introduction: Opiates cause dependency via affect on central nervous system. Locus coeruleus nucleus is a main group of noradrenergic neurons in the brain that plays an important role in the expression of opioid withdrawal signs. During opioid withdrawal, brain waves change in addition to physical and behavioral signs. In this study, we examined the effects of locus coeruleus electrical stimulation on brain waves of morphine dependent rats.

Methods: Ten male Wistar rats were given intraplantar injections of increasing doses of morphine for 9 days. On day 10 after induction of anesthesia, electroencephalogram (EEG) recording was done. The EEG recording was also continued after intraplantar injection of naloxone. In the next step, rats were placed in stereotaxic apparatus and following the electrical stimulation of locus coeruleus, EEG was also recorded.

Results: Naloxone Injection increased the power of delta waves ($P<0.05$) and decreased the power of theta waves ($P<0.01$). The power of alpha waves and beta waves had not significant changes following naloxone administration. Electrical stimulation of locus coeruleus, decreased the power of delta waves ($P<0.01$) and increased the power of alpha waves ($P<0.05$), but did not change the power of theta and beta waves. The EEG total power increased during the withdrawal and decreased following electrical stimulation of locus coeruleus.

Conclusion: The changes in EEG due to naloxone administration which reversed toward the basal level after electrical stimulation of locus coeruleus suggests that violence of the locus coeruleus activity by its electrical stimulation in withdrawal stage, results in a compensative reaction in order to attenuation the effects of hyperactivity of the locus coeruleus.

Keywords: Electrical stimulation, Locus coeruleus, Brain waves, Morphine, Rat.

* Corresponding Author Email: safooraraufi@yahoo.com

بررسی اثرات تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس بر امواج مغزی در موشهای صحرایی وابسته به مرفین

صفورا رئوفی*، حجت ا. علایی
اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی.

دریافت: دی ۸۴ بازبینی: دی ۸۵ پذیرش: اسفند ۸۵

چکیده

مقدمه: هسته لوکوس سرولئوس مجموعه‌ای بزرگ از نرونهای نورآدرنژیک مغز است که در بروز سندروم قطع مصرف اپیوئیدها نقش مهمی ایفا میکند. در سندرم ترک مصرف، علاوه بر علائم رفتاری و فیزیکی امواج مغزی (الکتروانسفالوگرام) نیز دچار تغییر میگردند.

روش‌ها: د موشهای صحرایی نر نژاد Wistar دوزهای افزایش یابنده مرفین را بصورت داخل صفاقی به مدت ۹ روز دریافت نمودند. در روز دهم پس از بیهوشی، از آنها ثبت امواج مغزی بعمل آمد. سپس تزریق داخل صفاقی نالوکسان جهت ثبت امواج مغزی در مرحله قطع مصرف انجام شد. در مرحله سوم، موشهای صحرایی در دستگاه استریوتاکسیک قرار گرفته و پس از تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس، مجدداً ثبت امواج مغزی صورت گرفت.

یافته‌ها: در مرحله ترک، در مقایسه با مرحله اول، میانگین امواج دلتا افزایش ($p < 0.05$) و امواج تتا کاهش ($p < 0.01$) معنی داری یافتند و امواج آلفا و بتا تغییر معنی داری نکردند. متعاقب تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس، نسبت به مرحله دریافت نالوکسان، میانگین امواج دلتا کاهش ($p < 0.01$) و امواج آلفا افزایش معنی داری ($p < 0.05$) یافتند اما امواج تتا و بتا تغییر معنی داری نکردند.

نتیجه‌گیری: احتمالاً تشدید فعالیت هسته لوکوس سرولئوس توسط تحریک الکتریکی آن در مرحله قطع مصرف، سبب بروز یک مکانیسم جبرانی جهت کاهش برانگیختگی ناشی از فعالیت بیش از حد این هسته می‌گردد.

واژگان کلیدی: تحریک الکتریکی - لوکوس سرولئوس - امواج مغزی - مرفین.

مقدمه

مصرف مکرر اپیوئیدها با تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی (CNS) باعث بروز وابستگی و تغییرات فیزیولوژیک و سازشی از قبیل تغییر در گیرنده‌ها، سیستم پیامبری ثانویه، آنزیم‌ها و سیستم اپیوئیدی اندوژن می‌شود، بطوریکه قطع مصرف دارو یا دریافت آنتاگونیست آن سبب ظهور مجموعه‌ای از علائم تحت عنوان سندرم قطع مصرف (withdrawal syndrome) می‌گردد

اعتیاد در جوامع مختلف از جمله کشور ما از شیوع بالایی برخوردار است. با وجود تحقیقات متعدد، هنوز مکانیسم اعتیاد به طور کامل شناخته نشده است.

