Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هیجدهم– شماره ۹۰
دی ۱۳۸۹

وصول: ۸۹/۸/۲۳
آخرین اصلاحات: ۸۹/۱۰/۲۵
پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۶

نقش نیتریک اکساید هسته مرکزی آمیگدال در بیان رفتار پاداشی مرفین در موش سفید بزرگ

نویسندگان: مهناز رحیم‌پور [۱]، دکتر منیژه کرمی*[۲]، دکتر محمد رضا جلالی ندوشن[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- استادیار بیولوژی- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۳- دانشیار پاتولوژی- گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: دکتر منیژه کرمی **E-mail: karami@shahed.ac.ir**

چکیده

مقدمه و هدف: نالوکسون با مرفین در بیان علائم رفتاری پاداشی، تداخل دارد. L-آرژینین، ترجیح مکانی ناشی از مرفین را افزایش و L-NAME این جریان را کاهش‌می‌دهد. در این پژوهش آثار تزریق L- آرژینین و L-NAME به هسته مرکزی آمیگدال بر بیان رفتارهای جستجوی دارو (ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو بخش دستگاه) القایی مرفین بررسی‌شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش‌ها روی موش بزرگ نر نژاد ویستار (g ۲۵۰-۲۰۰) انجام‌گرفت. حیوانات با دستگاه استروتاکس در مختصات هسته مرکزی آمیگدال به صورت دوطرفه کانول‌گذاری شدند و یک هفته، دوره بهبود را گذراندند. ترجیح مکانی به روش غیر طرفدار، طی برنامه‌ای پنج روزه در سه مرحلهٔ آشنایی، شرطی‌سازی و آزمون اجراشد. در طول شرطی‌سازی، مرفین به صورت زیر جلدی روزی یک‌بار، عوامل نیتریک اکساید به داخل هسته و نالوکسون به صورت داخل صفاقی ۱۰ دقیقه قبل از آزمون تزریق‌شد.

یافته‌ها: مرفین (mg/kg s.c ۱۰-۲/۵) کاهشی معنی‌دار را در رفتارهای جستجوی دارو نسبت به گروه کنترل نشان‌داد و تجویز نالوکسون (mg/kg i.p ۰/۴-۰/۱) قبل ازآزمون پاسخ‌های القایی مرفین را تقویت‌کرد. تزریق L- آرژینین (µg/rat ۳-۰/۳) به آمیگدال مرکزی مقدم بر تزریق نالوکسون (mg/kg ۰/۴) بر بیان علائم افزایش معنی‌دار داشت ولی تزریق L-NAME (µg/rat ۳-۰/۳) مقدم بر L- آرژینین (µg/rat ۰/۳)، پاسخ L-آرژینین را متوقف کرد.

نتیجه‌گیری: نالوکسون به عنوان اگونیست گیرنده اپیوییدی با مرفین در القای آثار رفتاری در مدل شرطی رقابت‌می‌کند و NO در هسته مرکزی آمیگدال با مرفین در بیان این آثار تداخل نشان‌می‌دهد. شاید مطالعه حاضر بتواند تداخل بین مرفین و NO هسته مرکزی آمیگدال را بر بیان رفتارهای جستجوی دارو تأییدکند.

واژگان کلیدی: مرفین، نیتریک اکساید، آمیگدال مرکزی، L- آرژینین، L-NAME، رفتارهای جستجوی دارو

