Physiology and Pharmacology, 13 (2), 108 - 119
Summer 2009 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Augmentation of paired pulse index as short-term plasticity due to morphine dependence

Narges Hosseinmardi[1], Leila Azimi[1], Mohammad Javan[1], Naser Naghdi[2], Yaghoub Fathollahi[1*]

1. Department of physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Department of physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 9 Jun 2009 **Revised: 19 Jul 2009** **Accepted: 29 Jul 2009**

Abstract

Introduction: Chronic morphine exposure can cause addiction and affect synaptic plasticity, but the underlying neural mechanisms of this phenomenon remain unknown. Herein we used electrophysiologic approaches in hippocampal CA1 area to examine the effect of chronic morphine administration on short-term plasticity.

Methods: Experiments were carried out on hippocampal slices taken from either control animals or animals made dependent via oral chronic morphine administration. Population spikes (PSs) were recorded from stratum pyramidale of CA1 following stimulation the Schaffer collateral afferents. For examining the short-term synaptic plasticity, paired pulse stimulations with inter pulse interval (IPI) of 10, 20, 80, and 200 ms were applied and paired pulse index (PPI) was calculated.

Results: Chronic morphine exposure had no effect on the baseline response. A significant increase in PPI was observed in dependent slices at 80 ms IPI as compared to the control ones. There was no significant difference in baseline response between control and dependent slices when we used long term morphine, naloxone, and both. However, long term morphine administration caused significant difference in PPI at IPI of 20 ms. This effect was eliminated in the presence of naloxone.

Conclusion: These findings suggest that morphine dependence could affect short-term plasticity in hippocampal CA1 area and increase the hippocampus network excitability.

Keywords: Addiction, CA1 neural networks, short-term synaptic plasticity.

* Corresponding author e- mail: fatolahi@modares.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۳ (۲)، ۱۰۸ - ۱۱۹
تابستان ۱۳۸۸

تشدید شاخص زوج پالس به عنوان شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت در اثر وابستگی به مرفین

نرگس حسین‌مردی[۱]، لیلا عظیمی[۱]، محمد جوان[۱]، ناصر نقدی[۲]، یعقوب فتح‌الهی[۱*]
۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲. گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران

دریافت: ۱۹ خرداد ۱۳۸۸ بازبینی: ۲۸ تیر ۱۳۸۸ پذیرش: ۷ مرداد ۱۳۸۸

چکیده

مقدمه: مصرف مزمن مرفین سبب اعتیاد شده و می‌تواند شکل‌پذیری سیناپسی را متأثر نماید. اما مکانیسم‌های نورونی مسؤول آن هنوز شناخته نشده‌است. در این مطالعه از روش الکتروفیزیولوژیک در منطقهCA1 هیپوکمپ استفاده کردیم تا تأثیر مصرف مزمن مرفین بر شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت را بررسی نماییم.

روش‌ها: مقاطع هیپوکمپ بدست آمده از موش‌های صحرایی کنترل و وابسته شده به مرفین از طریق تجویز خوراکی مرفین سولفات، مورد استفاده قرار گرفت. پتانسیل عمل دسته جمعی (PS) از ناحیه جسم سلولی سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکمپ به دنبال تحریک شاخه‌های جانبی شافر ثبت گردید. به منظور بررسی شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت از تحریکات زوج پالس با فواصل بین دو تحریک (10 (IPI، 20، 80 و ۲۰۰ میلی ثانیه استفاده شد و سپس شاخص زوج پالس محاسبه گردید.

یافته‌ها: مواجهه مزمن با مرفین هیچ اثری روی پاسخ‌های سیناپسی پایه نداشت. وابستگی به مرفین سبب افزایش معنی‌دار تسهیل زوج پالس (PPF) در80 IPI میلی ثانیه گردید. پاسخ‌های سیناپسی پایه در مقاطع بدست آمده از حیوانات کنترل و وابسته که در ACSF حاوی مرفین، نالوکسان و یا هر دو نگهداری شدند تفاوت معنی‌داری نداشت. اما حضور مداوم مرفین در ACSF سبب تفاوت معنی‌دار شاخص زوج پالس (PPI) در 20 IPI میلی ثانیه در موش‌های وابسته نسبت به گروه کنترل شد. این اثر در حضور همزمان نالوکسان با مرفین در ACSF ممانعت گردید.

نتیجه‌گیری: این نتایج پیشنهاد می‌کند که وابستگی به مرفین می‌تواند شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت در ناحیه CA1 هیپوکمپ را متأثر نماید و تحریک‌پذیری مدار هیپوکمپ را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: اعتیاد، شبکه عصبی CA1، شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت.

مقدمه

اعتیاد دارویی یک بیماری عصبی- روانی است که به صورت از دست دادن کنترل فرد در مصرف دارو، یا جستجو و مصرف اجباری دارو علی رغم نتایج زیانبار آن تعریف می‌شود [۲۰]. ویژگی‌های اصلی اعتیاد شامل تحمل (کاهش اثر دارو با مصرف مکرر آن و بنابراین نیاز به افزایش دوز برای کسب همان اثر اولیه) و وابستگی (تغییر یک وضعیت فیزیولوژیک با مصرف مکرر دارو، به طوریکه قطع تجویز آن منجر به سندرم قطع مصرف "Withdrawal" می‌گردد) می‌باشد [۲۱، ۲۲، ۳۱]. زمانیکه اعتیاد شکل می‌گیرد می‌تواند در تمام طول زندگی فرد

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: fatolahi@modares. ac. ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

ادامه یابد، به طوریکه افراد بعد از سال‌ها یا حتی دهه‌ها قطع مصرف، اشتیاق شدید به دارو و خطر عود را که اغلب بوسیله عوامل مرتبط با دارو تشدید می‌شود نشان می‌دهند [۱۱، ۲۰]. این نشان می‌دهد که اعتیاد سبب تغییرا ت به شدت پایدار در مغز می‌شود که مسؤول این اختلالات رفتاری طول کشیده می‌باشد.

شکل‌پذیری سیناپسی که به معنی تغییرات ایجاد شده با فعالیت در کارایی سیناپسی است نقش مهمی در عملکرد طبیعی مغز بازی می‌کند و این فرضیه مطرح شده است که اطلاعات به صورت تغییرات طولانی مدت وابسته به فعالیت در کارایی سیناپسی در مغز ذخیره می‌شوند [۲، ۱۰، ۱۶].

پذیرفته شده‌است که اعتیاد دارویی یک شکل غیرطبیعی از یادگیری است که ممکن است شکل‌پذیری نابجا در ساختارهای مغزی درگیر در حافظه و یادگیری از جمله هیپوکمپ القا کند. گزارش‌های متعدد پیشنهاد می‌کند که مصرف مزمن اپیوئیدها نظیر مرفین و هروئین می‌تواند منجر به اختلالات شناختی شود. برای مثال مصرف‌کنندگان هروئین نسبت به افراد کنترل دارای عملکرد ضعیف‌تری در تمرکز و توجه، روانی کلام و آزمون‌های حافظه‌ای هستند [۸]. مدارک زیادی وجود دارد که مواجهه مزمن با مرفین می‌تواند به طور بارز سبب تغییر شکل‌پذیری سیناپسی و عمل طبیعی مغز در in vivo و in vitro گردد که نهایتاً منجر به تکوین وابستگی و تحمل به اپیوئیدها می‌شود. [۱، ۲۳، ۲۴] علی‌رغم پیشرفت‌های چشمگیر در فهم اثرات مصرف مزمن مرفین روی شکل‌پذیری سیناپسی طولانی مدت، اثر مصرف این ماده روی شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت ناشناخته است.

شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت می‌تواند اعتبار انتقال اطلاعات عصبی را افزایش داده، تعادل بین تحریک و مهار را تنظیم کرده و ویژگی‌های فضایی- زمانی فعالیت نورونی را تعدیل نماید [۳۰]. در حقیقت تغییرات کوتاه مدت به صورت فعال ورودی‌ها را پردازش نموده تا یک خروجی الگودار مناسب تولید کند و همچنین به عنوان یک فیلتر زمانی برای فعالیت شبکه عمل نموده، بنابراین در پردازش اطلاعات شرکت می‌کند. ساده‌ترین فرم شکل‌پذیری کوتاه مدت در اثرات زوج پالس، که بوسیله زوج‌های متوالی از تحریکات اعمال می‌شود، یعنی Paired Pulse Depression (PPD) و Paired Pulse Facilitation (PPF) تظاهر می‌کند [۳۴].

مطالعات قبلی نشان داده است که انتقال سیناپسی گابائرژیک بوسیله اپیوئیدها متأثر می‌شود [۳، ۱۴، ۳۰] و اینکه سیستم گابائرژیک ممکن است برای شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت مشاهده شده در مسیرهای نورونی هیپوکمپ ضروری باشد [۳۴]. بنابر این فهم اثرات مصرف مزمن مرفین روی شکل‌پذیری کوتاه مدت نورونی شاخه جانبی شافر به CA1 می‌تواند اطلاعاتی در مورد تأثیر مصرف اپیوئیدها در پردازش اطلاعات فراهم کند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar (۱۵۰-۱۲۰ گرم، تهیه شده از انستیتو پاستور) استفاده شد، که به تعداد ۵ عدد در هر قفس با یک برنامه ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی نگهداری شدند. موش‌ها دسترسی آزاد به محلول مرفین (به عنوان تنها منبع مایع) و غذا داشتند.

موش‌ها با تجویز مزمن مرفین در آب آشامیدنی ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ۰/۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هر کدام به مدت ۴۸ ساعت و ۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در طی روزهای بعدی وابسته می‌شدند. این روش تجویز مزمن حداقل ۲۱ روز تا برقراری کامل وابستگی به مرفین ادامه داشت. موش‌های کنترل فقط سوکروز که برای از بین بردن طعم تلخ مرفین در گروه وابسته به کار می‌رفت، در آبشان دریافت می‌کردند.

داروهای مورد استفاده شامل مرفین سولفات (تماد، ایران) و نالوکسان هیدرو کلراید، آنتاگو نیست گیرنده‌های μ اپیوئیدی (سیگما، آمریکا) هر دو در مایع مغزی نخاعی مصنوعی (ACSF) حل شدند.

به منظور تهیه مقاطع زنده از هیپوکمپ، موش‌ها با دی اتیل اتر بی‌هوش می‌شدند و سرشان با گیوتین قطع شده و مغز با احتیاط جدا شده و داخل بشر حاوی ACSF سرد و کربوژنه منتقل می‌گردید. سپس هیپوکمپ به سرعت جدا شده و برش‌های ۴۰۰ میکرو متری تهیه شده توسط دستگاه برش‌گیر (شرکت Campden، انگلستان) به محفظه بافتی منتقل

می‌گردید. مقاطع تهیه شده توسط ACSF که با مخلوط ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی اکسید کربن کربوژنه می‌شد با سرعت ۱-۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه مشروب می‌گردید. ACSF حاوی (به میلی مولار): NaCl, 124; KCl, 5; $MgCl_2$, 2; $CaCl_2$, 2; NaH_2PO_4, 1.25; $NaHCO_3$, 26; D-glucose, 10 می‌باشد. سطح فوقانی مقاطع با مخلوطی از۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی‌اکسید کربن مرطوب زنده نگه داشته می‌شد. بعد از ۱ ساعت نگهداری در دمای اتاق، دمای محفظه بافتی به آرامی به ۳۲ درجه سانتی گراد افزایش می‌یافت و مقاطع در این دما به مدت ۱ ساعت دیگر ریکاور می‌شدند.

۱۵دقیقه پس از الکترود گذاری، پالس مربعی با جریان ثابت (۰/۱ هرتز، ۱۵۰-۲۰ میکرو آمپر به مدت ۲۰۰ میکرو ثانیه) بوسیله دستگاه ایزوله کننده و تثبیت کننده پالس تحریکی (شرکت WPI، آمریکا) از طریق الکترود دو قطبی از جنس فولاد زنگ نزن که در ناحیه Stratum radiatum (SR) قرار داده شده بود به منظور تحریک مسیرهای جانبی شافر اعمال می‌شد. پتانسیل‌های خارج سلولی بوسیله میکرو الکترود شیشه‌ای پر شده با NaCl دو مولار با مقاومت ۵-۲ مگا اهم که در ناحیه Stratum pyramidale (SP) منطقه CA1 قرار داده شده بود ثبت می‌شدند. سیگنال‌ها به وسیله پره آمپلی فایر و سپس آمپلی فایر (شرکت WPI، آمریکا) تقویت شده و روی اسیلوسکوپ نمایش داده می‌شدند و به صورت دیجیتال (با سرعت نمونه برداری ۱۰ کیلو هرتز) جمع‌آوری و در حالی که بر روی مانیتور کامپیوتر قابل مشاهده می‌بود ذخیره شده تا به صورت Offline مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرند.

