

## دخالت نیتریک اکساید موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی حساس شده به مورفین

آرزو فلاح\* M.Sc.، محمدرضا زرین دست\*\* Ph.D.، علی خوش باطن\*\*\* Ph.D.،  
هدایت صحرائی<sup>۴</sup> Ph.D.

### چکیده

**هدف:** در این تحقیق، تاثیر پیش ساز تولید نیتریک اکساید (ال-آرژینین) و مهارگر سنتز نیتریک اکساید (L-NAME) بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر حساس شده به مورفین بررسی گردید.

**روش بررسی:** در یک مطالعه اولیه اثر تجویز دوزهای مختلف مورفین در القاء ترجیح مکان شرطی شده در حیوانات سالم بررسی شد تا دوز غیر مؤثر مورفین شناخته شود. همچنین، با تجویز منقطع مورفین (۵ mg/kg) (۵)، در سه روز پیاپی و به دنبال آن پنج روز بدون دارو، در حیوانات حساسیت به مورفین القاء شد به نحوی که تجویز دوز غیر مؤثر مورفین در این حیوانات باعث بروز ترجیح مکان شرطی شده چشم‌گیری گردید. ال-آرژینین و یا L-NAME در روزهای تزریق مورفین (۵ mg/kg) و یا در روز تست به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی حیوانات تزریق می‌شدند تا اثر آنها بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده در این حیوانات مشخص شود.

**یافته‌ها:** نتایج نشان دادند که تجویز مورفین (۵ mg/kg) ۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰) در حیوانات سالم باعث بروز ترجیح مکان شرطی شده گردید. تجویز منقطع مورفین (۵ mg/kg) سبب بروز حساسیت به مورفین در حیوانات شد. تجویز ال-آرژینین (۰/۱، ۰/۱ و ۰/۳) قبل از تجویز مورفین در روزهای القاء ترجیح مکان شرطی شده و یا در روز تست اثری بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین نداشت. تجویز L-NAME (۰/۱، ۰/۱ و ۰/۳) قبل از تجویز مورفین در روزهای القاء ترجیح مکان شرطی شده نیز اثری را از خود نشان نداد در حالیکه باعث مهار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای حساس به مورفین گردید.

**نتیجه‌گیری:** بنظر می‌رسد که نیتریک اکساید نقش مهمی را در کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر حساس شده به مورفین بازی نمی‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** مورفین، نیتریک اکساید، حساسیت، ترجیح مکانی شرطی شده، (موش بزرگ آزمایشگاهی نر)

دریافت مقاله: ۸۵/۹/۷، پذیرش مقاله: ۸۶/۴/۳۰

\* نویسنده مسئول: دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج) و مرکز تحقیقات علوم رفتاری، تهران - ایران

\* کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

\* گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

\*\* استاد گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج) و مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی

آدرس پست الکترونیکی: h.sahraei@bmsu.ac.ir

## مقدمه

سوءاستفاده از اویپوئیدها در سطح وسیعی از دنیا شیوع دارد. مطالعات متعددی نشان داده است که اویپوئیدها بدلیل خواص سرخوشی آور آنها مورد سوء استفاده قرار می گیرند. بخش عمده‌ای از تحقیقات نشان می‌دهد که نقل و انتقال عصبی دوپامین در سیستم مزولیمبیک که شامل هسته آکومبسنس (NAC) و ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA) می‌باشد ممکن است عامل اصلی در پاداش اویپوئیدی باشد (۲،۱). در این ارتباط، شواهد قطعی وجود دارد که تجویز سیستمیک مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی باعث تحریک نورونهای دوپامینرژیک موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی شده و این امر به افزایش رها شدن دوپامین در هسته آکومبسنس منجر می‌شود (۳). از سوی دیگر، مشخص شده است که نقل و انتقالات عصبی گلوتامات به عنوان یکی از مهمترین واسطه‌های اثر مورفین در تگمنتوم شکمی عمل می‌کند (۱). گلوتامات اثرات خود را از طریق گیرنده‌های (NMDA, N-methyle-D-aspartate) القاء می‌نماید. جالب این است که گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی قسمتی از اثر خود را از طریق فعال کردن آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (NOS) و تحریک رها شدن نیتریک اکساید (NO) اعمال می‌کنند (۴). به همین دلیل، به نظر می‌رسد که نیتریک اکساید موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی احتمالاً نقشی را در بروز خواص پاداشی اویپوئیدها باز می‌کند. شواهد موجود نشان می‌دهند که این ناحیه حاوی مقادیر نسبتاً زیادی آنزیم نیتریک اکساید سنتاز می‌باشد که می‌تواند ال-آرژینین را به نیتریک اکساید تبدیل کند (۵). در تحقیقات قبلی همچنین نشان داده‌اند که تجویز ال-آرژینین که به عنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید شناخته می‌شود (۵)، می‌تواند باعث تقویت ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر شود (۶). از سوی دیگر، تجویز مهارگر آنزیم نیتریک اکساید سنتاز یعنی L-NAME به مهار ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین منجر شده است (۶).

