

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.20.011 [http://www.crter.org]

张景丹, 李文强, 宋秀花, 娄百玉, 石玉中, 李毅. 构建吗啡依赖条件性位置厌恶模型大鼠伏隔核壳区相关基因的表达[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(20):3687-3691.

构建吗啡依赖条件性位置厌恶模型大鼠伏隔核壳区相关基因的表达*★

张景丹¹, 李文强¹, 宋秀花¹, 娄百玉¹, 石玉中¹, 李毅²

1 河南省精神病医院, 河南省新乡市 453002
2 武汉市精神卫生中心, 湖北省武汉市 430022

文章亮点:

1 实验结果显示: 连续 6 d 半慢性吗啡注射, 纳洛酮一次催瘾注射成功建立了条件性位置厌恶, 吗啡+纳洛酮组试验鼠在伴药侧的时间较条件花前期明显减少, 表现出明显的厌恶动机, 在此过程中, 伏隔核壳区内腺苷酸环化酶Ⅷ蛋白表达水平明显高于对照组, 提示伏隔核壳区内腺苷酸环化酶Ⅷ水平可能是调节阿片类药物戒断所致厌恶动机的关键因子之一。

2 在条件性位置厌恶建立前, 吗啡+纳洛酮组试验鼠伏隔核壳区内腺苷酸环化酶Ⅷ表达水平与对照组相当, 然而在条件性位置厌恶建立后, 其内腺苷酸环化酶Ⅷ表现出适应性的高表达, 提示腺苷酸环化酶Ⅷ基因表达水平的变化可能是条件性位置厌恶建立相关的神经适应性变化的重要分子基础之一。

关键词:

组织构建; 组织构建实验造模; 吗啡; 戒断; 条件性位置厌恶; 腺苷酸环化酶Ⅷ; 动物模型; 伏隔核壳区; 国家自然科学基金

摘要

背景: 腺苷酸环化酶Ⅷ涉及促进吗啡耐受、戒断和强化性能, 对晚期长时程增强效应、长时程记忆和对应激的适应等可塑性变化中发挥重要的作用。

目的: 基于慢性吗啡依赖大鼠纳洛酮催瘾戒断建立的条件性位置厌恶动物模型, 观察在条件性位置厌恶建立前后, 与成瘾密切相关脑区伏隔核壳区内腺苷酸环化酶Ⅷ基因表达的适应性变化。

方法: 选用清洁级雄性 SD 大鼠, 设模型组(吗啡+纳洛酮组)、吗啡+盐水组和盐水+纳洛酮组。模型组采用连续 6.5 d 慢性吗啡腹腔注射 10 mg/kg, 纳洛酮一次催瘾注射 0.3 mg/kg, 同时与条件性位置训练箱搭配建立大鼠条件性位置厌恶模型, 对照组依模型组对照注射等体积生理盐水。在条件性位置厌恶建立前后, 采用免疫组织化学方法检测伏隔核壳区内腺苷酸环化酶Ⅷ基因的表达水平。

结果与结论: 条件性位置厌恶建立前, 3 组腺苷酸环化酶Ⅷ在伏隔核壳区表达水平差异无显著性意义($F=4.651$, $P=0.052$); 条件性位置厌恶建立后, 吗啡+纳洛酮组腺苷酸环化酶Ⅷ在伏隔核壳区($F=4.874$, $P=0.028$)内表达水平显著高于吗啡+盐水组和盐水+纳洛酮组。结果提示, 伏隔核壳区内腺苷酸环化酶Ⅷ水平可能是调节阿片类药物戒断所致厌恶动机的关键因子之一; 腺苷酸环化酶Ⅷ基因表达水平的变化可能是条件性位置厌恶建立相关的神经适应性变化的重要分子基础之一。

Expressions of related genes in the shell of accumbens nuclei when constructing a rat model of chronic morphine-induced conditioned place aversion

Zhang Jing-dan¹, Li Wen-qiang¹, Song Xiu-hua¹, Lou Bai-yu¹, Shi Yu-zhong¹, Li Yi²

1 Henan Provincial Mental Hospital, Xinxiang 453002, Henan Province, China
2 Wuhan Mental Health Center, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Abstract

BACKGROUND: Adenylate cyclase Ⅷ is involved in the promotion of morphine tolerance, withdrawal and enhancement, and plays an important role in plastic changes, such as the advanced long-term

