

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۳ شماره ۵ آذر و دی ۱۳۹۰ صفحات ۸۵-۹۰

اثر تزریق محیطی و داخل بطن مغزی ویتامین B6 بر روی اثر تقویت‌کننده مثبت مورفین در مدل رجحان مکان شرطی (CPP) در موش صحرایی نر

سعید عباسی ملکی: گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، ارومیه، ایران، نویسنده رابط:

E-mail : dr.s.a.maleki@gmail.com

محمد نوری: گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
هادی اسکندری: گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، ارومیه، ایران
نوید عباسی ملکی: گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران
سیامک چراغیان: گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، ارومیه، ایران

دریافت: ۸۹/۶/۸ پذیرش: ۹۰/۴/۱

چکیده

زمینه و اهداف: مطالعات نشان می‌دهند که سیستم گابارژیک موجود در ناحیه تگمستوم شکمی (VTA) و هسته آکومبیس (NAC) نقشی اساسی در اثرات تقویت‌کننده اپیوئیدها ایفاء می‌کند. از طرف دیگر، ویتامین B6 در تشکیل ناقل‌های عصبی مختلفی چون گابا نقش دارد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر محیطی و داخل بطن مغزی ویتامین B6 بر اثر تقویت‌کننده مثبت مورفین در موش صحرایی نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۹۰ سررت نر به گروه‌های تحت درمان و کنترل ۶ تایی تقسیم شدند (۶×۱۵). در این آزمایش تجربی از روش ۶ روزه متوالی؛ شامل سه مرحله جداگانه پیش شرطی، شرطی شدن و بعد شرطی شدن استفاده گردید. جهت بررسی داخل بطن مغزی، کانول راهنمای استریلی با مختصات استریوتاکسی در بطن چپ مغز قرار داده شد. بعد شرطی‌سازی با مورفین (۵ mg/kg, ip)، در روز ششم دوزهای مختلف ویتامین B6 به شکل داخل صفاقی (۵ mg/kg، ۱۵ و ۴۰) و داخل بطن مغزی (۵ μg/rat و ۱۰) تزریق گردید. گروه‌های کنترل بجای داروهای مذکور نرمال سالین را دریافت نمودند.

یافته‌ها: تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف مورفین سبب القاء CPP گردید ($P < 0.001$). تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف ویتامین B6 به تنهایی CPP یا CPA معنی‌داری ایجاد ننمود. ولی این ویتامین در مصرف توام با مورفین سبب القاء CPA شده ($P < 0.05$) و این اثر در تزریق درون بطن مغزی به صورت وابسته به دوز تقویت گردید (به ترتیب $P < 0.05$ و $P < 0.01$).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر احتمالاً ویتامین B6 با اثر بر روی نورونهای گابارژیک موجود در VTA باعث کاهش آزادسازی دوپامین در NAC و بدنبال آن کاهش اثر تقویت‌کننده مورفین شده و بنابراین می‌توان از آن به عنوان کاندیدایی جهت کنترل یا درمان اشتیاق و عود علایم ناشی از مورفین در افراد وابسته به آن استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: ویتامین B6، مورفین، گابا، رجحان مکان شرطی، تفر مکان شرطی

مقدمه

اعتیاد دارویی اختلال مزمن و راجعه‌ای بوده که با رفتار وسواسی جهت مصرف و جستجوی دارو خود را نشان داده و یکی از مهمترین مشکلات سلامتی در سرتاسر جهان می‌باشد. امروزه این مسئله علاوه بر زیانهای جسمی خطرناک، مشکلات

عبدیه اجتماعی، اقتصادی و هدررفتن کلان سرمایه‌های یک کشور را به همراه دارد (۱-۲). اپیوئیدها به طور بالینی جهت کاهش درد و درمان اسهال مزمن بکار می‌روند؛ با این وجود تجویز مکرر آنها سبب ایجاد تاولرانس، اثر تقویت‌کننده مثبت

استرس حمل و نقل در نتایج آزمایش و عادت، موش‌ها به مدت ۷۲ ساعت در محیط آزمایشگاه نگهداری شده و به استثناء زمان آزمایشات دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. از هر حیوان فقط یک‌بار استفاده شده و تمام آزمایشات در دوره ۱۲ ساعته روشنایی صورت گرفت. در این مطالعه، اصول اخلاقی مطابق قوانین حمایت و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی و بیانیه‌های دانشگاه علوم پزشکی ارومیه رعایت گردیدند (۱۱).