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
safooraraufi@yahoo.com

سندرم ترک مصرف، با استفاده از مطالعه امواج مغزی نیز مورد بررسی قرار دهیم. بنابراین در این تحقیق، اثر تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس را درموشهای صحرایی وابسته در مرحله قطع مصرف ارزیابی نمودیم.

مواد و روش ها

در این تحقیق از موشهای صحرایی (rat) نر از نژاد Wistar با وزن ۲۵۰ تا ۳۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفسهای ۵ تایی با دوره شبانه روزی طبیعی و دمای ۲۲ _ ۲۰ درجه با آب و غذای کافی نگهداری می شدند.

موشهای صحرایی دوزهای افزایش یابنده مرفین را به مدت ۹ روز بصورت ۱۰ mg/kg در سه روز اول، ۲۰ mg/kg در سه روز دوم و ۴۰ mg/kg در سه روز سوم بوسیله تزریق داخل صفاقی دریافت کردند [۱۶]. در روز دهم پس از ایجاد بیهوشی ثبت امواج مغزی در سه مرحله به عمل آمد:

(۱) ابتدا امواج مغزی به مدت ۲۰ دقیقه ثبت شد.

(۲) سپس تزریق داخل صفاقی نالوکسان با دوز ۲mg/kg انجام شد و پس از ۱۵ دقیقه مرحله دوم ثبت امواج به عمل آمد.

(۳) پس از تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس مرحله سوم ثبت امواج مغزی صورت گرفت.

(جهت اطمینان از وابسته شدن حیوان به مرفین از تست نالوکسان استفاده گردید).

روش جراحی و آماده سازی موش صحرایی برای

ثبت الکتروانسفالوگرام

حیوان توسط تزریق داخل صفاقی اورتان با دوز mg/kg ۱۵۰۰ بیهوش می شد. برای کاهش استرس در حین جراحی از تزریق لیدوکائین به صورت موضعی در پوست سر استفاده می گردید. پس از تراشیدن موهای سر لایه های روی سطح استخوان جمجمه بطور کامل برداشته شده و توسط مته

[۱۷،۵،۱۵]. جدا کردن ناگهانی اپیوئیدها از گیرنده ها توسط یک آنتاگونیست اپیوئیدی مانند نالوکسان، باعث تسریع و تشدید سندرم ترک می شود [۱۱].

هسته لوکوس سرولئوس، گروه بزرگی از نرون های نورآدرنژیک مغز است که نقش مهمی در ایجاد وابستگی به اپیوئیدها و بروز علائم قطع مصرف آنها ایفا می کند [۲۹،۲۶،۱۹]. تحقیقات، افزایش فعالیت و افزایش سرعت تخلیه نرون های هسته لوکوس سرولئوس در طی سندرم قطع مصرف اپیوئیدها را نشان داده اند [۱،۲۴]. در حیوانات وابسته، با تجویز نالوکسان، همزمان با بروز علائم ترک اعتیاد افزایش فعالیت نرون های هسته لوکوس سرولئوس و افزایش رهایی نورآدرنالین در این هسته و نواحی مرتبط با آن مشاهده شده است [۱۰،۲۷،۲۳].

علاوه بر علائم رفتاری، امواج مغزی نیز در مراحل مختلف اعتیاد، دچار تغییر می شوند. در مورد تأثیر مواد اپیوئیدی بر امواج مغزی گزارشات متعدد و مختلفی وجود دارد اما هنوز چگونگی تغییرات امواج مغزی در اعتیاد بطور قطعی مشخص نشده است. به عنوان مثال، Dimpfel و همکارانش در سال ۱۹۹۸ کاهش را در توان امواج مغزی بر اثر مصرف مرفین گزارش کردند [۹]. در مقابل، Mayo و Hong، Sala نشان دادند که دریافت مرفین سبب افزایش توان امواج مغزی می گردد [۱۸،۱۴،۲۵].