张景丹★, 女, 1984 年生, 山东省济宁市人, 汉族, 2011 年新乡医学院毕业, 硕士, 医师, 主要从事精神药理的研究。
Zjd2008dan@yahoo.cn

通讯作者: 石玉中, 主任医师, 河南省精神病医院, 河南省新乡市 453002
shiyuzhong2000@yahoo.com.cn

并列通讯作者: 李毅, 博士, 副主任医师, 武汉市精神卫生中心, 湖北省武汉市 430022
psylee@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 2095-4344
(2013)20-03687-05

收稿日期: 2012-12-03
修回日期: 2013-04-09
(20111203014W·C)

Zhang Jing-dan★, Master,
Physician, Henan Provincial
Mental Hospital, Xinxiang
453002, Henan Province,
China
Zjd2008dan@yahoo.cn

Corresponding author: Shi
Yu-zhong, Chief physician,
Henan Provincial Mental
Hospital, Xinxiang 453002,
Henan Province, China
shiyuzhong2000@yahoo.
com.cn

Corresponding author: Li Yi,
M.D., Associate chief physician,
Wuhan Mental Health Center,
Wuhan 430022, Hubei
Province, China
psylee@163.com

Supported by: the National
Natural Science Foundation of
China, No. 30800364*

Received: 2012-12-03
Accepted: 2013-04-09

enhancement effect, long-term memory and stress adaptation.

OBJECTIVE: To explore the changes of adenylate cyclase VIII gene expression in the shell of accumbens nuclei before and after development of chronic morphine-induced conditioned place aversion in a rat through naloxone reminder addiction withdrawal.

METHODS: Clean grade Sprague Dawley rats were divided into three groups: morphine+naloxone group, morphine+saline group and saline+naloxone group. Rats in the former one group received intraperitoneal injection of 10 mg/kg morphine continuously for 6.5 days, and intraperitoneal injection of 0.3 mg/kg naloxone; then the conditioned place aversion model was established combined with the conditioned place training. Rats in the latter two groups were injected with the same dose of saline as the morphine+naloxone group. The adenylate cyclase VIII gene expression in the shell of accumbens nuclei was detected with immunohistochemistry method before and after development of chronic morphine-induced conditioned place aversion model.

RESULTS AND CONCLUSION: Before chronic morphine-induced conditioned place aversion model establishment, there was no significant difference of the adenylate cyclase VIII gene expression in the shell of accumbens nuclei ($F=4.651$, $P=0.052$); after conditioned place aversion establishment, the adenylate cyclase VIII gene expression in the shell of accumbens nuclei in the morphine+naloxone group was significantly higher than that in the morphine+saline group and saline+naloxone group ($F=4.874$, $P=0.028$). The results indicate that the changes of adenylate cyclase VIII gene expression may be one of the important molecular underpinnings of the conditioned place aversion.

Key Words: tissue construction; experimental modeling in tissue construction; morphine; withdrawal; conditioned place aversion; adenylate cyclase VIII; animal model; shell of accumbens nucleus; National Natural Science Foundation of China

Zhang JD, Li WQ, Song XH, Lou BY, Shi YZ, Li Y. Expressions of related genes in the shell of accumbens nuclei when constructing a rat model of chronic morphine-induced conditioned place aversion. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(20): 3687-3691.

0 引言

物质依赖/成瘾是一种以强迫性觅药行为为主要特征的慢性复发性的脑病^[1-2], 阿片类药物滥用/成瘾是世界范围内的公共卫生和社会问题, 由于其成瘾性强, 戒断症状严重, 复吸率居高不下(急性脱毒后近期复发率高达95%以上), 并且伴有艾滋病等各种传染病, 根治困难, 这是当前戒毒工作的难点及亟待解决的问题。

毒品具有明显的正性强化和负性强化作用, 正性强化作用和负性强化作用都可导致依赖者滥用药物, 正性强化常与快感相连, 而负性强化与减少或者回避厌恶有关。物质戒断所致躯体戒断症状几天后即会消失, 而戒断后的厌恶则会维持几周甚至数月, 吸毒者为了回避戒断后的厌恶, 即戒断症状中的动机成分而不能摆脱毒品, 是复吸/维持毒品使用的重要原因^[3-7]。吸毒者存在一个毒品的负性强化循环: 吸毒→成瘾→戒毒→戒断所致厌恶动机→负性强化→冲动性地觅药/复吸。毒品成瘾戒断所致的厌恶动机是这条复吸通路的“源头”, 是阻断复吸通路的重要“靶点”, 故探索毒品成瘾戒断所致厌恶动机的生物学基础势在必行。