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

مقدمه

ایستادن، بو کشیدن و تردد بین دو بخش دستگاه شرطی‌سازی (فعالیت حرکتی) از جمله علائم رفتاری جستجوی دارو در مدل شرطی‌شده‌اند (۱). رفتار ایستادن در حیوان شرطی‌شده به واسطه سیستم‌های تنظیم‌کننده انگیزش و هیجان تعدیل‌می‌شود (۲). بوکشیدن، به ورود و خروج منظم هوا برای درک بو و رایحه اطلاق‌می‌گردد (۲). در سال ۱۹٦٤ ، Welker این گونه بیان‌کرد که بوکشیدن در حیوان زنده، رفتاری دینامیک است که با هماهنگی دقیق سایر سیستم‌های حرکتی انجام‌می‌شود و نقشی مهم در شکل‌دهی داده‌های بو برای پردازش با سیستم عصبی بازی‌می‌کند (۳). آلکالوییدهای اپیوییدی مانند مرفین، بی‌دردی را از طریق اثرگذاری بر آن نواحی مغز که پپتیدهایی با ویژگی‌های فارماکولوژیک شبه اپیویید دارند، القامی‌کنند (٤). آگونیست‌های اپیوییدی از طریق اتصال با گیرنده-های اختصاصی جفت‌شده با پروتئین G ایفای نقش می-کنند که این گیرنده‌ها در مناطقی از مغز و نخاع و بافت-های دیگر، شناسایی شده‌اند (۵). گیرنده‌های اپیوییدی و لیگاندهای پپتیدی درون‌زاد در سراسر دستگاه عصبی مرکزی (Central Nervous System) و بافت‌های محیطی (Peripheral Nervous System) توزیع شده‌اند و نقشی مهم در کنترل پاسخ‌های فیزیولوژیک مانند بی‌دردی، رفتار هیجانی، یادگیری، حافظه و تنظیم مدارهای پاداش برعهده‌دارند (٦). سیستم اپیوییدی، سه گیرنده اصلی μ (میو)، κ (کاپا) و δ (دلتا) دارد که پپتیدهای اپیوییدی درون‌زاد این گیرنده‌ها را فعال‌می‌کنند (۷). تجویز مکرر دوزهای درمانی مرفین یا مشتق‌های آن باعث می‌گردد که این مخدرها به‌تدریج، اثرشان را ازدست‌بدهند (بنابراین برای دستیابی به پاسخ اولیه، مقادیر بیشتری از دارو باید تجویزشود) که این پدیده، تحمل (Tolerance) نام‌دارد (۸). در این حالت، وابستگی دارویی به اپیوییدها با یک سندرم ترک یا پرهیزی به‌نسبت اختصاصی مشخص می‌شود (۵). نالوکسون دارویی است که برای درمان تحمل اپیوییدی (اور دوز مرفین یا هروئین) استفاده‌می‌شود و تیمار هم‌زمان مرفین و دوز بسیار پایین نالوکسون، تحمل و وابستگی اپیوییدی را در اثر جلوگیری از تغییرهای سیگنالینگ تحریکی اپیوییدها کاهش‌می‌دهد که این اثر به واسطه تمایل بسیار بالای نالوکسون در واکنش با گیرنده μ ایجادمی‌شود (۷). آمیگدال در تشخیص احساس‌های منفی مانند ترس، ارتباط بین محرک‌های محیطی و احساس‌ها و پردازش داده‌های پاداشی بسیار اهمیت دارد (۹). با توجه به نقش نیتریک اکساید در مقام ناقلی عصبی در بیان و افزایش تحمل و وابستگی به مرفین و نیز با درنظرگرفتن تداخل این سیستم با مرفین در بیان ویژگی‌های پاداشی مرفین و نیز با توجه به اهمیت آمیگدال در بیان سندرم ترک القاءشده با نالوکسون (10)، چنین فرض‌می‌شود که بر-همکنش نیتریک اکساید با مرفین در این ناحیه بتواند بر علائم رفتاری القایی مرفین در تداخل با نالوکسون تأثیر بگذارد؛ لذا در مطالعه حاضر، آثار تزریق مستقیم L-آرژینین و L-NAME به هسته مرکزی آمیگدال در بیان پاسخ‌های رفتاری القاءشده با مرفین در مدل شرطی که با یک تزریق منفرد نالوکسون مزدوج گردیده، بررسی-شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش‌ها روی موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار که در شروع جراحی، میانگین وزن آنها بین ۲۰۰-۲۵۰ گرم بود صورت‌گرفت؛ این حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه و به صورت گروه‌های چهارتایی تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی با دوره روشنایی -تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری‌شدند و در تمام مدت آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی آسان داشتند. حیوانات، به‌منظور ایجاد سازگاری با شرایط جدید، دست‌کم یک هفته زودتر از شروع آزمایش‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند. برای هر گروه تجربی، حداقل شش سر حیوان درنظرگرفته و هر حیوان، فقط یک بار آزمایش‌شد. آزمایش‌ها بین ساعت ۸ صبح تا ۵ بعدازظهر انجام‌گرفت. مواد مورد استفاده عبارت بودند از: مرفین