افزایش و یا کاهش فعالیت هسته لوکوس سرولئوس نیز سبب ایجاد تغییراتی در امواج مغزی می شود. Emilien و de Sarro در سال ۱۹۹۰ گزارش کردند که کاهش فعالیت نرون های هسته لوکوس سرولئوس سبب افزایش توان کلی امواج مغزی می شود [۸،۱۲]. گزارشات نشانگر افزایش فرکانس و دامنه امواج مغزی بر اثر تحریک هسته لوکوس سرولئوس و کاهش فرکانس و افزایش دامنه این امواج به دنبال مهار فعالیت این هسته وجود دارد [۴،۶،۲۰،۲۸،۲].

با توجه به اینکه در تحقیقات متعددی، نقش هسته لوکوس سرولئوس در اعتیاد با استفاده از علائم رفتاری مورد مطالعه قرار گرفته است، تصمیم گرفتیم نقش این هسته را در اعتیاد و

جدول ۱- مقایسه امواج مغزی رات‌های وابسته به مرفین، قبل از دریافت نالوکسان، بعد از دریافت نالوکسان و بعد از تحریک الکتریکی هسته LC (مقادیر به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ بیان شده است).

امواج مغزی				وضعیت حیوان
دلتا	تتا	آلفا	بتا	وضعیت
۴۸/۹۳±۷/۴۷	۱۹/۳۸±۲/۵۷	۱۶/۴۳±۳/۴	۱۵/۲۵±۲/۷۳	وابستگی (1)
۶۱/۳۸±۶/۴۳*	۱۴/۴۱±۲/۱۸**	۱۰/۴۳±۲/۲۱	۱۳/۸۱±۲/۳۸	وابستگی + نالوکسان (2)
۵۲/۳±۵/۱۴\$\$\$	۱۸/۱۸±۳	۱۳/۶۵±۱/۹۲\$	۱۵/۸۳±۲/۷۲	وابستگی + نالوکسان + تحریک الکتریکی هسته LC (3)

* اختلاف معنی دار گروه ۱ با گروه ۲. ($p < 0.05$, $**p < 0.01$) ، \$ اختلاف معنی دار گروه ۲ با گروه ۳. ($p < 0.05$, $**p < 0.01$) . عدم وجود اختلاف معنی دار بین گروه ۱ با گروه ۳.

دندانپزشکی دو سوراخ در ناحیه فرونتال و پاریتال سمت چپ در سطح مجسمه ایجاد می‌شد. سپس سر موش روی تخته مخصوص ثابت شده و الکترودهای نقره‌ای بوسیله گیره و پایه در سر حیوان تثبیت می‌گردید. امواج مغزی با عبور از الکترودهای نقره‌ای وارد دستگاهی بنام فیزیوگراف می‌شد. این دستگاه امواج ضعیف مغز را دریافت کرده و بعد از گذراندن از فیلترهای مناسب آن را تقویت می‌کرد. فیزیوگراف به یک رایانه وصل بود و امواج مغزی پس از انتقال به رایانه توسط نرم افزار مربوطه مورد آنالیز قرار گرفته و نهایتاً سیگنالها تحت عنوان توان (power) کلی امواج مغزی و توان هر موج نمایش داده می‌شد.

روش جراحی موش صحرایی برای تحریک الکتریکی هسته لوکوس سروئوس

حیوان بیهوش در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفته و هسته لوکوس سروئوس با ابعاد $L = 1.4$, $AP = -10.04$ و $V = 7.2$ میلی متر ردیابی می‌شد [۲۱] و سوراخی در آن ناحیه ایجاد می‌گردید. سپس جهت تحریک الکتریکی هسته لوکوس سروئوس، یک الکتروده از جنس فولاد زنگ نزن در ناحیه هسته قرار داده می‌شد. سپس جریان الکتریکی تک فاز (monophasic) با شدت ۱۵۰ میکرو آمپر و فرکانس ۲۰ هرتز بوسیله دستگاه Isolator A 360 stimulator به بافت انتقال می‌یافت [۷].

لازم به ذکر است که تحریک یکطرفه هسته لوکوس سروئوس به علت وجود ارتباطات رفت و برگشتی فراوان این هسته با نواحی مختلف CNS برای ایجاد حالت برانگیختگی سیستم نورآدرنژیک مغز در کل سیستم عصبی کافی می‌باشد. چنانچه در برخی از تحقیقات نیز در مطالعه فعالیت هسته لوکوس سروئوس از روش تحریک یکطرفه هسته استفاده شده است [۳].