目前对毒品成瘾戒断所致的厌恶动机的研究主要集中在: 厌恶动机的解剖基础以及神经生化基础两个方面, 而在生物信息转导通路方面并不明确, 条件性位置厌恶试验动物模型被广泛用于急、慢性阿片成瘾戒断所致的厌恶性动机的生物学机制研究, 试验敏感、成熟。反复使用阿片类药物后, cAMP通路上调是最重要的适应性的改变, AC是催化三磷酸腺苷(ATP)去焦磷酸生成cAMP的膜结合酶, 是cAMP信号传递途径中的重要成分。腺苷酸环化酶VIII是AC 10中同工酶中的一种, 其功能涉及促进吗啡耐受、戒断和强化性能, 对晚期长时程增强效应、长时程记忆和对应激的适应等可塑性变化中发挥重要的作用^[8-9]。物质依赖戒断后条件性位置厌恶建立的过程中, 有厌恶动机情绪的产生, 那么特定脑区内腺苷酸环化酶VIII的表达

变化是不是条件性位置厌恶的分子基础, 目前尚不清楚了。实验通过对慢性吗啡成瘾雄性SD大鼠纳洛酮催瘾戒断后条件性位置厌恶动物模型的建立, 定位于伏隔核壳区, 测定条件性位置厌恶建立前后腺苷酸环化酶VIII蛋白表达水平。为揭示物质依赖后厌恶动机可能的分子基础提供支持。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2010年5至12月在河南省精神病院中心实验室完成。

材料:

实验动物: 实验动物由郑州大学实验动物中心提供, 许可证号SCXK(豫)2005-0001。选用清洁级雄性SD大鼠36只, 进入实验时体质量180–220 g。笼养, 每笼4只, 动物于实验开始前1周, 便饲养于昼夜节律12 h光照(7:00–19:00)12 h黑暗通风良好的河南省生物精神医学重点实验室动物房。环境温度控制在(22±2) °C, 动物能自由饮水和进食。

药品: 盐酸吗啡注射液为东北制药集团公司沈阳第一制药厂生产, 批号为100305-1。盐酸纳洛酮注射液为北京四环制药有限公司生产, 批号为20100207。

实验装置: 条件性位置反射训练箱: 体积为60 cm×30 cm×30 cm(长×宽×高), 中间由可抽动隔板(30 cm×30 cm)将其等分为两个小室。一侧: 内侧各面均为黑色, 底面光滑, 简称为黑侧。另一侧: 内侧各面均为白色, 底面粗糙, 简称为白侧。替代隔板(30 cm×30 cm): 一侧底面有10 cm×10 cm的缺口, 以便在试验鼠适应训练箱和测评位置厌恶时替代原来的隔板。实验鼠在两侧内的时间以及“可视性”的戒断症状均由自动录像系统自动记录。

实验方法:

实验分组: 实验分为3组: 慢性吗啡注射+纳洛酮催瘾组(吗啡+纳洛酮组); 对照组: 慢性吗啡注射+生理盐水“催瘾”组(吗啡+盐水组)和慢性生理盐水注射+纳洛酮催瘾组(盐水+纳洛酮组)。

各组处理: 慢性吗啡注射: 从第1天至第7天的上午(共计注射6 d半), 2次/d(7:00; 19:00), 10 mg/(kg·次), 腹腔注射。慢性生理盐水注射: 按同期对照的原则, 注射的均为生理盐水。纳洛酮催瘾注射: 在慢性吗啡注射的第6天, 0.3 mg/kg, 腹腔注射1次。具体方法见参考文献[8]。

慢性吗啡成瘾纳洛酮催瘾戒断条件性位置厌恶建立: 吗啡注射的同时进行条件性位置厌恶行为训练, 大致可以分为3个阶段: 条件化前阶段, 条件化阶段和条件化后测试阶段, 计算机控制的全自动监控系统记录。具体方法见参考文献[8]。