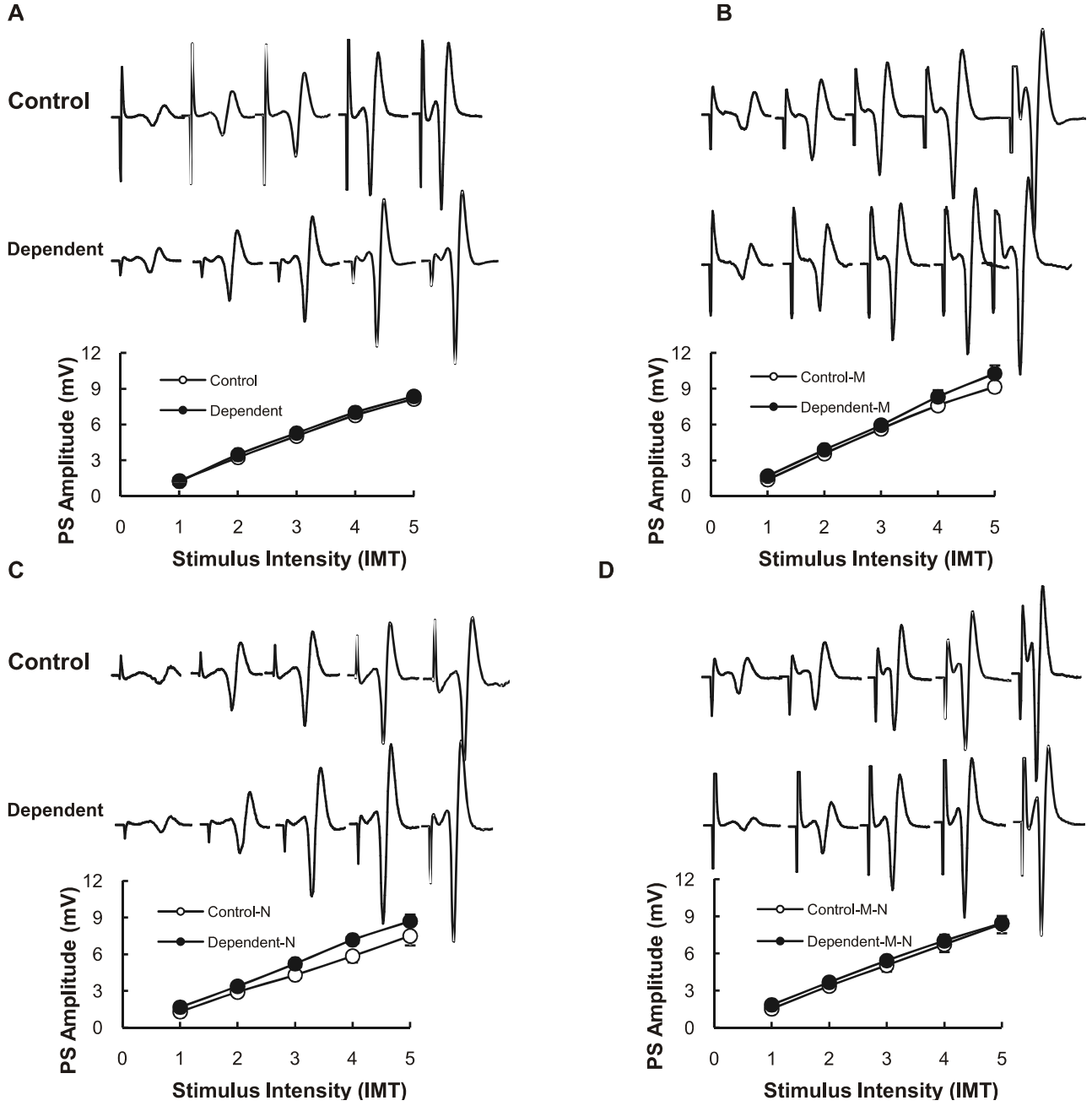
وقتی نوسان در پاسخ کمتر از ۱۰٪± به مدت ۲۰ دقیقه بود ثبت پایه پایدار در نظر گرفته می‌شد. در ابتدای هر آزمایش منحنی Input/Output رسم می‌شد. شدتی از تحریک که سبب برانگیختن ۶۰٪-۵۰٪ پاسخ حداکثر می‌گردید به عنوان پالس آزمون در نظر گرفته جهت ثبت پایه و تحریکات جهت القای پلاستیسیتی به کار می‌رفت. به منظور بررسی شکل‌پذیری کوتاه مدت از تحریکات زوج پالس متشکل از دو پالس مربعی با فواصل زمانی (IPI:Inter Pulse Interval) ۱۰، ۲۰، ۸۰ و ۲۰۰ میلی ثانیه که با تواتر۰/۱ هرتز اعمال می‌شد، به مدت ۱۰ دقیقه استفاده می‌شد.

آزمایشات بر روی مقاطع زنده هیپوکمپ موش‌های صحرایی وابسته به مرفین و کنترل انجام می‌شد. در موارد تجویز دارو مقاطع هیپوکمپی بدست آمده از موش‌های کنترل یا وابسته در ACSF حاوی داروها (۵ میکرومولار مرفین، ۱۰ میکرومولار نالوکسان یا ترکیب هر دو دارو) بلافاصله پس از خارج کردن مغز و در طی برشگیری تا انتهای آزمایش‌ها نگهداری می‌شدند. بنابراین هر کدام از مقاطع بدست آمده از موش‌های کنترل و وابسته به ۴ گروه تقسیم می‌شدند.

۱- گروه‌های کنترل و وابسته که مقاطع بدست آمد از موش‌های کنترل و وابسته در ACSF فاقد دارو نگهداری می‌شدند. ۲- گروه‌های کنترل- مرفین و وابسته- مرفین که مقاطع بدست آمده از موش‌های کنترل و وابسته با ACSF حاوی ۵ میکرو مولار مرفین پرفوزیون می‌شدند. ۳- گروه‌های کنترل- نالوکسان و وابسته- نالوکسان که مقاطع بدست آمده از موش‌های کنترل و وابسته با ACSF حاوی نالوکسان (۱۰ میکرومولار) پرفوزیون می‌شدند. ۴- گروه‌های کنترل- مرفین- نالوکسان و وابسته- مرفین- نالوکسان که مقاطع بدست آمده از موش‌های کنترل و وابسته با ACSF حاوی ۵ میکرومولار مرفین و ۱۰ میکرومولار نالوکسان پرفوزیون می‌شدند. در تمامی گروه‌های آزمایشی زمانی که مرفین استفاده می‌شد، به علت حساس بودن دارو به نور آزمایش‌ها در اتاق نیمه تاریک همراه با ظروف و لوله‌های پرفوزیون پوشیده شده از فویل آلومینیوم انجام می‌شد.

متوسط ۶ پاسخ برای آنالیز بعدی مورد استفاده قرار می‌گرفت و دامنه پتانسیل‌های دسته جمعی (PS: Population Spike) از متوسط پتانسیل‌های میدانی ثبت شده از ناحیه SP تعیین می‌شد. با کمک برنامه کامپیوتری آنالیز داده ها، دامنه PS تعیین می‌شد و شاخص زوج پالس (PPI: Paired Pulse Index) به صورت دامنه پتانسیل‌های دسته جمعی دوم به دامنه پتانسیل‌های دسته جمعی اول PS2/PS1 محاسبه می‌شد.

برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون one-way ANOVA و Unpaired t test استفاده شد. در همه محاسبات آماری، $P<0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. نتایج به صورت Mean ± SEM نشان داده شده است.



شکل۱- پاسخ‌های سیناپسی پایه در گروه کنترل و وابسته به مرفین در ناحیه جسم سلولی CA1 هیپوکمپ. A) منحنی‌های Input/Output دامنه PS در مقاطع بدست آمده از حیوانات کنترل (n=۸۵) و وابسته (n=۸۸)که با ACSF فاقد هر گونه دارو (B) کنترل (n=۱۶) و وابسته (n=۲۰) که با ACSF حاوی مرفین (با غلظت ۵ μM) C) کنترل (n=۸) و وابسته (n=۱۷) که با ACSF حاوی نالوکسان (با غلظت ۱۰ μM) و D) کنترل (n=۱۳) و وابسته (n=۱۷) که با ACSF حاوی مرفین و نالوکسان مشروب شدند. داده‌ها به صورت mean±SEM نشان داده شده اند. ANOVA به همراه آزمون توکی تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و وابسته نشان نداد . IMT (Integer multiples of the threshold intensity) به معنی مضارب صحیح از شدت تحریک آستانه است.