در این تحقیق از سولفات مورفین (شرکت تماد، ایران) و پیریدوکسین هیدروکلراید (شرکت داروسازی داروپخش، ایران) استفاده گردید. هر دو دارو در نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شده و به شکل داخل صفاقی (با حجم تزریق ۱ ml/kg) و داخل بطن مغزی (با حجم تزریق ۰/۵ µl/rat) تزریق شدند.

جعبه مخصوص CPP مورد استفاده در این تحقیق جعبه Plexiglas و دارای سه قسمت جداگانه به ابعاد ۸۸ × ۳۶ × ۳۴ سانتی متر بود. جعبه شامل دو قسمت مساوی و اصلی به ابعاد ۳۴ × ۳۶ × ۳۹ سانتی متر بود که یکی از آن‌ها دیواره ای خاکستری رنگ و کف خاکستری صاف و بخش دیگر دیواره ای با پوشش نوارهای سیاه و سفید (به پهنای ۲ سانتی متر) و کف سفیدرنگ صاف داشت. قسمت سوم جعبه از یک سکوی سفید با دیواره‌های سفیدرنگ به ابعاد ۳۴ × ۳۶ × ۱۰ سانتی متر تشکیل شده و این سکو ۲ سانتی متر بالاتر از بخش‌های دیگر بود. صفحه کشویی از دو بخش اصلی جدا بود. در طی مرحله شرطی شدن بخش‌های جعبه به وسیله این صفحات از هم جدا شدند (۱۲).

در این مطالعه از آزمایش ۶ روزه متوالی و به روش Unbiased استفاده گردید. مراحل کار شامل ۳ مرحله به ترتیب زیر بود:

مرحله پیش شرطی Preconditioning Phase: در نخستین روز آزمایش، بعد از برداشتن صفحات کشویی، هر یک از موش‌ها به طور جداگانه به مدت ۱۰ دقیقه در جعبه قرار گرفته و به آن‌ها اجازه داده شد که به طور آزادانه به هر سه قسمت جعبه حرکت کنند و مدت زمان سپری شده برای هر قسمت از جعبه توسط کورنومتر (برحسب ثانیه) ثبت شد، تا بخش کم‌تر ترجیحی جعبه برای هر موش مشخص شود.

مرحله شرطی شدن Conditioning Phase: این مرحله از ۴ روز متوالی تشکیل شده است. در این مرحله و طی روزهای دوم و چهارم موش‌ها در بخش کم‌تر ترجیحی مورفین گرفته (۵mg/kg) و به مدت ۳۰ دقیقه در آن‌جا حبس شدند، در خلال روزهای سوم و پنجم، موش‌ها در بخش بیشتر ترجیحی نرمال سالین را (۱ml/kg) اخذ نموده و به مدت ۳۰ دقیقه در آن‌جا حبس شدند.

مرحله پس از شرطی شدن Post conditioning Phase: در این مرحله (روز ششم) موش‌ها به صورت تصادفی به گروه‌های تحت درمان و کنترل ۶ تایی تقسیم‌بندی شدند. قبل از مطالعه اثر ویتامین B6، سه گروه از موش‌ها دوزهای مختلف مورفین (۵، ۲/۵ و ۱۰ mg/kg) را به شکل داخل صفاقی جهت القاء ترجیح مکان شرطی دریافت نمودند.