免疫组织化学标本的制备: 每组大鼠分别于条件性位置厌恶建立前训练后、条件性位置厌恶测评后90 min, 按每组6只随机选取, 腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉, 胸腹腔联合切开, 暴露心脏, 输液针头经左心室心尖部插管于升主动脉, 并用血管嵌固定, 剪开右心耳, 先用无菌生理盐水200 mL快速灌注, 直至流出液清亮, 然后用40 g/L多聚甲醛250 mL以先快后慢的原则灌注固定30 min, 断头取脑并将脑组织置于相同固定液中后固定24 h。参照大鼠脑部解剖图谱, 将固定后的脑组冠状切面切取各含伏隔核壳区厚2.0–3.0 mm脑组织片, 包埋, 做成石蜡包块。PBS漂洗, 室温下正常山羊血清封闭1 h并振荡, 分别加一抗(Rabbit Polyclonal IgG多克隆抗体的工作液浓度1/150), 4 °C孵育过夜。PBS漂洗, 分别加生物素化的二抗, 2 h后PBS漂洗、加ABC复合物, 室温下反应2 h, PBS漂洗、DAB显色, 显微镜下控制反应, 显色满意后0.01 mol/L PBS充分漂洗终止反应。贴片, 常规脱水透明、中性树胶封固。阴性对照是以正常山羊血清取代一抗, 其余步骤不变。

免疫组织化学结果的观察与图像分析: 石蜡切片经德国DM-2000 Leica Qwin V3图像采集与分析系统采集图片, 免疫组织化学图片采用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件测定每张图片中腺苷酸环化酶VIII阳性染色的平均吸光度, 随机选取含有伏隔核壳区的切片5张, 求其平均吸光度的平均值, 并对其表达进行定量分析。

主要观察指标: ①大鼠条件性位置厌恶建立结果。②大鼠戒断体征。③大鼠伏隔核壳区腺苷酸环化酶VIII表达。

统计学分析: 数据均使用SPSS 13.0统计软件包进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}±s$ 表示。均数间的多重比较, 采用方差分析, 若存在差异, 用Levene检验进行方差一致性检验, 方差齐时, 采用Least-significant difference (LSD)方法; 若方差不齐时, 用Tamhane's T2方法。两均数之间的比较采用两独立样本的t检验; 率的比较采用确切概率法卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验选用大鼠36只, 分为3

组, 实验中无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 各组大鼠条件性位置厌恶建立结果 采用两独立样本的 *t* 检验对吗啡+纳洛酮组、吗啡+盐水组和盐水+纳洛酮组试验鼠条件化搭配前、后在伴药侧时间进行分析, 条件性位置厌恶条件化后, 吗啡+纳洛酮组试验鼠在伴药侧的时间较条件化前期明显减少, 结果显示差异有显著性, 吗啡+纳洛酮组大鼠形成了明显的条件性位置厌恶, 吗啡+盐水组和盐水+纳洛酮组在伴药侧的时间结果显示两者之间的差异无显著性意义。见表1。

表1 试验鼠条件化搭配前、后在伴药侧时间及厌恶分数

Table 1 Time staying in the drugpairing side and offensive scores before and after conditional collocation of experimental rats ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	在伴药侧时间(s)		厌恶分数
	条件化前	测试阶段	
吗啡+纳洛酮组	608.60±50.70	445.67±42.40 ^a	-179.83±38.92
吗啡+盐水组	578.60±87.95	526.66±63.02	-55.13±88.92
盐水+纳洛酮组	553.63±86.94	550.69±78.11	-19.99±37.79

与条件化前比较, ^a*P* < 0.001。

注: 厌恶分数即吗啡依赖纳洛酮催瘾戒断的条件性位置厌恶分数: 测试阶段(第7天)试验鼠在纳洛酮搭配侧, 又称为伴药侧的时间减去条件化前阶段(第5天)在同侧的时间。说明吗啡+纳洛酮组试验鼠在伴药侧的时间较条件化前期明显减少, 形成了明显的条件性位置厌恶。

2.3 各组大鼠戒断体征评定结果 可数性戒断体征评分直接以30 min内出现的总的次数表示不可数戒断体征(腹泻): 以30 min内有阳性体征的实验鼠数目与观察总数的比例来表示。

采用单因素方差分析及LSD检验对吗啡+纳洛酮组、吗啡+盐水组和盐水+纳洛酮组大鼠在催瘾注射后, 条件化搭配期的戒断症状进行比较分析, 吗啡+纳洛酮组较对照组有明显的湿狗样抖动、躯体拉伸、跳跃和腹泻的表现, 而直立3组之间差异均无显著性意义。吗啡+纳洛酮组大鼠表现出部分躯体戒断症状。见表2。