یافته‌ها

پاسخ سیناپسی پایه CA1: تحریک مسیرهای جانبی شافر، پتانسیل‌های دسته جمعی (PSs) را در ناحیه CA1 برمی‌انگیخت. با تحریکات ۰/۱ هرتز هیچ تقویت ناشی از فرکانس تحریک صورت نمی‌گرفت. دامنه پتانسیل‌های دسته جمعی بر انگیخته در پنج شدت تحریکی مختلف اندازه‌گیری می‌شد. کمترین شدتی که تولید پاسخ می‌کرد را شدت آستانه (T: Threshold) و شدتی که حداکثر پاسخ را بر می‌انگیخت 5T می‌نامیدیم. سه شدت 2T، 3T و4T بترتیب بین شدت حداقل و حداکثر تعریف می‌شدند. سپس منحنی‌های

Input/Output برای مقاطع زنده هیپوکمپ موش‌های صحرایی کنترل و وابسته به مرفین تهیه می‌گردید.

زمانی که مغز حیوانات وابسته به مرفین پس از خارج شدن از بدن در ACSF عاری از مرفین قرار داده شوند و تا پایان آزمایشات توسط این ACSF مشروب گردد، به عنوان مدلی برای القای سندرم ترک خود به خودی استفاده می‌شود. این مدل توسط سلمان‌زاده و همکاران به عنوان مدل شبه ترک مصرف مرفین در مطالعات in vitro ارائه شده است که برای بررسی مکانیسم‌های سلولی و ملکولی در گیر در سندرم ترک می توان استفاده کرد [۲۵]. هیچ اختلاف معنی‌داری بین دو گروه کنترل و وابسته در دامنه PS در این مدل مشاهده نشد ($F_{1,165} = 0.65$, $P > 0.05$, Two-factor ANOVA)، (شکل ۱A).

زمانی که ACSF حاوی مرفین از ابتدای آزمایشات مورد استفاده قرار گیرد از وقوع سندرم ترک خود به خود جلوگیری شده و سبب حفظ شرایط وابستگی به مرفین در مطالعات in vitro می گردد. به منظور القای سندرم ترک می‌توان از مدل دیگری استفاده کرد که در آن مقاطع هیپوکمپی از همان ابتدا در معرض ACSF حاوی نالوکسان، آنتاگونیست گیرنده‌های μ اپیوئیدی، و یا ACSF ی که با وجود مرفین در آن به دلیل حضور همزمان نالوکسان، مرفین قادر به اعمال اثر خود بر گیرنده‌اش نخواهد بود؛ نگهداری می‌شوند.

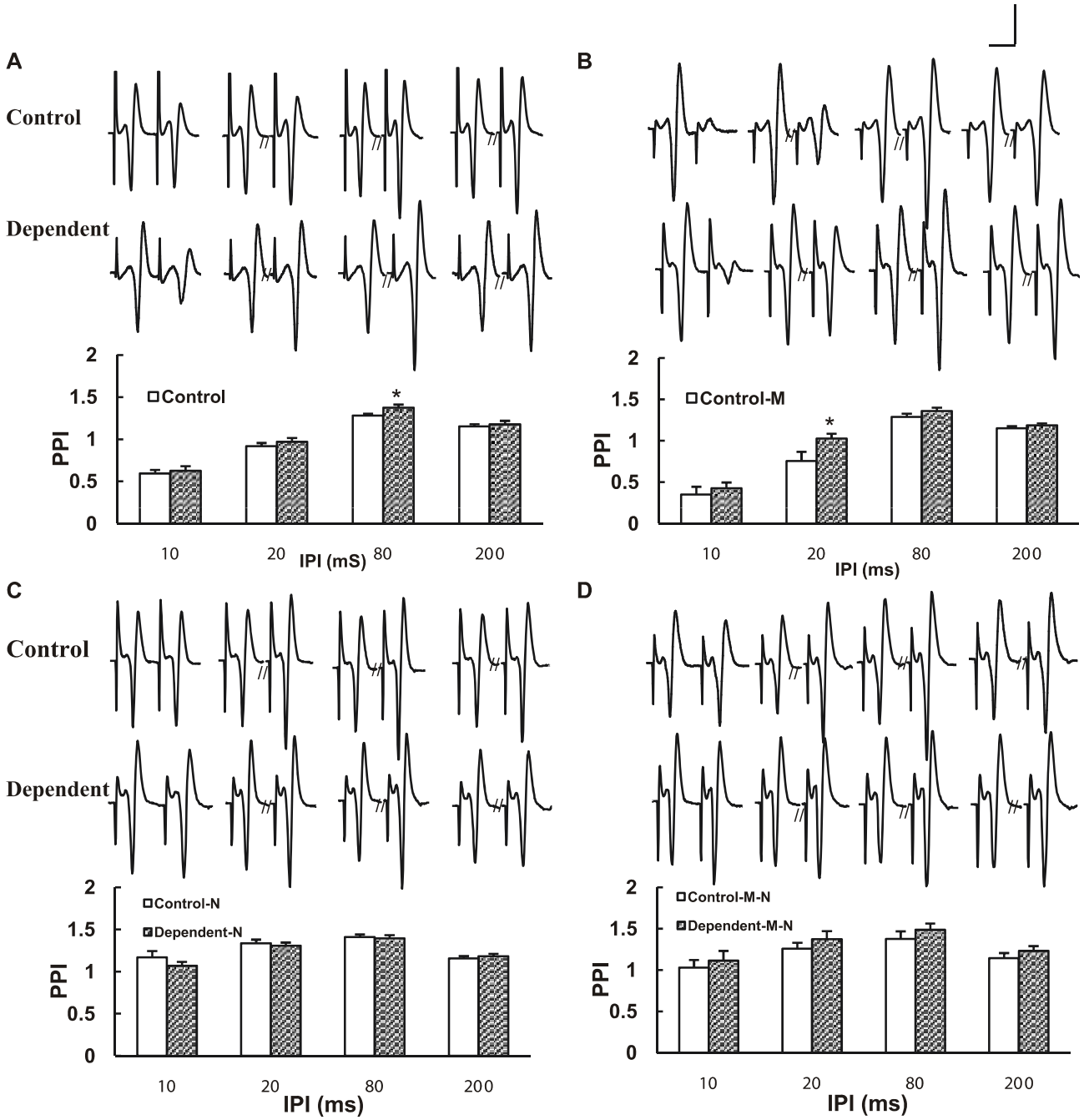
منحنی‌های Input/Output همچنین در این مدل‌ها یعنی در حضور مرفین، نالوکسان و هر دو نیز تهیه گردید. که هیچ تفاوت معنی‌داری بین مقاطع بدست آمده از گروه کنترل و وابسته در دامنه PS در حضور مرفین ($F_{1,33} = 1.31$, $P > 0.05$, Two-factor ANOVA)، نالوکسان ($F_{1,23} = 2.75$, $P > 0.05$, Two-factor ANOVA) و هردو دارو ($F_{1,25} = 0.26$, $P > 0.05$, Two-factor ANOVA) وجود نداشت (شکل ۱B، ۱C، ۱D).