(پاداش) (Positive Reinforcement (Reward))، وابستگی فیزیکی و بدنبال قطع مصرف باعث سندرم محرومیت فیزیکی، اشتیاق به دارو (Craving) و عود علائم (Relapse) می‌شوند (۳).

مورفین از جمله قوی‌ترین داروهای ضد درد اویپوئیدی و آلکالوئید اصلی تریاک بوده و در مقایسه با سایر مواد، از خاصیت اعتیادآوری بالایی برخوردار می‌باشد (۴). تحقیقات بر روی حیوانات پیشنهاد می‌کنند که اویپوئیدها اثر تقویت کننده مثبت (پاداش) خود را با فعال نمودن مسیر دوپامینی مزولیمبیک اعمال می‌کنند. اویپوئیدها با افزایش فعالیت نورونهای دوپامینی ناحیه تگمنتوم شکمی Ventral Tegmental Area, VTA سبب افزایش آزادسازی دوپامین در هسته آکومبنس Nucleus Accumbens, NAC می‌شوند. از سوئی نشان داده‌اند که مصرف این دسته باعث کاهش فعالیت گیرنده‌های گاباآرژیک (GABAergic) شده و این مسئله سبب افزایش اشتیاق به مصرف اویپوئیدها می‌شود. بنابراین داروهایی که بتوانند تون گابا را افزایش دهند از نظر درمان اعتیاد به اویپوئیدها با ارزش می‌باشند (۵-۶).

ویتامین B6 (پیریدوکسین) یا به عبارتی فرم فعال آن یعنی پیریدوکسین ۵-فسفات Pyridoxal-5-Phosphate, PLP در فرآیندهای بیوشیمیایی و تشکیل ناقل‌های عصبی مختلفی چون گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) γ-aminobutyric acid, GABA نقش داشته و کمبود آن با علائمی چون تشنج، منگی و غیره خود را نشان می‌دهد (۷-۹). گابا از جمله مهمترین ناقل‌های عصبی مهاری مغز بوده و اثرات مهاری آن در مغز توسط دو دسته گیرنده (بنام $GABA_A$ و $GABA_B$) وساطت می‌شود (۹). امروزه در بین مدل‌های حیوانی اعتیاد دارویی از رجحان مکان شرطی به طور گسترده‌ای به دلیل سادگی، امکان آزمایش گروه‌های زیاد در حداقل زمان، ارتباط آن با یادگیری و حافظه و مدلی از پاداش دارویی استفاده می‌شود (۱۰). با توجه به این که در مطالعات قبلی اثر سایر داروهای گاباآرژیک (مثل موسسیمول و باکلوفن) بر (Conditioned Place Preference, CPP) ناشی از مورفین صورت گرفته و تاکنون اثر ویتامین B6 به تنهایی و یا توام با مورفین بررسی نشده است. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر محیطی (داخل صفاقی) و مرکزی (داخل بطن مغزی) Intraperitoneal, ip و مغزی Intracerebroventricular, icv ویتامین B6 بر اثر تقویت-کننده مثبت مورفین در مدل رجحان مکان شرطی در موش صحرایی نر می‌باشد.

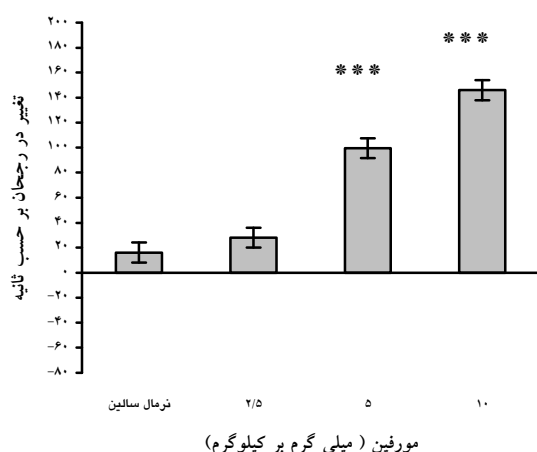
مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از ۹۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. در هر قفس ۴ سر موش قرار داده شد. موش‌ها در طی آزمایش در دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ۸ صبح و تاریکی ۸ شب) و محیطی با رطوبت تحت کنترل و دمای 22 ± 0.5 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. قبل از تحقیق جهت جلوگیری از تأثیر