هنگامیکه مصرف اویپوئیدها برای یک دوره زمانی قطع شود، تشدید اثرات حرکتی و سرخوشی آور این مواد در فرد دیده می‌شود

که این حالت را حساسیت دارویی می‌نامند (۲،۱). این پدیده با افزایش فعالیت حرکتی موجود زنده پس از دریافت مقادیر کم دارو و همچنین افزایش تمایل به مصرف دارو (ولع دارویی) همراه است (۹،۸). آزمایش‌های متعدد نشان داده‌اند که این حالت برای مدت زمان نسبتاً زیادی در فرد باقی مانده و از عوامل اصلی برگشت به مصرف دارو در افرادی است که اعتیاد به مواد مخدر را کنار گذاشته‌اند (۱۰، ۸).

تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که در بروز حساسیت دارویی مسیر دوپامینی پاداش یعنی مسیر تگمنتوم شکمی به هسته آکومبسنس و قشر جلو پیشانی اصلی‌ترین نقش را بر عهده دارد (۱۱). با توجه به اهمیت تاثیر نیتریک اکساید موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی بر خواص پاداشی مورفین، در این تحقیق، اثر نیتریک اکساید موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر حساس شده به مورفین بررسی شده است. ترجیح مکان شرطی شده از آن نظر انتخاب شد که یک روش آسان و قابل اطمینان در بررسی اثرات سرخوشی آور داروهای مخدر است.

## روش بررسی

**حیوانات.** در این تحقیق از موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر از نژاد Wistar با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفسهای ۴ تایی با دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای  $24^{\circ}\text{C}$ - $22$ ، با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. در هر سری آزمایش ۸-۶ سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

**روش القاء ترجیح مکان شرطی شده.** برای انجام آزمایش ترجیح مکان شرطی شده از دستگاه چوبی مخصوصی استفاده شد که از دو قسمت مجزا تشکیل شده است. این دو قسمت دارای ابعاد مساوی  $30 \times 30 \times 30$  سانتی‌متر (طول و عرض و ارتفاع) می‌باشند که توسط یک دریچه گیوتینی مرکزی می‌توانند با هم در ارتباط باشند (۱۲). رنگ دیواره‌های هر دو طرف سفید اما دیواره‌های هر قسمت دارای تزئینات متمایز از طرف دیگر بود. کف یکی از دو قسمت نیز دارای خراشیدگی‌هایی بود که از طرف مقابل

یک ساعت معین مورفین با دوز ۵ mg/kg بصورت زیرجلدی تزریق شد. سپس به حیوانات ۵ روز استراحت داده شد. در روز ششم، ترجیح مکان شرطی شده با دوز بی‌اثر مورفین (۰/۵mg/kg) به روشی که در متن آمده است در حیوانات القاء شد (۱۳).

**داروها.** در این تحقیق، مورفین سولفات (تماد- ایران)، ال-آرژینین و L-NAME (سیگما-آمریکا)، کتامین (Alfason-Holand) و دیاپام (شیمی‌دارو-ایران) مورد استفاده قرار گرفتند. مورفین در سالیین حل شده و با حجم ۱ ml/kg بصورت زیرجلدی مورد استفاده قرار گرفت. ال-آرژینین و L-NAME در سالیین استریل حل شده و با حجم ۱ ml/Rat بصورت دوطرفه به داخل ناحیه تگمتوم شکمی حیوانات تزریق می‌شد. گروه‌های کنترل در هر قسمت سالیین دریافت کردند. کتامین (۷۵-۵۰ mg/kg) و دیاپام (۷-۵ mg/kg) بصورت محلول و به حجم ۱ ml/kg بصورت داخل صفاقی مورد استفاده قرار گرفتند.