شاخص زوج پالس PPI (PPI): در CA1 در IPI ۱۰، ۲۰، ۸۰ و ۲۰۰ میلی ثانیه در دو گروه کنترل و وابسته تعیین شد. متوسط PPI برای فواصل ۱۰ و ۲۰ میلی ثانیه کمتر از یک (PPD: Paied Pulse Depression) و برای فواصل ۸۰ و ۲۰۰ میلی ثانیه بزرگتر از یک (PPF: Paired Pulse Facilitation) بود. یک افزایش معنی‌دار PPI ($P > 0.05$, unpaired t-test) در IPI ۸۰ میلی ثانیه در مقاطع وابسته (1.37 ± 0.035, n=65) در مقایسه با کنترل (1.28 ± 0.022, n=81) در مدل سندرم ترک خود به خود مشاهده گردید (شکل ۲A).

حضور مداوم مرفین در ACSF از زمان خروج مغز تا پایان آزمایش که از بروز سندرم ترک خود به خودی جلوگیری می‌کند سبب افزایش معنی‌داری ($P > 0.05$, unpaired t-test) در PPI در IPI ۲۰ میلی ثانیه در گروه وابسته (1.028 ± 0.057, n=19) نسبت به گروه کنترل (0.754 ± 0.113, n=16) گردید (شکل ۲B). اما در حضور مداوم نالوکسان و حضور همزمان مرفین و نالوکسان در ACSF (مدل سندرم ترک القاء شده) تفاوت معنی داری در گروه کنترل و وابسته مشاهده نشد (شکل ۲C، ۲D).

بحث

ما در این تحقیق ابتدا پاسخ سیناپسی پایه را با استفاده از ثبت پتانسیل‌های دسته جمعی (PSs) را از ناحیه جسم سلولی CA1 در دو گروه کنترل و وابسته به مرفین بررسی نمودیم. دو تا از پارامتر های قابل بررسی در ثبت پتانسیل‌های میدانی fEPSP و PS می‌باشد. ثبت امواج مربوط به واقعه EPSP در مجموعه نورون‌ها عملا برداشتی در مورد سیناپس‌های تحریکی و برآیند دپلاریزاسیون های موضعی ایجاد شده در نورون‌ها را آشکار می‌کند و نمادی از کارایی سیناپس‌ها تحریکی مسیرهای آوران می‌باشد. در حالیکه PS ثبت امواج مربوط به وقوع پتانسیل عمل در مجموعه نورون‌هاست و دامنه PS تحت تأثیر دو پدیده می‌باشد: تعداد نورون هایی که به آستانه رسیده و تخلیه می‌شوند و میزان همزمانی در تخلیه نورون‌ها. در حقیقت دامنه PS هم به مکانیسم‌های سیناپسی (ورودی‌های تحریکی در ناحیه دندریتی) و هم به مکانیسم‌های پس سیناپسی (تحریک‌پذیری سلول پس سیناپسی) وابسته است. بنابراین ما پتانسیل عمل دسته جمعی (PS) را برای بررسی پاسخ سیناپسی پایه انتخاب کردیم [۹]. تفاوت معنی‌داری بین دامنه PS در تمامی شدت‌های تحریکی بین دو گروه کنترل و وابسته در مدل سندرم ترک خود به خود وجود نداشت، که نشان می‌دهد مصرف مزمن مرفین انتقال سیناپسی تحریکی پایه را متأثر نمی‌کند. این نتیجه موافق با



شکل۲- شاخص زوج پالس (PPI) برای هر دو گروه کنترل و وابسته به مرفین با فاصله بین دو پالس (IPI) ۱۰، ۲۰، ۸۰ و ۲۰۰ میلی ثانیه A) در مقاطع بدست آمده از حیوانات کنترل (n=۸۱) و وابسته (n=۶۵) که با ACSF فاقد هر گونه دارو B) کنترل (n=۱۶) و وابسته (n=۱۹) که با ACSF حاوی مرفین (با غلظت ۵ μM C) کنترل (n=۸) و وابسته (n=۱۷) که با ACSF حاوی نالوکسان (با غلظت ۱۰ μM) و D) کنترل (n=۵) و وابسته (n=۸) که با ACSF حاوی مرفین و نالوکسان مشروب شدند. داده‌ها به صورت mean ± SEM نشان داده شده‌اند. * P< 0.05، Unpaired t-test.

آزمایشات انجام شده توسط سلمان‌زاده و همکاران می‌باشد که آنها نیز عدم تأثیر مصرف مزمن مرفین بر پاسخ سیناپسی پایه گزارش کردند [۲۵].

علاوه بر این حضور مداوم مرفین (پیشگیری از بروز سندرم ترک خود به خود)، نالوکسان و یا هر دو (القای سندرم ترک از مرفین) تأثیری بر پاسخ سیناپسی پایه نداشت. اما مطالعات قبلی نشان داده است که مصرف مزمن مرفین شکل‌پذیری سیناپسی را در هیپوکمپ تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱، ۲۳، ۲۴]. به طوری‌که تشدید PS-LTP، بدون تغییرEPSP-LTP موش‌های وابسته به مرفین در آزمایشگاه ما هم نشان داده شده‌است [۲۵]. تنظیم شکل‌پذیری سیناپسی سیناپس‌های تحریکی به وسیله سیستم‌های گابائرژیک در هیپوکمپ به خوبی مشخص شده

است و غالبا پیشنهاد می‌شود که تغییرات در سطح فعالیت گابائرژیک یک فاکتورکلیدی در تغییر استعداد یک مسیرسیناپسی خاص به وقایع القاءکننده شکل‌پذیری است [۲۹].

به منظور بررسی اثر مصرف مزمن مرفین بر شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت از پدیده تحریک زوج پالس استفاده کردیم، که راه مناسبی برای ارزیابی تحریک‌پذیری مدار هیپوکمپی است. مشخص شده که سیستم گابا ئرژیک برای شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت اهمیت بحرانی دارد [۳۴].

تعدیل زوج پالس که ساده‌ترین فرم شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت می باشد معمولا در اینتروال های زمانی بین ده‌ها میلی‌ثانیه تا چندین ثانیه اتفاق می‌افتد و می‌تواند به شکل PPD و PPF ظاهر شود [۱۳]. مشخص گردیده که نورون‌های واسطه‌ای گابائرژیک به عنوان سوبسترای فیزیولوژیک مکانیسم‌های مهاری فیدبک و فید فوروارد در هیپوکمپ عمل می‌کنند [۲]. به دلیل اینکه در پدیده PPD، تضعیف پاسخ به دومین تحریک از یک زوج پالس که با فاصله خاصی به دنبال هم می‌آیند اندازه گیری می شود؛ این پدیده به عنوان یک فرایند هومئوستاتیک در نظر گرفته می‌شود که منعکس کننده وضع سیستم مهاری است که در مدار هیپوکمپ عمل می‌کند [۶].