بررسی بافت شناسی

جهت اطمینان از محل تحریک الکتریکی، پس از اتمام آزمایش، حیوان با محلول سالین و فرمالین ۱۰٪ تحت پرفیوژن قرار می‌گرفت. سپس مغز حیوان از مجسمه خارج شده و به مدت ۲۴ ساعت در محلول فرمالین ۱۰٪ جهت فیکس کامل قرار داده می‌شد. سپس با استفاده از دستگاه میکروتوم، برش‌های بافتی به ضخامت ۵۰ میکرو متر تهیه شده و با روش neutral red، رنگ آمیزی شده و با اطللس پاکسینوز مطابقت داده می‌شد. چنانچه تحریک الکتریکی در خارج از محل مورد نظر انجام شده بود داده‌های مربوطه حذف می‌گردید.

روش‌های آماری

داده‌های به دست آمده با استفاده از روش آماری paired t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

میانگین مقادیر ثبت شده امواج مغزی حیوانات مورد آزمایش در سه مرحله مطالعه، در جدول ۱ آورده شده است.

تزریق نالوکسان به موش‌های وابسته به مرفین، سبب افزایش توان کلی امواج مغزی شد. همچنین افزایش معنی دار توان امواج دلتا ($p < 0.05$) و کاهش معنی دار توان امواج تتا ($p < 0.01$) مشاهده گردید. اما امواج آلفا و بتا تغییر معنی داری پیدا نکردند. (جدول ۱)

پس از تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس تغییراتی نسبت به مرحله ویدرئوال، در امواج مغزی ایجاد شد، به این صورت که توان کلی امواج مغزی کاهش یافت. توان امواج دلتا کاهشی معنی دار ($p < 0.01$) و توان امواج آلفا افزایشی معنی دار ($p < 0.05$) پیدا کردند اما در امواج تتا و بتا تغییر معنی داری ایجاد نگردید. (جدول ۱)

بین امواج مغزی که پس از تزریق نالوکسان و تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس ثبت شده بود نسبت به امواج مغزی قبل از تزریق نالوکسان اختلاف معنی داری مشاهده نگردید.

در مجموع، تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس سبب بازگشت مقادیر امواج مغزی موش‌های وابسته به مرفین که دچار سندروم قطع مصرف شده بودند، به سمت مقادیر پیش از تزریق نالوکسان شد. بطوریکه تفاوت معنی داری بین مقادیر امواج مغزی ثبت شده مرحله اول با مرحله پس از تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس وجود نداشت.

بحث

در مطالعات مختلف، گزارشات متعددی مبنی بر تغییر امواج مغزی به دنبال مصرف داروهای اعتیادآور و قطع مصرف آنها، وجود دارد.

با ارزیابی نتایج تحقیق حاضر مشخص گردید که تجویز

نالوکسان، سبب تغییراتی در امواج مغزی موش‌های صحرایی وابسته به مرفین می‌گردد. به این ترتیب که توان کلی (total power) این امواج پس از دریافت نالوکسان نسبت به مرحله قبل، افزایش یافت. Dimpfel و همکارانش در سال ۱۹۹۸ کاهشی را در توان امواج مغزی به دنبال مصرف مرفین گزارش کردند [۹]. در سال ۱۹۹۵، Ferger و همکارانش گزارش کردند که مصرف مرفین سبب کاهش قابل توجهی در اغلب باندهای فرکانسی امواج مغزی می‌شود [۱۳]. البته مطالعات Sala در سال ۱۹۹۵، Mayo در سال ۱۹۹۲ و Hong در سال ۱۹۸۸ نشان داده‌اند که تجویز مرفین، سبب افزایش توان کلی امواج مغزی می‌شود. همچنین Sala گزارش کرد که قطع مصرف مرفین، سبب کاهش توان کلی امواج می‌گردد [۱۴، ۱۸، ۲۵]. با توجه به این که انتظار می‌رود تجویز نالوکسان اثرات مرفین را آنتاگونیست نماید، نتیجه تحقیق انجام شده مغایر با سه گزارش اخیر است، اما با گزارشات قبلی هماهنگ می‌باشد.

در مطالعه حاضر تجویز نالوکسان، سبب افزایشی معنی دار در مقادیر امواج دلتا شد. Sala نیز گزارش کرد که قطع مصرف مرفین، افزایش امواج دلتا را تشدید می‌کند [۲۵]. Philips در سال ۱۹۹۴ نشان داد که مرفین سبب تضعیف توان امواج دلتا می‌شود [۲۲] که این گزارش نیز می‌تواند افزایش توان امواج دلتا بر اثر تجویز نالوکسان در مطالعه ما را تأیید کند.