داروها بر اساس آزمون آنوا (ANOVA) یک طرفه و در صورت وجود تفاوت معنی دار از طریق تست تعقیبی Tukey مطالعه شده و از برنامه آماری SPSS 12 و Excel 2003 به ترتیب جهت تجزیه و تحلیل و ترسیم نمودارها استفاده گردید و در هر مورد $P < 0.05$ معنی دار تلقی شد (۱۶).

یافته‌ها

تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف مورفین (۵ و ۱۰ mg/kg) در مقایسه با گروه کنترل به صورت وابسته به دوز و معنی داری سبب القاء CPP گردید ($P < 0.001$) (نمودار ۱).



نمودار ۱: القاء رجحان مکان شرطی ناشی از تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف مورفین در موش صحرانی. هر نمودار به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ برای ۶ سر موش صحرانی ارائه شده است. *** $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) می باشد.

با توجه به این نتایج، از دوز ۵ mg/kg مورفین جهت شرطی سازی و ادامه بررسی اثر داروهای بعدی استفاده گردید. تزریق داخل صفاقی نرمال سالین در گروه‌های کنترل، ترجیح یا تنفر مکان معنی داری را ایجاد نمود. تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف ویتامین B6 به تنهایی (بدون حضور مورفین) و در مقایسه با گروه کنترل سبب القاء ترجیح یا تنفر مکان شرطی معنی داری نشده (نمودار ۲)؛ ولی تجویز این ویتامین به همراه مورفین به صورت وابسته به دوز باعث القاء CPA یا به عبارتی بلوک CPP ناشی از مورفین گردید ($P < 0.05$) (نمودار ۳).

در سه گروه دیگر دوزهای مختلف ویتامین B6 (۵، ۱۵ و ۴۰) به تنهایی (بدون حضور مورفین) و به شکل داخل صفاقی طی مرحله شرطی سازی و بعد شرطی شدن جهت تعیین القاء رجحان مکان شرطی و یا تنفر مکان شرطی ناشی از آن تزریق گردید. سه گروه دیگر نیز بعد شرطی سازی با مورفین، دوزهای مشابه ویتامین B6 را در مرحله بعد شرطی شدن (به شکل داخل صفاقی) دریافت نمودند. به دو گروه آخر نیز دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم بر موش این ویتامین به شکل داخل بطن مغزی تزریق گردید. گروه‌های کنترل به جای داروهای مذکور نرمال سالین را با دوز ۱ ml/kg دریافت نمودند.

در مرحله بعد شرطی شدن نیز بعد از برداشتن صفحات کشویی و ۱۰ دقیقه اجازه حرکت آزادانه به حیوان، مدت زمان سپری شده در هر بخش جعبه ثبت گردید (۱۴-۱۳).

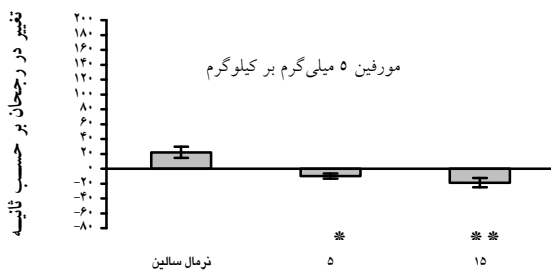
موش‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از زایلازین هیدروکلراید (۵ mg/kg) ساخت شرکت داروسازی Alfasan (هلند) و کتامین هیدروکلراید (۸۰ mg/kg) ساخت شرکت داروسازی Trittau، آلمان (بی‌هوش شده و بعد ضد عفونی و آماده سازی در دستگاه استریو تاکسی (ساخت شرکت Stoelting U.S.A) قرار داده شدند. برشی به طول ۲ سانتی متر در خط وسط از زاویه پایینی چشم‌ها به طرف خلف سر حیوان داده شد.