IPSP مربوط به گیرنده $GABA_A$ که بوسیله کلر میانجیگری می‌شود به سرعت به حداکثر مقدار خود می‌رسد. از این رو اینتروال های ۱۰ و ۲۰ میلی‌ثانیه برای بررسی وقایع مهاری با واسطه گیرنده $GABA_A$ مورد استفاده قرار می‌گیرد. از طرف دیگرIPSP مربوط به گیرنده $GABA_B$ که بوسیله پتاسیم میانجیگری می‌شود به آهستگی به حداکثر خود می‌رسد و بنابراین PPI مشاهده شده در اینتر وال های طولانی تر به وقایع مهاری وساطت شده با گیرنده $GABA_B$ نسبت داده می‌شود [۲، ۶].

اما در اینتروال‌های بین این دو حد پدیده PPF دیده می‌شود. مکانیسم پیش سیناپسی PPF بوسیله مطالعات مختلف در اتصالات سیناپسی مختلف از جمله هیپوکمپ نشان داده شده است [۲۶، ۲۷]. در حقیقت بزرگتر بودن پاسخ دوم در نتیجه تسهیل رهایش میانجی می‌باشد. کلسیم آزاد باقیمانده در پایانه‌ها ناشی از تحریک اول با کلسیم وارد شده در اثر تحریک دوم جمع شده و احتمال رهایش میانجی را افزایش می‌دهد. بر اساس این فرضیه پیشنهاد شده است که هر تغییر شکل‌پذیری که احتمال رهایش میانجی را تغییر دهد، باید بزرگیPPF را متأثر کند. با افزایش احتمال رهایش میانجی میزان PPF کاهش می‌یابد. به طوری‌که تغییر PPF به دنبال القای LTP در مطالعات متعدد گزارش شده است و کاهش PPF بعد از القای LTP دال بر مکانیسم پیش سیناپسی دخیل در LTP می‌باشد [۲۶، ۲۷].

نتایج ما نشان داد که زمانی که فاصله بین دو تحریک متوالی کم باشد (۱۰ و ۲۰ میلی‌ثانیه) پدیده PPD اتفاق می‌افتد. در حالیکه درIPI ۸۰ میلی‌ثانیه شاهد PPF بودیم. در IPI ۲۰۰ میلی‌ثانیه، اگر چه تسهیل اتفاق می‌افتد اما میزان آن کمتر از زمانی است که دو تحریک با فاصله ۸۰ میلی ثانیه اعمال می‌شود.

این الگوی پاسخ در هر دو گروه کنترل و وابسته به طور مشابه اتفاق می‌افتد. اگر چه در تمامی IPIها شاخص زوج پالس در گروه وابسته بیشتر از کنترل بود، که دال بر کاهش مهار و افزایش تسهیل پاسخ زوج پالس می‌باشد، میزان تسهیل مشاهده شده فقط در ۸۰ میلی‌ثانیه در گروه وابسته به مرفین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل می‌باشد.

همانطور که قبلا اشاره شد مطالعات نشان داده‌است که سطح فعالیت سیستم گابائرژیک بر استعداد یک مسیر سیناپسی برای القای پلاستیسیتی اهمیت دارد. در این مطالعات به طور تیپیک از آنتاگونیست های گابا به منظور اثبات اثر فعالیت گیرنده گابا بر القای LTP و LTD استفاده کردند. به هر حال تا امروز یک منبع in vivo از چنین آنتاگونیست‌های گابا پیدا نشده است. برعکس چندین ماده نوروشیمیایی درون زاد می‌تواند به طور بالقوه به عنوان آنتاگونیست‌های گابا از طریق مهار رهایش گابا عمل کند. پپتیدهای اپیوئیدی و گیرنده های آنها یکی از چندین سیستم نوروترانسمیتری بالقوه هستند که قادر به عمل کردن به عنوان آنتاگونیست فیزیولوژیک گابا است [۲۹]. مطالعات آناتویک با استفاده از میکروسکوپ الکترونی حضور گیرنده‌های μ اپیوئیدی روی نورون‌های گابائرژیک هیپوکمپ را تأیید کرده است [۵]. درCA1 این گیرنده‌ها بویژه در لایه SP و با مقدار کمتر در (SLM: Stratum lacunosum-moleculare) مشاهده شده است. این گیرنده غالبا روی نورون‌های واسطه‌ای یافت می‌شود که اجسام سلول های هرمی را عصب دهی

می‌کنند و کمتر روی نورون‌های واسطه‌ای قرار دارند که دندریت‌های رأسی دیستال سلول‌های هرمی CA1 را عصب می‌دهند. فعال شدن گیرنده‌های μ، نورون‌های واسطه‌ای مهاری CA1 را هایپر پلاریزه می‌کند و با رفع مهار (Disinhibition) منجر به افزایش وقایع سیناپسی تحریکی در CA1 می‌گردد [۱۷] که در تحریکات زوج پالس خود را به صورت کاهش دپرسیون یا افزایش تسهیل نشان داده‌است.

مشخص گردیده است که در CA1 گیرنده های μ اپیوئیدی به وسیله مهار رهایش گابا هم بر گیرنده‌های گابا A و هم گابا B عمل می‌کنند و مهار یا کاهش IPSP گیرنده‌های گابا A و گابا B در همه لایه های CA1 توسط فعال شدن گیرنده‌های μ اپیوئیدی نشان داده شده‌است [۱۵، ۱۷، ۱۸]. بنابراین احتمال دارد که کاهش مهار گابائرژیک در موش‌های وابسته منجر به تضعیف ورودی‌های مهاری و در نتیجه تشدید وقایع تحریکی سیناپسی گردد، که خود را به صورت افزایش PPI در گروه وابسته هم در اینتر وال‌های ۱۰ و ۲۰ و هم ۲۰۰ میلی‌ثانیه نشان داده است، اگر چه معنی‌دار نیست. علاوه بر این می‌توان انتظار داشت که شاید اثر مرفین مزمن علاوه بر مهار رهایش گابا، در مهار اثرات میانجیگری شده با گیرنده‌های گابا B نیز باشد. این مسأله بوسیله تحقیقاتی تأیید می‌شود که نشان داده‌اند مصرف مرفین منجر به تنظیم کاهشی گیرنده‌های گابا B می‌شود [۱۹]. بنابراین تنظیم کاهشی گیرنده‌های گابا B ممکن است مسؤول افزایش شاخص زوج پالس مشاهده شده در فوصل تحریک طولانی به دنبال تیمار مزمن باشد.