2.4 免疫组织化学结果 条件性位置厌恶建立前, 腺苷酸环化酶VIII在伏隔核壳区内的平均吸光度值显示差异无显著性意义, 吗啡+纳洛酮组高于吗啡+盐水组及盐水+纳洛酮组; 条件性位置厌恶建立后, 腺苷酸环化酶

VIII在伏隔核壳区内的平均吸光度值显示差异有显著性意义, 见表3。

表2 大鼠可视性躯体戒断症状测试结果

Table 2 Test results of rat visibility physical withdrawal symptoms ($n=12$)

戒断症状	吗啡+纳洛酮组	吗啡+盐水组	盐水+纳洛酮组	F	P
湿狗样抖动	1.67±1.23	0.67±0.71 ^a	0.56±0.53 ^a	4.764	0.017
躯体拉伸	1.22±0.67	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	30.250	0.000
直立	3.89±4.10	1.89±1.83	4.44±3.78	1.414	0.263
跳跃	1.56±1.33	0.00±0.00 ^a	1.00±0.87 ^a	6.637	0.005
腹泻	11/12	0/12 ^b	0/12 ^b		

经LSD检验, 与吗啡+纳洛酮组比较, ^a*P* < 0.01; 采用确切概率法(Fisher's exact probability test), 与吗啡+纳洛酮组比较, ^b*P* < 0.001。

注: 催瘾注射: 吗啡+纳洛酮组和盐水+纳洛酮组分别腹腔注射纳洛酮0.3 mg/kg 1次, 吗啡+盐水组注射等体积的生理盐水1次。湿狗样抖动、直立、躯体拉伸和跳跃的数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 腹泻的资料以阳性体征的试验鼠个数与观察总数的比例来表示。结果可见吗啡+纳洛酮组大鼠表现出部分躯体戒断症状。

表3 条件性位置厌恶建立前后大鼠伏隔核壳区内腺苷酸环化酶VIII的平均吸光度

Table 3 Average absorbance value of adenylate cyclase VIII gene in the shell of accumbens nucleus before and after conditioned place aversion establishment ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	条件化前	测试阶段
吗啡+纳洛酮组	0.29±0.03	0.31±0.05 ^{a,b}
吗啡+盐水组	0.25±0.01	0.26±0.01
盐水+纳洛酮组	0.26±0.02	0.27±0.02
F	4.651	4.874
P	0.052	0.028

与吗啡+盐水组比较, ^a*P* < 0.01, 与盐水+纳洛酮组比较, ^b*P* < 0.01。

注: 在条件性位置厌恶建立前, 吗啡+纳洛酮组试验鼠伏隔核壳区内腺苷酸环化酶VIII表达水平与对照组相当, 然而在条件性位置厌恶建立后, 其内腺苷酸环化酶VIII表现出适应性的高表达, 提示腺苷酸环化酶VIII基因表达水平的变化可能是条件性位置厌恶建立相关的神经适应性变化的重要分子基础之一。

3 讨论

反复使用阿片类药物后, 神经系统产生适应性变化, 这种神经可塑性是药物依赖和成瘾的神经生物学基础。环腺苷酸(cAMP)通路上调是最重要的适应性的改变, 在中枢神经系统, Ca²⁺/CaM调控的腺苷酸环化酶VIII偶联Ca²⁺和cAMP两种主要第二信使系统^[10-13],

cAMP-蛋白激酶途径和Ca²⁺-依赖性蛋白激酶途径, 腺苷酸环化酶VIII为两途径的关键因子, 已有研究显示, 腺苷酸环化酶VIII不仅接受阿片的急、慢性调节, 而且变化趋势与cAMP通路的适应性改变一致。实验结果显示: 连续6 d半慢性吗啡注射, 纳洛酮一次催瘾注射成功建立了条件性位置厌恶, 吗啡+纳洛酮组试验鼠在伴药侧的时间较条件花前期明显减少, 表现出明显的厌恶动机, 在此过程中, 伏隔核壳区内腺苷酸环化酶VIII蛋白表达水平明显高于对照组, 提示伏隔核壳区内腺苷酸环化酶VIII水平可能是调节阿片类药物戒断所致厌恶动机的关键因子之一。