اطراف نقطه برگما تمیز و خشک شده و بعد با توجه به اطلس پاکسینوس و واتسون (Paxinos & Watson) کانولی از جنس فولاد زنگ نزن (سرسرنگ شماره ۲۲) و به طول ۱۲ میلی متر در بطن جانبی مغز (با مختصات ۱ میلی متر پشت نقطه برگما، ۱/۶ میلی متر به سمت چپ از خط وسط و ۴/۵ میلی متر پایین تر از سطح جمجمه) در حالتی که جمجمه در حالت مسطح بود، قرار داده شد. جهت تحکیم کانول در محل بلافاصله ۳ عدد پیچ فولاد زنگ نزن در اطراف کانول جاگذاری شده و اطراف آنها با سیمان دندان پزشکی (آکریل) پوشانده شد. بعد خشک شدن و سفت شدن سیمان، جهت جلوگیری از احتمال بسته شدن مجرای کانول توسط ترشحات مغزی و یا لخته خونی، استایلیتی (Stylet) از جنس فولاد زنگ نزن در طی ریکاورری و بین تزریقات داروها استفاده شد. بعد برش را بخیه زده و از آنتی بیوتیک‌های موضعی در اطراف زخم استفاده شد.

موش‌ها حداقل به مدت یک هفته، جهت برگشت به حالت اولیه و رفع تاثیر عمل و داروی جراحی نگهداری شدند. دارو توسط سرنگ هاملتون ۵ میکرولیتری همراه با لوله پلی اتیلنی و یک کانال تزریق از جنس فولاد زنگ نزن (سرسرنگ دندان پزشکی شماره ۳۰)، که در زمان تزریق به میزان یک میلی لیتر پایین تر از کانال راهنما قرار می گرفت، تزریق شد (۱۷-۱۵).

تغییر در رجحان از تفاضل زمان‌های سپری شده روز آزمایش (در بخشی که حیوان دارو دریافت می نمود) و زمانی که حیوان در فاز پیش شرطی در این بخش سپری نمود، نشان داده شد و بعد محاسبه به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ بیان گردید.

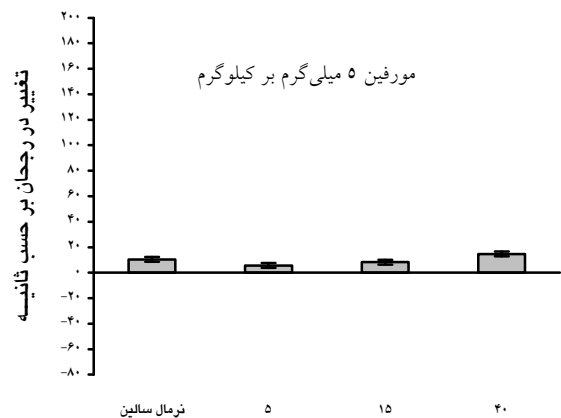
مزولیمیکی که از ناحیه تگمتوم شکمی شروع شده و به نواحی مختلفی از مغز قدامی بویژه هسته آکومبوس منشعب می‌شود؛ به عنوان مسیر پاداش شناخته شده است (۱۹).