در تحقیق حاضر بیشترین اثر تسهیلی مصرف مزمن مرفین بر تحریک‌پذیری در IPI ۸۰ میلی ثانیه مشاهده گردید که سبب معنی‌دار شدن تفاوت بین PPI در گروه کنترل و وابسته شده است. نشان داده شده است که پایانه‌های گلوتاماترژیک شاخه‌های جانبی شافر؛ گیرنده‌های $GABA_A$ را بیان کرده و فعال شدن آنها منجر به دپلاریزاسیون، شروع پتانسیل عمل، ورود کلسیم و افزایش رهایش گلوتامات می‌گردد [۱۲]. با توجه به نقش مهاری اپیوئیدها بر نورون‌های واسطه ای گابائرژیک می‌توان انتظار داشت که کاهش فعالیت گیرنده‌های $GABA_A$ در پایانه‌های شاخه‌های جانبی شافر منجر به کاهش رهایش میانجی گلوتامات می‌گردد و همانطور که قبلا اشاره شد کاهش رهایش میانجی همرا با افزایش PPF خواهد بود که در این مطالعه هم نشان داده شده‌است. عکس این پدیده در هنگام القای LTP اتفاق می‌افتد. به طوری‌که در اثر القای LTP که رهایش میانجی افزایش می‌یابد PPF کاهش می‌یابد.

سیستم عصبی می‌تواند در حضور مرفین بعد از مواجهه مکرر با مرفین به طور طبیعی عمل کند. به منظور تعیین اینکه اختلال در دپرسیون سیناپسی ناحیه CA1 بوسیله جلوگیری از سندرم ترک خود به خودی و در حضور مداوم مرفین برگردد، در گروه دیگری از آزمایشات شاخص زوج پالس در مقاطعی بررسی گردید که مغزها بلافاصله پس از خروج از بدن تا پایان آزمایشات درACSF حاوی مرفین ۵ میکرو مولار (غلظتی که در CSF افراد وابسته به مرفین یافت می‌شود [۳۲]) نگهداری شدند. در حضور مرفین، شاخص زوج پالس در IPI ۲۰ میلی‌ثانیه در گروه وابسته نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌دار بزرگتر بود. باید توجه داشت که در حضور مداوم مرفین در ACSF پرفیوز کننده، مقاطع هیپوکمپی موش‌های کنترل میزان دپرسیون در فواصل تحریکی کوتاه (۱۰ و ۲۰ میلی ثانیه) افزایش می‌یابد. در حالی‌که در مقاطع وابسته اگر چه همین اثر مشاهده می‌شود ولی به مراتب کمتر از گروه کنترل بود. به طوری‌که تفاوت در IPI ۲۰ میلی‌ثانیه معنی‌دار گشته که نشان دهنده نوعی تحمل به اثرات پرفوزیون مرفین در گروه وابسته می‌باشد.

در گروه دیگری از آزمایشات به منظور القای سندرم ترک از مرفین مغزها از همان ابتدا در درACSF حاوی نالوکسان، آنتاگونیست گیرنده‌های μ اپیوئیدی قرار داده شد و تا پایان آزمایشات مقاطع هیپوکمپی با این ACSF پرفیوز شدند. در این مقاطع PPD مشاهده شده در IPI های کوتاه (۱۰ و ۲۰ میلی‌ثانیه) در مقاطع کنترل و وابسته به PPF تبدیل شد که نشان دهنده کاهش بیشتر در میزان مهار گابائرژیک است. این پدیده قابل توجیه است، چرا که نشان داده شده مهار اپیوئیدی رهایش گابا بوسیله فعال شدن آدنیلیل سیکلاز در طی ترک از مرفین تشدید می‌شود [۴]. احتمالا همین پدیده سبب تشدید القای LTP در مقاطع وابسته گردید که در آزمایشات قبلی نشان داده‌بود.

به منظور بررسی اینکه نقش مرفین در افزایش تسهیل زوج پالس از طریق گیرنده‌های μ میانجیگری می‌شود، مرفین و نالوکسان به طور همزمان به ACSF اضافه شد. با توجه به

حذف تفاوت معنی‌دار شاخص زوج پالس مشاهده شده در IPI ۲۰ میلی‌ثانیه بین گروه کنترل و وابسته می‌توان نتیجه گرفت که مرفین این اثر خود در افزایش تحریک پذیری سلول‌های هرمی CA1 از طریق گیرنده μ انجام می‌دهد.

به عنوان یک بیماری مغزی، اعتیاد به صورت یک سازگاری نورونی در نظر گرفته می‌شود که عمل مدار نورونی شامل تغییرات در شکل‌پذیری سیناپسی و رهایش میانجی سیناپسی را تغییر می‌دهد. مطالعات پیشنهاد می‌کند اعتیاد یک فرم نا بجا از حافظه مرتبط با تغیرات در شکل‌پذیری سیناپسی است [۲۰]. علاوه بر این اعتیاد به مرفین می‌تواند الگوی ارتباطات سیناپسی را متأثر نماید [۳۰]. اگر مواجهه مزمن با مرفین سبب تشکیل یا حذف سیناپسی همراه با شکل‌گیری مجدد ساختار دندریت‌ها یا آکسون‌ها گردد، آنگاه شکل‌پذیری نورونی هم تغییر می‌یابد و این تغییرات در شکل‌پذیری نورونی سبب سازگاری‌های رفتاری در فرد معتاد می‌گردد. در این مقاله ما مدرک تجربی مستقیمی فراهم کردیم که مواجهه مزمن با مرفین به طور معنی‌داری شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت در هیپوکمپ را متأثر می‌کند. این نتایج نشان می‌دهد که مصرف مزمن مرفین سبب نه فقط تغییرات در شکل‌پذیری سیناپسی طولانی مدت مانند LTP بلکه همچنین در شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت می‌شود. اگر چه هیپوکمپ به عنوان جزء اصلی مسیر پاداش در نظر گرفته نمی‌شود؛ نورون‌های medium spiny هسته آکومبنس، آوران‌های گلوتاماترژیک از هیپوکمپ دریافت می‌کنند و اثر تحریکی این ورودی‌ها ممکن است برای تعدیل خروجی سیناپسی این سلول‌ها بحرانی باشد [۲۸]. بنابراین تغییرات در خروجی تحریکی از هیپوکمپ در فرم شکل‌پذیری تغییر یافته ممکن است در اختلالات القا شده با مرفین در سیستم عصبی نقش بازی کند. اما با توجه به اینکه اثر مواجهه مزمن با مرفین پیچیده بوده و نه فقط سیستم گابائرژیک بلکه کل سیستم عصبی مرکزی و محیطی را متأثر می‌کند، مطالعات بیشتر برای آشکار کردن مکانیسم مسؤول این فرآیند پیچیده مورد نیاز است.

اما به طور خلاصه نتایج این تحقیق همراه با مطالعات دیگران پیشنهاد می‌کند که مصرف مزمن مرفین سبب افزایش تحریک‌پذیری در مدار هیپوکمپ می گردد. که در این تحقیق به صورت افزایش تسهیل یا کاهش مهار زوج پالس نشان داده شده‌است. احتمالا تسهیل در رهایش میانجی عصبی تحریکی و تغییر در انتقال عصبی مهاری در اختلال شکل‌پذیری کوتاه مدت در هیپوکمپ حیوانات وابسته شرکت می‌کند.