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

سولفات (خریداری‌شده از شرکت تماد با مجوز رسمی وزارت بهداشت)، کتامین و زایلزین (تهیه‌شده از سازمان دامپزشکی کشور)، نالوکسون هیدروکلراید (خرید از شرکت تولید دارو)، L- آرژینین (تهیه‌شده از شرکت Merck) وL-NAME (خریداری‌شده از Research Biomedical Inc.USA). به‌غیراز نالوکسون، کتامین و زایلزین که به صورت ویال تهیه‌شدند، کلیه داروها قبل از مصرف در سالین ۰/۹ درصد حل شدند. به‌منظور جراحی و کانول‌گذاری، ابتدا هر حیوان به دقت وزن و سپس با تزریق درون صفاقی کتامین (۱۰۰mg/kg)و زایلزین (۲۰ mg/kg) بی‌هوش گردید؛ آنگاه حیوان با استفاده از دستگاه استریوتاکس (خرید از شرکت Stoleting, USA) و مختصات هسته مرکزی آمیگدال بر اساس اطلس پاکسینو [(AP) = -۲/۱۲ mm) از برگما، (ML) = ± ٤/۲ mm) از خط وسط و از سطح جمجمه (DV) = -۷/۸mm)]، در ناحیه آمیگدال مرکزی کانول-گذاری شد. همه حیوانات جراحی‌شده قبل از آزمون CPP، یک هفته دوره بهبود را گذراندند. دستگاه CPP از جنس چوب و دوقسمتی طراحی‌گردید که دو قسمت شرطی‌کننده آن با یک دریچه از هم مجزا بودند. روش ترجیح مکانی شرطی‌شده طبق طرح غیر طرف‌دار (Unbiased)، مشمول برنامه‌ای پنج روزه با سه مرحله پیش از شرطی‌سازی، شرطی‌سازی و آزمون اجراگردید (۱۱).

بررسی آثار مرفین، روی علائم رفتاری در مدل شرطی: چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلف مرفین (۲/۵-۱۰mg/kg) را به صورت زیر جلدی دریافت‌کردند و یک گروه نیز به‌منظور مقایسه بین گروه‌های تحت آزمایش با گروه کنترل، در جایگاه گروه شاهد، طی شرطی‌سازی، سالین را به صورت زیر جلدی دریافت-کرد. فعالیت و علائم رفتاری همه گروه‌ها در مرحله آزمون با دستگاه Ethovision (ثبت و رکوردینگ رفتارها به صورت خودکار) ذخیره و سپس تجزیه‌وتحلیل‌گردید.

بررسی آثار تداخل نالوکسون و مرفین، روی علائم رفتاری: آثار تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف نالوکسون (آنتاگونیست رقابتی گیرنده‌های اپیوییدی) روی بیان علائم رفتاری بررسی‌شد. پنج گروه از حیوانات طی برنامه‌ای سه روزه شرطی‌سازی، به صورت زیر جلدی دوز موثر مرفین (۷/۵ mg/kg) را دریافت-کردند ولی ۱۰ دقیقه قبل از آزمون، نالوکسون به صورت داخل صفاقی (۰/۱-۰/٤ mg/kg) در چهار گروه تزریق شد و یک گروه نیز در جایگاه گروه کنترل بدون دریافت نالوکسون به مرحله آزمون ورود پیدا کرد. علائم رفتاری تمام حیوانات ثبت و تجزیه‌وتحلیل شد.

بررسی آثار L-آرژینین داخل مغزی، روی علائم رفتاری: چهار گروه از حیوانات طی برنامه شرطی‌سازی سه روزه، مرفین را به صورت زیر جلدی دریافت‌کردند. در روز آزمون، تزریق داخل هسته‌ای مقادیر مختلف L-آرژینین (۰/۳-۳ µg/rat) مقدم بر تزریق داخل صفاقی دوز مؤثر نالوکسون (۰/٤ mg/kg) روی سه گروه انجام-گرفت و یک گروه نیز در مقام گروه کنترل (بدون دریافت L-آرژینین) درنظرگرفته‌شد. حیوانات پس از ۱۰ دقیقه، تحت آزمون واقع شدند و علائم رفتاری همه گروه‌ها سنجش و ارزیابی‌شد.

بررسی آثار L-NAME داخل مغزی، روی علائم رفتاری: در این آزمایش، چهار گروه از حیوانات، طی برنامه شرطی‌سازی سه روزه، مرفین را به صورت زیر جلدی دریافت‌کردند. در روز آزمون، مقادیر مختلف L-NAME (۰/۳-۳ µg/rat) به صورت داخل مغزی، مقدم بر L-آرژینین (۳ µg/rat) و پیش از تزریق نالوکسون (۰/٤ mg/kg) روی سه گروه از حیوانات انجام‌شد و گروه چهارم در جایگاه گروه کنترل (بدون دریافت L-NAME) درنظرگرفته‌شد. همه گروه‌ها پس از ۱۰ دقیقه به مرحله آزمون واردشدند و علائم رفتاری آنها برای تجزیه‌وتحلیل، ثبت و ذخیره گردید.