ویتامین ب ۶ (میکروگرم بر موش)

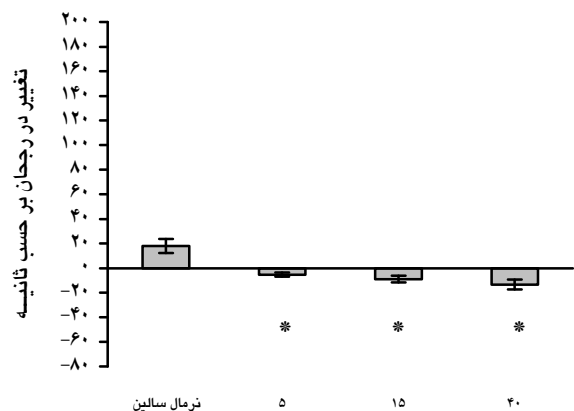
نمودار ۴: اثر تزریق درون بطن مغزی دوزهای مختلف ویتامین ب ۶ بر روی CPP ناشی از مورفین در موش صحرایی. هر نمودار به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ برای ۶ سر موش صحرایی ارائه شده است. * و ** به ترتیب $P < 0.05$ و $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) می‌باشند.

بررسی‌ها حاکی از این است که مورفین با مهار نورونهای بینابینی گابارژیک ناحیه تگمتوم شکمی، سبب کاهش آزاد سازی گابا و بدنبال آن برداشت اثر مهاری نورونهای بینابینی ناحیه تگمتوم شکمی و افزایش آزاد سازی دوپامین در هسته آکومبوس می‌شود (۳). به عبارت دیگر افزایش ترانسمیशन دوپامین در هسته آکومبوس نقش مهمی در اثر تقویت کننده مثبت و عود علایم ناشی از مورفین ایفاء می‌کند. از سوئی مطالعات نشان داده اند که گابا سبب مهار آزاد سازی دوپامین در هسته آکومبوس می‌شود (۲۰). بطوریکه در همین راستا zarrindast و همکاران نیز در مطالعات خود نشان دادند که هر دو آگونیست گیرنده‌های $GABA_A$ و $GABA_B$ با مکانیسم کاهش فعالیت و آزاد سازی دوپامین سبب القاء CPA در موشهای وابسته به مورفین می‌شوند (۲۱-۲۲). همچنین با توجه به برخی یافته‌ها اختلالات اضطرابی، تشنجات و اعتیاد همگی با کاهش فعالیت گابا در مغز در ارتباط می‌باشند؛ بطوریکه اخیراً کشف نموده‌اند که برخی از داروهای گابا ارژیک مثل گاما وینیل گابا (γ -vinyl GABA, GVG) در درمان و پیشگیری اعتیاد داروئی موثر بوده و همگی دال بر ارتباط مهم سیستم اویپوئیدرژیک و گابارژیک با یکدیگر می‌باشند (۲۳). ویتامین B6 (پیریدوکسین) از جمله ویتامین‌های محلول در آب و عضوی از گروه ویتامین‌های ب کمپلکس می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که غلظت گابا در مغز توسط PLP و آنزیمهای وابسته تنظیم می‌شود (۲۴ و ۲۷). بطوریکه از سالها پیش مشخص شده که میزان گابا در مغز هایی با کمبود ویتامین B6 کاهش یافته است (۲۵). در مطالعه دیگری نیز دوزهای مکمل این ویتامین با مکانیسم گابارژیک (افزایش سترز گابا) سبب کنترل حملات تشنجی گردیده است (۲۶). درست عکس این حالت، استفاده از



ویتامین ب ۶ (میلی گرم بر کیلوگرم)

نمودار ۲: القاء رجحان مکان شرطی ناشی از تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف ویتامین ب ۶ به تنهایی در موش صحرایی. هر نمودار به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ برای ۶ سر موش صحرایی در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) ارائه شده است.



ویتامین ب ۶ میلی گرم بر کیلوگرم

نمودار ۳: اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف ویتامین ب ۶ بر روی CPP ناشی از مورفین در موش صحرایی. هر نمودار به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ برای ۶ سر موش صحرایی ارائه شده است. * و ** به ترتیب $P < 0.05$ و $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) می‌باشند.

تزریق داخل بطن مغزی دوزهای مختلف ویتامین B6 نیز در مقایسه با گروه کنترل به صورت وابسته به دوز و معنی داری سبب القاء CPA گردید ($P < 0.05$ و $P < 0.01$) (نمودار ۴).