به دنبال تزریق نالوکسان، توان امواج تتا کاهشی معنی دار یافت. Philips و Sala افزایش توان امواج تتا به دنبال مصرف مرفین را گزارش کردند که اثر نالوکسان را بر این امواج، در مطالعه ما تأیید می‌کند [۲۲، ۲۵].

در مطالعه انجام شده، مقادیر امواج آلفا و بتا در موش‌های وابسته به مرفین، پس از دریافت نالوکسان، نسبت به مرحله قبل تغییر معنی داری نداشتند.

تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس، باعث کاهش توان کلی امواج مغزی رات‌های معتاد دریافت کننده نالوکسان شد. همچنین بر اثر این تحریک، توان امواج دلتا کاهش معنی

منابع

- [1] Aston-Jones G, Hirrata H, Akaoka H, Local opiate withdrawal in locus coeruleus in vivo. **Brain Res** 765 (1997) 331-336.
- [2] Berridge CW, Foote SL, Effects of locus coeruleus activation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus. **J Neurosci** 11(1991) 3135-45.
- [3] Berridge CW, Foote SL, Locus coeruleus induced modulation of forebrain electroencephalographic(EEG) state in halothane anesthetized rat. **Brain Res Bull** 35 (1994) 597-605.
- [4] Berridge CW, Page ME, Valentino RJ, Foote SL, Effects of locus coeruleus inactivation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus. **Neuroscience** 55 (1993) 381-93.
- [5] Bhargava H N, Diversity of agents that modify opioid tolerance, physical dependence, abstinence syndrome, and self-administrative behavior. **Pharmacol Rev** 46(1994) 293-324.
- [6] Danyasz W, Dyr W, Plaznik A, Kostowski W, The effect of microinjections of clonidine into the locus coeruleus on cortical EEG in rats. **Pol J Pharmacol Pharm** 41(1989) 45-50.
- [7] Dennis F, Hans C, Electrical stimulation of reward site in the ventral tegmental area increases dopamine transmission in the nucleus accumbens of rat. **Behav Brain Res** 55 (1993) 131-133.
- [8] de Sarro GB, Bagetta G, Ascoti C, Libri V, Nistico G, Microinfusion of clonidine

دار و توان امواج آلفا افزایش معنی دار یافتند. اما امواج تتا و بتا تغییر معنی داری پیدا نکردند.

با توجه به تحقیقات موجود که عمدتاً بر روی علایم رفتاری حیوانات انجام گرفته اند، هسته لوکوس سرولئوس میانجی کننده اصلی سندروم قطع مصرف اپیوئیدها می باشد. بنابراین انتظار می رفت که با افزایش فعالیت نورون های هسته لوکوس سرولئوس توسط تحریک الکتریکی آن، تغییراتی در امواج مغزی ایجاد شود که در جهت تغییرات ایجاد شده در امواج مغزی پس از دریافت نالوکسان یعنی در مرحله قطع مصرف باشند. اما مشاهده شد که تحریک الکتریکی این هسته، سبب معکوس شدن تغییرات ایجاد شده به دنبال دریافت نالوکسان گردید و باعث بازگشت آنها به سمت مقادیر قبل از تجویز نالوکسان شد. بطوریکه مقادیر امواج مغزی در مرحله قبل از تجویز نالوکسان با مقادیر این امواج پس از تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس تفاوت معنی داری نداشت.

با توجه به نتایج تحقیق حاضر احتمال می رود که تشدید فعالیت هسته لوکوس سرولئوس توسط تحریک الکتریکی آن در مرحله قطع مصرف، سبب ایجاد یک مکانیسم جبرانی جهت کاهش برانگیختگی ناشی از فعالیت بیش از حد این هسته شده باشد. به عنوان مثال امکان دارد که افزایش فعالیت هسته لوکوس سرولئوس سبب تحریک مناطق مغزی تعدیل کننده فعالیت این هسته شود. همچنین احتمال دارد که افزایش فعالیت هسته لوکوس سرولئوس علاوه بر بروز پدیده قطع مصرف باعث فعال شدن مسیرهای دیگر اعتیاد از جمله تحریک رهایی اپیوئیدهای اندوژن شود و به این وسیله موجب تعدیل علایم و تغییرات ایجاد شده در مرحله قطع مصرف گردد.

در نهایت پیشنهاد می شود که جهت تحقیق در مورد نقش هسته های مغزی در پدیده اعتیاد، علاوه بر علایم رفتاری و فیزیکی، معیارهای دیگری از جمله امواج مغزی نیز مورد توجه قرار گیرند.