تجزیه‌وتحلیل آماری

داده‌های مربوط به علائم رفتاری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و پس از تست نرمالیتی Smirnov Kolmogorov تحت تجزیه‌وتحلیل آماری قرارگرفتند و

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

برای تحلیل بیشتر داده‌ها از آنالیزهای Post hoc از جمله آزمون LSD استفاده شد و در همه موارد $p< 0.05$ در مقام اختلافی معنی‌دار درنظرگرفته‌شد. محاسبات آماری با کمک نرم‌افزار Gstate و SPSS انجام‌گرفت.

یافته‌ها

آثار مرفین بر بیان رفتارهای جستجوی دارو در مدل شرطی

جدول۱، پاسخ مرفین (۲/۵–۱۰ mg/kg, s.c) را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی‌سازی نشان‌می‌دهد.

آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان‌می‌دهد که مرفین برایستادن اثری معنی‌دار [$F_{4,25}$=9.868; $p<0.0001$] دارد. بررسی بیشتر با آزمون LSD نشان‌می‌دهد که مرفین در تمام مقادیر نسبت به گروه کنترل، کاهشی معنی‌دار را بر بیان این رفتار آشکارمی‌سازد. اثر مرفین بر بوکشیدن، اثری معنی‌دار [$F_{4,25}$=3.395; $p<0.01$] است و آزمون LSD حاکی از آن است که دوز بالای مرفین (mg/kg ۱۰)، نسبت به گروه کنترل کاهشی معنی‌دار بر بیان این رفتار نشان‌می‌دهد. اثر مرفین بر تردد بین دو بخش دستگاه شرطی‌سازی نیز معنی‌دار [$F_{4,25}$=5.816; $p<0.001$] است و بررسی بیشتر با آزمون LSD حاکی از آن است که مرفین در مقادیر مختلف (mg/kg ۱۰ و ۷/۵ ، ۲/۵) نسبت به گروه کنترل بر این رفتار، کاهشی معنی‌دار دارد.

آثار تداخل نالوکسون و مرفین در بیان علائم رفتاری جستجوی دارو

جدول ۲، پاسخ نالوکسون (۰/۱–۰/٤ mg/kg, i.p) را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی‌سازی نشان‌می‌دهد.

آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان‌دهندهٔ آن است که نالوکسون اثری معنی‌دار [$F_{4,25}$=9.615; $p<0.0001$] بر ایستادن و نیز اثری معنی‌دار [$F_{4,25}$=7.88; $p<0.001$] بر بوکشیدن دارد؛ همچنین اثر مرفین بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی‌سازی معنی‌دار [$F_{4,25}$=2.992; $p<0.01$] است و بررسی بیشتر با آزمون LSD حاکی از آن است که نالوکسون در تمام مقادیر نسبت به گروه کنترل، اثر کاهشی معنی‌داری بر بیان این رفتارها دارد.

آثار تزریق مستقیم L – آرژینین، روی علائم رفتاری در حیوان شرطی‌شده با مرفین

جدول۳، پاسخ –L آرژینین (۰/۳–۳ µgr/rat) را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی‌سازی نشان‌می‌دهد.

آنالیز واریانس یک‌طرفه حاکی از آن است که– L آرژینین اثری معنی‌دار را بر ایستادن و بوکشیدن نشان‌نمی‌دهد ($p>0.05$) ولی اثر– L آرژینین بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی‌سازی معنی‌دار [$F_{3,20}$=2.934; $p<0.01$] است؛ همچنان که، در بررسی بیشتر با آزمون LSD نشان‌داده‌می‌شود –L آرژینین در بعضی از مقادیر (µgr/rat ۳ و۰/۳) نسبت به گروه کنترل اثر افزایشی معنی‌داری را بر بیان این رفتار آشکارمی‌کند.

آثار تزریق مستقیم L-NAME روی علائم رفتاری در حیوان شرطی‌شده با مرفین

جدول ٤، پاسخ L-NAME (۰/۳–۳ µg/rat) را در بیان علائمی مثل ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی‌سازی نشان‌می‌دهد.

آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان‌می‌دهد که L-NAME اثری معنی‌دار بر ایستادن و بوکشیدن ندارد ($p>0.05$) ولی اثر L-NAME بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی‌سازی معنی‌دار [$F_{3,20}$=6.728; $p<0.01$] است و آزمون LSD نشان‌دهندهٔ آن است که L-NAME در مقادیر مختلف (µgr/rat ۳ و ۰/۳)، بیان این رفتارها را متوقف‌می‌کند.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

جدول ۱. علائم رفتاری القایی مرفین

Morphine (mg/kg)	*Rearing (No./15 min)*	*Sniffing (No./15 min)*	*Compartment entering (No./15 min)*
۰	۲/۸٤±٤۳/۵۰	۱/۲۵±۱۲/۷۵	۳/۱۷±۲۱/۲۵
۲/۵	***٤/۸٤±۱۹	۱/۵۸±۹	**۱/٤٤±۱۰/۵۰
۵	*۲/۸۵±۳۳	۱/۸۸±۱۱/۷۵	۱/۳۲±۱۷/۵۰
۷/۵	**۲/٦۷±۲٦	۲/۵۹±۱٤/۷۵	**۱/۱۰±۱۲/۲۵
۱۰	***۲/۳٤±۲۰	*۱/۰٤±٦/۵۰	**۱/۸٤±۱۱/۲۵

مقایسه بین‌گروهی به کمک آزمون LSD انجام‌شده‌است: *p<0.05,**p<0.01,***p<0.001

جدول۲. علائم رفتاری القایی نالوکسون در مدل شرطی

Morphine(7/5mg/kg)+ Naloxone (mg/kg)	*Rearing (No./15 min)*	*Sniffing (No./15 min)*	*Compartment entering (No./15 min)*
۰	۲/٦۷±۲٦	۲/۵۹±۱٤/۷۵	۱/۱۰±۱۲/۲۵
۰/۱	***۲/۱۷±٦/۷۵	**۱/۳۵±٤	*۱/۲۲±٦٦
۰/۲	***٤/۲۹±۷/۵۰	***۱/۰٤±۲/۵۰	*۳/۱۹±٤/۷۵
۰/۳	***۲/۰٤±۵	**۲/٦۷±۵	*۱/۸۹±٤/۵۰
۰/٤	***۲/۳۹±٦/۵۰	***۰/۷۰±۲	*۱/۵٤±٤/۲۵

مقایسه بین‌گروهی به کمک آزمونLSD انجام‌شده‌است *p<0.05,**p<0.01,***p<0.001

جدول۳. اثر L– آرژینین، روی علائم رفتاری در مدل شرطی

Morphine(7/5mg/kg)+ Naloxone(0/4mg/kg)+ L-arginine (µgr/rat)	Rearing (No./15 min)	Sniffing (No./15 min)	Compartment entering (No./15 min)
۰	۲/۳۹±٦/۵۰	۰/۷۰±۲	۱/۵٤±٤/۲۵
۰/۳	۱۰/۸۳±۲٤/۳۳	۲/۰۸±۸	*۸/۳۲±۲۰
۱	۳/۷۵±۸/٦٦	۱/۵۲±٦	٤/٤۸±۱۰/٦٦
۳	۰/۵۰±۱۹/۵۰	۷/۰۰±۱۲	*۲/۰۰±۲۲

مقایسه بین‌گروهی به کمک آزمون LSD انجام‌شده‌است: *p<0.05

جدول۴. اثر L-NAME روی علائم رفتاری در مدل شرطی

L-arginine (0/3µgr/rat)+ L-NAME (µgr/rat)	*Rearing (No./15 min)*	*Sniffing (No./15 min)*	*Compartment entering (No./15 min)*
۰	۰/۵۰±۱۹/۵۰	۷/۰۰±۱۲	۲/۰۰±۲۲
۰/۳	٤/۵۰±٦/۵۰	٦	*٤/۰۰±۷
۱	۳/۵۰±۱٤/۵۰	۰/۵۰±۱۲/۵۰	٤/۰۰±۱۳
۳	۷/۰۰±۸	۳/۵۰±٤/۵۰	*۲/۵۰±۲/۵۰