بحث

همسو با تحقیقات دیگر نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تزریق داخل صفاقی مورفین سبب القاء رجحان مکان شرطی (CPP) می‌شود (۱۶ و ۱۸). انشعابات سیستم دوپامینرژیک

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر و پیروی از فرضیه نقش سیستم گابارژیکی در اثرات تقویت‌کننده اویپوئیدها، ویتامین B6 احتمالاً با افزایش سستز گابا در مغز سبب کاهش آزادسازی دوپامین در هسته آکومبس شده بنابراین می‌توان از آن به عنوان کاندیدایی جهت کنترل یا درمان اشتیاق و عود علائم ناشی از قطع مصرف مورفین در افراد وابسته به آن استفاده نمود. بنابراین در مطالعات بعدی مقایسه کارایی (Efficacy) و قدرت (Potency) سایر داروهای گابا-ارژیک با ویتامین B6 از نقطه نظر تاثیر آنها بر اثر تقویت‌کننده مثبت ناشی از مورفین و حتی تاثیر این ویتامین بر اثرات پاداشی سایر اویپوئیدها (بویژه هروئین) پیشنهاد می‌گردد.

آنتاگونیست‌های ویتامین B6 (مثل ایزونیاژید) سبب کاهش فعالیت آنزیمهای دخیل در سستز گابا شده و بدنبال آن باعث کاهش تولید گابا و بروز علائمی چون حملات و منگی می‌شوند (۲۷). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ویتامین B6 به تنهایی در مقایسه با گروه کنترل سبب القاء CPP یا CPA معنی داری نمی‌گردد. ولی این ویتامین در مصرف توام با مورفین احتمالاً با فعالیت گابارژیک به صورت وابسته به دوز سبب القاء CPA می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که ویتامین B6 در حدود ۶۰ درصد به پروتئین‌های پلاسمایی (آلبومین) متصل شده و تنها فرم آزاد آن از سد مغزی خونی عبور می‌کند (۲۸). بنابراین در این مطالعه نیز احتمالاً CPA ناشی از این ویتامین بدنبال تزریق درون بطن مغزی، بدلیل پشت سر گذاشتن سد مغزی خونی تقویت می‌گردد.