- different 4-aminopyridine and morphine combinations on the intensity of morphine abstinence. *Pharmacol Res* 43 (2001) 245-250.
- [17] Langerman L, Steingart RA, Margolis A, A method of reducing the opioid withdrawal intensity using progressively increasing doses of naloxone. *J Pharmacol Toxicol Methods* 42 (1999) 115-9.
- [18] Mayo-Michelson L, Young GA, Effects of chronic morphine administration and naloxone on EEG, EEG power spectra, and associated behavior in two inbred rat strains. *Pharmacol Biochem Be* 42 (1992) 815-21.
- [19] Nakai T, Hayashi M, Ichihara K, Noradrenaline release in rat locus coeruleus is regulated by both opioid and alpha(2)-adrenoceptors. *Pharmacol Res* 45 (2002) 407-12.
- [20] Page ME, Valentino RJ, Locus coeruleus activation by physiological challenges. *Brain Res Bull* 35 (1994) 557-60.
- [21] Paxinose G, Watson C, *The rat brain in stereotaxic coordinates*. New York: Accademic Press, 1998.
- [22] Phillips RL, Herning R, London ED, Morphine effects on the spontaneous electroencephalogram in polydrug abusers: correlations with subjective self-reports. *Neuropsychopharmacology* 10 (1994) 171-81.
- [23] Pineda J, Torrecilla M, Martin-Ruiz R, Ugedo L-L, Attenuation of withdrawal-induced hyperactivity of locus coeruleus neurones by inhibitors of nitric oxide synthase in morphine-dependent rats. *Neuropharmacology* 37 (1998) 759-67.
- [24] Rasmussen K, Aghajanian GK, Withdrawal-induced activation of locus and yohimbine into locus coeruleus alters EEG power spectrum: effects of aging and reversal by phosphatidylserine. *Brit J Pharmacol* 95 (1988) 1278-86.
- [9] Dimpfel W, Spuler M, Nickel B, Dose- and time-dependent action of morphine, tramadol and flupirtine as studied by radioelectroencephalography in the freely behaving rat. *Neuropsychobiology* 20 (1989) 164-8.
- [10] Done C, Silverstone P, Sharp T, Effect of noloan percipitated morphine withdrawal on noradrenalin release in rat hippocampus in vivo. *Eur J Pharmac* 215(1992) 333-336.
- [11] Eidelberg E, Barstow CA, Morphine tolerance and dependence induced by intraventricular injection. *Science* 174 (1971) 74-6.
- [12] Emilien G, Effects of clonidine, yohimbine and eserine on the quantified EEG of rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 304 (1990) 105-24.
- [13] Ferger B, Kuschinsky K, Effects of morphine on EEG in rats and their possible relations to hypo- and hyperkinesia. *Psychopharmacology (Berl)* 117(1995) 200-7.
- [14] Hong O, Young GA, Khazan N, Modulation of morphine-induced EEG and behavioral effects by dynorphin A-(1-13) in non-tolerant and morphine-tolerant rats. *Neuropharmacology* 27 (1988) 807-12.
- [15] Katzung BG, *Basic and clinical pharmacology*. Philadelphia: 1998: 460-77.
- [16] Koyuncuoglu H, Nurten A, Enginar N, Ozerman B, Kara I, The effects of

- [27] Singewald N, Phillipu A, Release of neurotransmitters in the locus coeruleus. **Prog Neurobiol** 56 (1998) 237-267.
- [28] Van Bockstaele EJ, Morphological substrates underlying opioid, epinephrine and gama-aminobutyric acid inhibitory actions in the rat locus coeruleus. **Brain Res Bull** 47 (1998) 1-15.
- [29] Zhu H, Rockhold RW, Ho IK, The role of glutamate in physical dependence on opioids. **Rev Jpn J Pharmacol** 76 (1998) 1-14.
- coeruleus neurons in opiate-dependent rats: attenuation by lesions of the nucleus paragigantocellularis. **Brain Res** 505 (1989) 346-50.
- [25] Sala M, Leone MP, Lampugnani P, Braida D, Frattola D, Gori E, EEG power spectra and behavioral correlates in rats given chronic morphine. Lake of residual long-term EEG a neuronal changes. **Pharmacol Res** 32 (1995) 95-103.
- [26] Selley DE, Nestler EJ, Breivogel CS, Opioid receptor-coupled G-proteins in rat locus coeruleus membranes: decrease in activity after chronic morphine treatment. **Brain Res** 746 (1997) 10-8.