مقایسه بین‌گروهی به کمک آزمون LSD انجام‌شده‌است: *p<0.05*

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

بحث

در این تحقیق، نقش نیتریک اکساید (NO) داخل هسته مرکزی آمیگدال (CeA) بر بروز علائم رفتاری القاءشده با مرفین با استفاده از دستگاه شرطی‌سازی (CPP) و نیز به کمک ثبت خودکار علائم رفتاری مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت شرطی دستگاه در روز آزمون بررسی‌شد؛ نتیجه تحقیق حاکی از تأثیر مرفین بر علائم رفتاری ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو بخش دستگاه شرطی‌سازی، در حیوان شرطی‌شده نسبت به گروهی است که سالین دریافت‌کرد و اینکه مرفین، کاهش فعالیت حرکتی (تردد بین دو بخش دستگاه) در حیوان را موجب‌شد که این یافته با نتایج مطالعات قبلی(۱) مطابقت‌دارد. یافته‌ها نشان‌می‌دهد که مرفین، سبب تحریک پروتئین G متصل به گیرنده‌های μ،κ و δ - می‌شود اما طبق یافته‌های قبلی (۱۲) گیرنده μ در بروز پاسخ‌های رفتاری القا شده با مرفین بیشترین نقش را بر عهده‌دارد. نالوکسون در مقام آنتاگونیست اپیوییدی برای القای علائم رفتاری تجویز شد و طبق یافته‌های حاضر، پس از تزریق داخل صفاقی آن، قبل از آزمون، علائم رفتاری ایستادن و بوکشیدن در حیوان شرطی‌شده کاهشی معنی‌دار پیدا کرد، اما اثر نالوکسون بر فعالیت حرکتی، تردد بین دو بخش دستگاه شرطی‌سازی، اثری وابسته به دوز داشت. دوز پایین نالوکسون (mg/kg, i.p ۰/۱)، افزایش تردد را بین دو بخش دستگاه باعث گردید؛ حال آنکه دوزهای بالاتر نالوکسون (mg/kg, i.p ۰/۲-۰/٤)، کاهش این فعالیت را موجب‌شد؛ از این یافته‌ها می‌توان این‌طور نتیجه‌گرفت که به‌احتمال زیاد نالوکسون در دوز پایین (mg/kg ۰/۱) با انواع دیگری از گیرنده های اپیوییدی مانند κ واکنش‌داده‌است (۱۳) یا اینکه شاید ساختارهای مولکولی متعددی فعال گردیده‌است که در حال حاضر با این یافته‌ها درباره آنها نمی‌توان اظهارنظرکرد و لازم است تا مطالعات آتی در سطح مولکولی برای بیان و تفسیر این بخش از یافته‌ها به‌خدمت‌گرفته‌شود؛ اما نالوکسون در مقادیر بالاتر (mg/kg ۰/۲-۰/٤)، احتمال‌دارد که مسدود شدن گیرنده μ را سبب‌شده‌باشد (۱۷).

فعالیت هر دو گیرنده μ و κ ، هیپرپلاریزاسیون نرون در نواحی مختلف مغزی و مهار آنزیم آدنیلات سیکلاز را موجب‌می‌گردد (١٤). مطابق یافته‌های قبلی، گیرنده μ موجب هیپرپلاریزاسیون نرون‌های حد واسط غیر دوپامینی، گاباارژیک، در ناحیه تگمنتوم شکمی شده، از این طریق با تحریک نرون‌های دوپامینرژیک این ناحیه، ترشح دوپامین را در هسته آکومبنس افزایش‌می‌دهد در-حالی‌که فعالیت گیرنده κ از طریق ارتباط پیش‌سیناپسی با نرون دوپامینرژیک منشعب‌شده از ناحیه تگمنتوم شکمی، مهار ترشح دوپامین در هسته آکومبنس را سبب-می‌شود (۱۵). پس از فعال‌شدن گیرنده‌های گلوتاماتی به‌ویژه NMDA (N-methy-d-aspartate)، ورود کلسیم به داخل سلول و سپس فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سینتاز وابسته به کلسیم- کالمودولین اتفاق‌افتاده، رهایش نیتریک اکساید (NO) به فضای سیناپسی صورت می گیرد (١٦) و تاثیر NO بر نرون پیش‌سیناپسی، رهایش بیشتر گلوتامات را باعث‌می‌شود (۱۷). افزایش نیتریک اکساید در هسته مرکزی آمیگدال در ترجیح مکانی القاءشده با مرفین نقش‌دارد (۱۸).

خروجی‌های گلوتاماترژیک آمیگدال به هسته آکومبنس، وابستگی به مرفین را سبب‌می‌شود (۱۰) و نیز خروجی‌های گلوتاماترژیکی که به تگمنتوم شکمی واردمی‌شوند و سپس به آمیگدال می‌رسند در بیان وابستگی به مرفین نقش‌دارند (۱۹).