References

[1] Bao G, Kang L, Li H, Li Y, Xia P, Ma L, Pei G, Morphine and heroin differentially modulate in vivo hippocampal LTP in opioid-dependent rat. ***Neuropharmacology*** 32 (2007) 1738-1749.

[2] Bliss T, Collingridge G, Morris R, Synaptic plasticity in the hippocampus. In: Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O Keefe J, editors. ***The Hippocamus Book***. New York: Oxford, 2007, p. 343-444.

[3] Bonci A, Williams JT, Increased probability of GABA release during withdrawal from morphine. ***J Neurosci*** 17(1997) 796-803.

[4] Cheing B, Willliams JT, Increased opioid inhibition of GABA release in nucleus accumbens during morphine withdrawal. ***J Neurosci*** 18 (1998) 17033-17039.

[5] Dark CT, Milner TA, Mu opioid receptors are in somatodendritic and axonal compartments of GABAergic neurons in rat hippocampal formation. ***Brain Res*** 849 (1999) 203-215.

[6] Davies CH, Davies SN, Collingridge GL, Paired-pulse depression of monosynaptic GABA-mediated inhibitory postsynaptic responses in rat hippocampus. ***J Physiol*** 242 (1990) 513-531.

[7] Debanne D, Guerineau NC, Gahwiler BH, Thompson SM, Paired-pulse facilitation and depression at unitary synapses in rat hippocampus: quantal fluctuation affect subsequent release. ***J Physiol*** 491 (1996) 163-176.

[8] Eisch A, Barrot M, Schad C, Self D, Nestler EJ, Opiates inhibit neurogenesis in adult rat hippocampus. ***Proc Natl Acad Sci USA*** 97 (2002) 7579-7584.

[9] Fathollahi Y, Motamedi F, Semnanian S, Zardoshti M, Examination of persistent effects of repeated administration of pentylenetetrazol on rat hippocampal CA1: evidence from *in vitro* study on hippocampal slices. ***Brain Res*** 758 (1997) 92-98.

[10] Goda Y, Stevens C, Synaptic plasticity: The basis of particular types of learning. ***Curr Biol*** 6 (1996) 375-378.

[11] Hyman S, Addiction: A disease of learning and memory. ***Am J Psychiatry*** 162 (2005) 1414-1422.

[12] Jang IS, Ito Y, Akaike N, Feed-forward facilitation of glutamate release by presynaptic $GABA_A$ receptors**.** ***Neuroscience***135 (2005) 737-748.

[13] Kravchenko MO, Moskalyuk AO, Fedulova SA, Veselovsky NS, Calcium-dependent changes of paired-pulse modulation at single GABAergic synapses. ***Neuroscience lett*** 395 (2006) 133-137.

[14] Laviolett SR, Gallegos RA, Henriksen SJ, Kooy D van der, Opiate state controls bi-directional reward signaling via GABAA receptors in the ventral tegmental area. ***Nat Neurosci*** 7 (2004) 160- 169.

[15] Lucipa CR, Dunwiddie TV, Differential effects of mu- and delta-receptor selective opioid agonists on feedforward and feedback GABAergic inhibition in hippocampal brain slices. ***Synapse*** 8 (1991) 237-248.

[16] Martin SJ, Morris RGM, New life in an old idea: The synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. ***Hippocampus*** 12 (2002) 609-636.

[17] McQuiston AR, Effect of μ-Opioid receptor modulation on $GABA_B$ receptor synaptic function in hippocampal CA1. ***J Neurophysiol*** 97 (2007) 2301-2311.

[18] McQuiston AR**,** Saggau P, Mu opioid receptors facilitate the propagation of excitatory activity in rat hippocampal area CA1 by disinhibition of all anatomical layers. **J *Neurophysiol*** 90 (2003) 1936-1948.

[19] Narita M, Shibasaki M, Mizuo K, Suzuki T, Changes in G-protein activity mediated through the stimulation of dopamine and GABA(B) receptors in the mesolimbic dopaminergic system of morphine-sensitized mice. ***Addict Biol*** 8 (2003) 319-325.

[20] Nestler EJ, Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. ***Nat Rev Neurosci*** 2 (2001) 119-128.

[21] Nestler EJ, Historical review: Molecular and cellular mechanisms of opiate and cocaine addiction. ***Trends Pharmacol sci*** 25 (2004) 210-218.

[22] Nestler EJ, Under siege: The brain on opiates. ***Neuron*** 16 (1996) 897-900.

[23] Pu L, Bao G, Xu N, MA L, Pei G, Hippocampal long-term potentiation is reduced by chronic opiate treatment and can be restored by re-exposure to opiates. ***J Neurosci*** 22 (2002) 1914-1921.

[24] Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnanian S, Shafizadeh M, Dependence on morphine impairs the induction of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampal slices. ***Brain Res*** 965 (2003) 108-113.

[25] Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnanian S, Shafizadeh M, Long-term potentiation as an electrophysiological assay for morphine dependence and withdrawal in rats: an *in vitro* study. ***J Neurosci Methods*** 124 (2003) 189-

196.

[26] Santschi LA, Stanton PK, A paired-pulse facilitation analysis of long-term synaptic depression at excitatory synapses in rat hippocampal CA1 and CA3 regions. ***Brain Res*** 962 (2003) 78-91.

[27] Sokolov MV, Rossokhin AV, Behnisch T, Reymann KG, Voronin LL, Interaction between paired-pulse facilitation and long-term potentiation of minimal excitatory postsynaptic potentials in rat hippocampal slices: a path-clamp study. ***Neuroscience*** 65 (1998) 1-13.

[28] Thompson AM, Swant J, Gosnell BA, Wagner JJ, Modulation of long-term potentiation in the rat hippocampus folloing cocaine self-administration. ***Neuroscience*** 127 (2004) 177-185.

[29] Wagner J, Etemad L, Thompson A, Opioid-mediated facilitation of long- term depression in rat hippocampus. ***J Pharmacol Exp Ther*** 296 (2001) 776-781.

[30] Wang H, Wei H, Chen B, Zhou Y, Chronic morphine exposure impairs short-term synaptic depression of geniculo-cortical visual pathway *in vivo*. ***Neurosclett*** 410 (2006) 228-233.

[31] Williams J, MacDonald J, Manzoni O, Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. ***Physiol Rev*** 81 (2001) 299-343.

[32] Wimpey TL, Opheim KE, Chavkin C, Effects of chronic morphine administration on the mu and delta opioid responses in the CA1 region of the rat hippocampus. ***J Pharmacol Exp Ther 251*** (1989) 405-411.

[33] Zeng X, Tietz E, Depression of early and late monosynaptic inhibitory postsynaptic potential in hippocampal CA1 neuron following prolonged benzodiazepine administration. Role of a reduction in Cl driving force ***Synapse*** 25 (1997) 125-136.

[34] Zhang LH, Xu L, Xu TL, Glycine receptor activation regulates short-term plasticity in CA1 area of hippocampal slices of rats. ***Biochem Biophys Res Commun*** 344 (2006) 721-726.