References

1. Cami J, Farré M. Drug addiction. *N Engl J Med* 2003; **349**(10): 975-986.
2. Lakhanpal P, Agnihotri AK. Drug Abuse an International Problem: A short review with special reference to African Continent. *India J Forensic Med & Toxicology* 2007; **1**(1): 1-10.
3. XI ZX, Stein EA. GABAergic Mechanisms of opiate reinforcement. *Alcohol & Alcoholism* 2002; **37**(5): 485-494.
4. Tripathi KD. *Essentials of medical pharmacology*. 5th ed. New Delhi, JPBMP, 2003; PP: 419-434.
5. Koob GF, Bloom FE. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Sci* 1992; **242**: 715-723.
6. Kalivas PW, Volkow ND. The Neural Basis of Addiction: A Pathology of Motivation and Choice. *Am J Psychiatry* 2005; **162**(8): 1403-1413.
7. Wrenger C, Eschbach ML, Muller IB, Warnecke D, Walter RD. Analysis of the Vitamin B6 Biosynthesis Pathway in the Human Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*. *J Biol Chem* 2005; **280**(7): 5242-5248.
8. Wylie E. *The treatment of epilepsy*. 3rd ed. Philadelphia, Lippincot&Wilkins, 2001, PP: 995-996.
9. Brazhnik E, Shah F, Tepper JM. GABAergic Afferents Activate Both GABAA and GABAB Receptors in Mouse Substantia Nigra Dopaminergic Neurons In Vivo. *J Neurosci* 2008; **28**(41): 10386-10398.
10. Schramm-Sapota NL. Drug Addiction: What Can Animal Models Teach Us? *Preclin* 2004; **6**(2): 416-420.
11. Institute for Laboratory Animal Research. Guide for the Care and use of Laboratory animals, 1996. Available from: www.nap.edu/readingroom/books/labrats (Accessed May 2011).
12. Subhan F, Deslantes PN, Pache DM, Sewell RD. Do antidepressants affect motivation in conditioned place preference? *Eur J Pharmacol* 2000; **408**: 257-263.
13. Samini M, Kardan A, Ejtemaei Mehr SH. Alpha-2 agonists decrease expression of morphine induced conditioned place preference. *Pharm Biochem Behav* 2008; **88**(4): 403-406.
14. Maleki SA, Samin M, Babapour V. [The effect of concurrent injection of amantadine and paroxetine on positive reinforcing effect of morphine in conditioned place preference (CPP) model in mice]. *Med J Zan Uni Med Sc* 2008; **15**(59): 35-44 (Persian).
15. Aujla H, Benineger RJ. Intra-accumbens protein kinase C inhibitor NPC 15437 blocks amphetamine – produced conditioned place preference in rats. *Behav Brain Res* 2003; **147**: 41-48.
16. Maleki SA, Samin M, Babapour V, Ejtemaei Mehr SH, Cheraghiyan S, Khayat Nouri MH. Potentiation of morphine-induced conditioned place preference with concurrent use of amantadine and flvoxamine by the intraperitoneal and intracerebroventricular injection in rat. *Behav Brain Res* 2008; **190**: 189-192.
17. Jafari MR, Golmohammadi S, Ghiasvand F. [Antinociceptive effect of peripheral and intracerebroventricular administration of JWH133 in mice]. *Med J Zan Uni Med Sc* 2007; **14**(57): 9-14 (Persian).
18. Zarrindast MR, Bahreini T, Adl M. Effects of imipramine on the expression and acquisition of morphine- induced conditioned place preference in mice. *Pharm Biochem Behav* 2002; **73**: 941-949.
19. Bardo MT. Neuropharmacological mechanism of drug reward: Beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Crit Rev Neurobiol* 1998; **12**: 37-67.
20. Wise RA. Drug-activation of brain reward pathways. *Drug Alcohol Depend* 1998; **51**: 13-22.
21. Zarrindast MR, Ahmadi S, Haeri-Rohani A, Rezayof A, Jafari MR, Jafari-Sabet M. GABA(A) receptors in the basolateral amygdala are involved in mediating morphine reward. *Brain Res* 2004; **1006**: 49-58.
22. Zarrindast MR, Massoudi R, Sepehri H, Rezayof A. Involvement of GABAB receptors of the dorsal hippocampus on the acquisition and expression of

- morphine-induced place preference in rats. *Physiol Behav* 2006; **87**: 31-38.
23. Brodie JD, Figueroa E, Laska EM, Dewey SL. Safety and Efficacy of -Vinyl GABA (GVG) for the Treatment of Methamphetamine and/or Cocaine Addiction. *Synapse* 2005; **55**: 122-125.
 24. Shakerhoseini R, Azadbakht L. [Vitamins]. 1st ed. Tehran, Gerayesh Pub, 2005; PP: 127-137 (Persian).
 25. Pilachowski J, Guilarte TR. Postnatal development and GABA allosteric modulation of benzodiazepine receptor binding in the vitamin B-6 deficient rat brain. *Neurochem Res* 1993; **18**(12): 1249-1254.
 26. Temmerman W, Dhondt A, Vandewoude K. Acute isoniazid intoxication: Seizures, acidosis, and coma. *Acta Clin Belg* 1999; **54**(4): 211-216.
 27. Roy A. Psychiatric emergencies. In: *Comprehensive textbook of psychiatry*. (Kaplan HI & Sadock BJ, ed). 6th ed. Baltimore; Williams & Wilkins, 1995; PP: 1739-1752.
 28. Huei-Shyong W, Meng-Fai K. Vitamin B6 Related Epilepsy during Childhood. *Chang Gung Med J* 2007; **30**(5): 396-401.