در این تحقیق، از L- آرژینین در مقام پیش ساز NO و از L-NAME در جایگاه مهارگر NOS استفاده‌شد و تأثیرشان بر علائم رفتاری پاداشی مرفین ارزیابی‌شد. تزریق دوطرفه مقادیر مختلف L- آرژینین (μg/rat ۳-

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

۰/۳) و L-NAME (۰/۳–۳ µg/rat) به هسته آمیگدال مرکزی، مقدم بر تزریق دوز مؤثر نالوکسون (mg/kg, i.p. ۰/٤)، اثری معنی‌دار را روی علائم رفتاری ایستادن و بوکشیدن نشان‌نداد اما بعضی از مقادیر L– آرژینین فعالیت حرکتی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی‌سازی را افزایش‌داد درحالی‌که، تزریق L-NAME مقدم بر L –آرژینین اثر عکس روی این فرایند نشان‌داد و این امر با مطالعات قبلی (۲۰) مطابقت‌می‌کند.

با درنظرگرفتن آثار عوامل نیتریک اکساید روی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی‌سازی که به‌طورکامل معنی-دار است این احتمال وجود دارد که سیستم نوروترانسمیتری NO در سطح هسته مرکزی آمیگدال با سیستم‌های تنظیم‌کننده فعالیت‌های حرکتی مانند سیستم دوپامینرژیک و گاباارژیک (۲۱)، برهمکنشی داشته‌باشد که این یافته با تحقیق‌های قبلی (۲۲) مطابقت‌دارد.

نتیجه‌گیری

این یافته‌ها حاکی از آن‌اند که به‌احتمال زیاد، نیتریک اکساید ناحیه هسته مرکزی آمیگدال، در شکل-گیری علائم رفتاری ایستادن و بوکشیدن نقشی مهم را ایفاءنمی‌کند و بنابراین محتمل است که در این امر، ساختارهای مولکولی دیگری درگیر باشند اما فعالیت حرکتی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی‌سازی در حیوان شرطی‌شده با مرفین که تحت تداخل نالوکسون واقع شده‌است احتمال‌دارد با سیستم نوروترانسمیتری NO تنظیم‌شود.

سپاسگزاری

ازآنجاکه بخشی از هزینه این تحقیق از محل بودجه پروپوزال‌های کارشناسی ارشد دانشگاه شاهد تأمین-گردید، نویسندگان لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه و مسئولان ذی ربط قدردانی‌کنند.

منابع

1- Azorlosa JL , Simmone EL. Context-specific morphine withdrawal: Evidence that rearing reflects withdrawal, not exploration. Psychobiol 1999; 27 (4): 557-560.

2- Daniel WW, Tanya ND, Marc OJ and Matt W .Sniffing Behavior of Mice during Performance in Odor-Guided Tasks. Chem. Senses 2008; 33: 581–596.

3- Welker WI. Analysis of sniffing in the albino rat. Behavior 1964, 22: 223-244.

4- Trescot AM, Datta S, Lee M, Hansen H . "Opioid pharmacology". Pain Physician 2008;11 (2): 133–53.

5-Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology. 2004; 31:626-647.

6- Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior. Rev. Peptides 2008; 29(12): 2292-2375.

7- Wang HY, Burns LH. Naloxone,s pentapeptide binding site on filamine A blocks mu opioid receptor-Gs coupling and CREB activation of acute morphine.PloS ONE 2009; 4(1): 4282.

8- Maurice H, Guohua Z, Alvin M, John T, Joan J and Sarah M. Tolerance, opioid-induced allodynia and withdrawal associated allodynia in infant and young rats. Neuroscience 2007; 144(1): 247–262.

9- Baxter MG and Murray EA. The amygdala and reward. Nat. Rev. Neurosci. 2002; 3: 563–573.

10- Ishida S, Shimosaka R, Kawasaki Y, Jin C, Kitamura Y, Araki H, Sendo T, Gomita Y. Involvement of the amygdala on place aversion induced by naloxone in single-dose morphine-treated rat. Yakugaku Zasshi 2008; 128(3): 395-403.

11- Karami M, Zarrindast MR, Sepehri H, and Sahraei H. Role of nitric oxide in the rat hippocampal CA1 area on morphine-induced conditioned place preference. European journal of pharmacol. 2002; 449(1-2):113-9.