cAMP-蛋白激酶途径内部存在一个正反馈调节, 即腺苷酸环化酶VIII活性的上调可以启动cAMP-蛋白激酶途径, 使CREB高表达, 高表达的CREB可能通过激活下游靶基因(如: 强啡肽基因)的转录, 与条件性位置厌恶的厌恶动机形成有关。同时高表达的CREB可以与腺苷酸环化酶VIII基因上的位置相似区结合, 增强腺苷酸环化酶VIII的表达。对腺苷酸环化酶VIII缺失小鼠的研究显示其对晚期长时程增强效应、长时程记忆和对应激的适应等可塑性变化中发挥重要的作用。在条件性位置厌恶建立前, 吗啡+纳洛酮组试验鼠伏隔核壳区内腺苷酸环化酶VIII表达水平与对照组相当, 然而在条件性位置厌恶建立后, 其内腺苷酸环化酶VIII表现出适应性的高表达, 提示腺苷酸环化酶VIII基因表达水平的变化可能是条件性位置厌恶建立相关的神经适应性变化的重要分子基础之一。

实验的局限性在于仅从蛋白水平检测了试验鼠伏隔核壳区内腺苷酸环化酶VIII的表达变化, 而未对与成瘾密切相关的其他脑区入腹侧被盖区、杏仁核等脑区内腺苷酸环化酶VIII的表达变化进行验证, 这就待以后的进一步研究。

综上, 实验基于慢性吗啡成瘾SD大鼠纳洛酮催瘾戒断建立的条件性位置厌恶模型, 定位于伏隔核壳区, 检测出吗啡+纳洛酮组腺苷酸环化酶VIII的蛋白表达水平在条件性位置厌恶建立前, 较对照组无明显差异, 在条件性位置厌恶建立后, 明显高于对照组, 差异具有显著性。研究结果提示伏隔核壳区内腺苷酸环化酶VIII水平可能是调节阿片类药物戒断所致厌恶动机的关键因子之一; 腺苷酸环化酶VIII基因表达水平的变化可能是条件性位置厌恶建立相关的神经适应性变化的重要分子基础之一。

基金资助: 国家自然科学基金(30800364)。

作者贡献: 设计、实施、评估为本文作者, 均受过专业培训。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Alan I.Leshner. Addiction Is a Brain Disease, and It Matters. Science. 1997;278:45-47.
- [2] Koob GF, Sanna PP, Bloom FE. Neuroscience of addiction. Neuron.1998,21(3): 467-476.
- [3] Van Den Brink W, Van Ree JM. Pharmacological treatments for heroin and cocaine addiction. Eur Neuropsychopharmacol. 2003;13(6): 476-87.
- [4] Kantak KM.Vaccines against drugs of abuse: a viable treatment option ? Drugs. 2003;63(4): 341-352.
- [5] Kang L, Dai ZZ, Li HH,et al.Environmental cues associated with morphine modulate release of glutamate and r-aminobutyric acid in ventral subiculum. 2006;22(5):255-260.
- [6] Kantak KM.Vaccines against drugs of abuse: a viable treatment option? Drugs.2003;63(4): 341-352.
- [7] Tang YL, Zhao D, Zhao C, et al.Opiate addiction in China: current situation and treatments.Addiction.2006;101(5): 657-665.
- [8] Li Y, Liu X, Chen H, Deng H, et al. Development, extinction and reinstatement of morphine withdrawal-induced conditioned place aversion in rats.Addiction Biology.2007;12 (3-4),470-477.
- [9] Jackson KJ, Martin BR, Changeux JP,et al.Differential role of nicotinic acetylcholine receptor subunits in physical and affective nicotine withdrawal signs. Pharmacol Exp Ther.2008; 325(1):302-312.
- [10] Nestler EJ,Aghajanian GK.Molecular and cellular basis of addiction. Science. 1997;278:58-63.
- [11] Cali JJ,Zwaagstra JC,Mons N,et al.Type VIII adenylyl cyclase.A Ca²⁺/calmodulin-stimulated enzyme expressed in discrete regions of rat brain. Biol Chem.1994;269: 12190-12195.
- [12] Cali JJ, Parekh RS, KrupinskiJ. Splice variants of type VIII adenylyl cyclase. Differences in glycosylation and regulation by Ca²⁺/calmodulin. Biol Chem.1996; 271:1089-1095.
- [13] Watson EL, Jacobson KL, Singh JC, et al. The type 8 adenylyl cyclase is critical for Ca²⁺-stimulation of cAMP accumulation in mouse parotid acini. Biol Chem.2000;275(19): 14691-14699.