12- Snyder SM, Pasternak GW. Historical review: Opioid receptors. Trends Pharmacol. Sci. 2003; 24: 198-205.

13- Crain SM, Shen KF. Naloxone rapidly evokes endogenous kappa opioid receptor-mediated hyperalgesia in naïve mice pretreated briefly with GM1 ganglioside or in chronic morphine-dependent mice. Brain Res. 2007; 1167:31-41.

14- Mansour A, Fox CA, Akil H and Watson SJ. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications, Trends Neurosci. 1995; 18: 22-29.

15- Di Chiara G and Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. Proc. Natl Acad. Sci. USA 1988; 85:5274-5278.

16- Garthwaite J and Boulton CL. Nitric Oxide Signaling in the Central Nervous System. Annual Review of Physiology 1995; 57: 683-706.

17- Blanca P, Omar C, Carmina M and Vicente F. The function of the glutamate–nitric oxide–cGMP pathway in brain in vivo and learning ability decrease in parallel in mature compared with young rats. Learn. Mem. 2007; 14: 254-258.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

18- Zarrindast MR, Karami M, Sepehri H and Sahraei H. Influence of nitric oxide on morphine-induced conditioned place preference in the rat central amygdala. Eur. J. Pharmacol. 2002; 453: 81-89.

19-Tzchentke TM, Schmidt WJ. Glutamatergic mechanisms in addition. Mol. Psychiatry 2003; 8:373-382.

20- Calignano A, Persico P, Mancuso F and Sorrentino L. Endogenous nitric oxide modulates morphine-induced changes in locomotion and food intake in mice. Eur. J. Pharmacol. 1993; 231: 415-419.

21- Gi Hoon S, Sooyoung C, Dongho G, Sang Soo K,Wan Sung C, Kyungjin K, Sukwoo. Hyperactivity and alteration of the midbrain dopaminergic system in maternally stressed male mice offspring. Biochemical and Biophysical Research 2007; 352: 823–829.

22- Sepehri G, Sheibani V, Baghaiee F, Farazifard R . Effect of L-NAME/L-Arginine microinjection into nucleus accumbens shell on morphine withdrawal signs in male rats. International Journal of Pharmacology 2006; 2(2): 171-176.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 6:35 IRST on Thursday November 15th 2018

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University Eighteenth Year, No.90 December, January 2010-2011

Received: 14/11/2010
Last revised: 15/1/2011
Accepted: 16/1/2011

Role of CeA nitric oxide on expression of morphine reward behavior in the rat

Mahnaz Rahimpour[1], Manizheh Karami[2*], Mohammadreza Jalali Nadoushan[3]

1. M.Sc.Student - Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran.
2. Assistant Professor - Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran.
3. Professor - Department of Pathology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

E-mail: karami@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Naloxone shows interaction with the morphine in expression of reward behaviors. L-arginine increases morphine induced conditioned place preference, whereas L-NAME decreases this process. In this project, effects of injections of L-arginine and L-NAME intra-CeA on morphine induced drug-seeking behaviors including rearing, sniffing and compartment entering were investigated.

Materials and Methods: Animals (male Wistar rats weighing 200-250 g) were cannulated bilaterally by stereotaxis apparatus for the CeA coordinates and passed a recovery period lasting one week. Conditioned place preference was conducted using a five-day schedule of an unbiased procedure including three phases (pre-conditioning, conditioning, and test). Morphine was injected subcutaneously through the conditioning once a day. NO agents were intra-nucleus injected but the administration of naloxone was intraperitoneally 10 min prior to testing.

Results: morphine (2.5-10 mg/kg s.c) induced a significant decrease in drug-seeking behaviors compared with the control group. Naloxone (0.1-0.4 mg/kg i.p) potentiated the morphine-induced responses. When L-arginine (0.3-3 µg/rat) injected intra–CeA before injection of naloxone (0.4 mg/kg) pre-testing showed a significant increase effect on the behaviors but injection of L-NAME (0.3-3 µg/rat) intra–CeA prior to L-arginine (0.3 µg/rat) pre-testing blocked the response to L-arginine.
Conclusion: Naloxone, an opioid receptor agonist, competes with morphine in inducing the behaviors in the conditioning model and NO in the CeA shows interaction with morphine in expressing these effects. Present finding may confirm that there is an interaction between NO in the CeA and morphine in expressing the drug-seeking behaviors.

Key words: Morphine, Nitric oxide, Central amygdale, L-arginine, L-NAME, Drug seeking behavior