**جراحی.** برای تزریق داروهای ال-آرژینین و L-NAME به داخل ناحیه تگمتوم شکمی، حیوانات ابتدا با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (۷۵-۵۰ mg/kg) و دیاپام (۷-۵ mg/kg) بیهوش شده و مورد عمل جراحی قرار گرفتند و در این کار، دو عدد کانول راهنما از جنس استیل از سرسوزنهای شماره ۲۳ و بطول ۷/۶ میلی‌متر با استفاده از دستگاه استریوتاکسی در داخل ناحیه تگمتوم شکمی آنها بصورت دوطرفه قرار می‌گرفت. این کانولها توسط دو عدد پیچ عینک و با استفاده از آکریل دندانپزشکی در محل خود محکم می‌شدند. مختصات محل کارگزاری کانولها با استفاده از اطلس واتسون و پاکسینو به قرار زیر بود: AP: ۴/۸ از نقطه برگما، L: ۱/۲ از خط مرکزی و V: ۷/۶ از سطح جمجمه (اعداد به میلی‌متر هستند) بود. تزریق بداخل این ناحیه با یک کانول تزریق از جنس استیل به شماره ۳۰ و با طول ۸ میلی‌متر که به یک سرنگ هاملتون ۵ μl با استفاده از یک کانول پلاستیکی وصل بود انجام می‌گرفت (حجم تزریق ۰/۵ میکرولیتر در هر طرف بود).

پس از پایان آزمایشها، به منظور تعیین محل تزریق دارو، تعدادی از حیوانات کشته شده و مغز آنها به همراه جمجمه در داخل

متمایز بود. دوره آزمایش ترجیح مکان شرطی شده پنج روز بود که شامل مراحل زیر است:

**(الف) مرحله پیش شرطی‌سازی.** در اولین روز هر دوره که روز آشنائی نامیده می‌شود پس از برداشتن دریچه گیوتینی، هر حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه قرار گرفته تا آزادانه در دستگاه گردش کرده و با محیط آن آشنا شود. زمان سپری شده در هر قسمت دستگاه در این روز ثبت می‌شد. نتایج نشان داد که در این دستگاه حیوانات تمایل ذاتی به هیچکدام از دو قسمت نشان نمی‌دهند و بنابراین از روش غیر طرفدار (Un-Biased) برای ادامه کار استفاده شد. در این روش نیمی از حیوانات در هر سری در یک قسمت شرطی شده و نیم دیگر در طرف مقابل قرار داشتند (به این ترتیب طراحی بصورت متعادل (Cuonterbalance) بود).

**(ب) مرحله شرطی‌سازی.** برای اینکه حیوان را به مکان معینی شرطی کنیم، طی مدت سه روز بطور متناوب به آنها دارو تزریق می‌کردیم. به این ترتیب که در ساعت ۹ صبح روز دوم، پس از توزین حیوانات، مورفین را بصورت زیرجلدی به هر حیوان تزریق و پس از بستن دریچه گیوتینی آنها را به مدت ۴۰ دقیقه در یکی از دو قسمت دستگاه قرار می‌دادیم. شش ساعت بعد پس از توزین مجدد به حیوانات سالیین تزریق می‌کردیم و آنها را به مدت ۴۰ دقیقه در قسمت مخالف قرار می‌دادیم. در روز سوم زمان تزریق مورفین و سالیین بر عکس می‌شد (صبح سالیین و عصر مورفین). در روز چهارم زمان تزریقات مانند روز دوم بود.

**(ج) مرحله پس از شرطی‌سازی.** در روز پنجم آزمایشها (آخرین روز هر دوره آزمایش)، ابتدا دریچه گیوتینی برداشته می‌شد و سپس هر حیوان در داخل دستگاه قرار می‌گرفت و برای مدت ۱۰ دقیقه اجازه حرکت آزادانه در هر دو قسمت دستگاه را داشت. مدت زمان توقف هر حیوان در هر قسمت دستگاه ثبت شده و زمان توقف در قسمت دریافت دارو (Drug-Paired) از زمان توقف حیوان در قسمت دریافت سالیین (Saline-Paired) کم شده و به عنوان نمره شرطی شدن (Conditioning Score)، به عنوان نمادی از اثر دارو در القاء شرطی شدن در نظر گرفته می‌شد.

**روش القاء حساسیت داروئی به مورفین.** برای القاء حساسیت داروئی به مورفین ابتدا به حیوانات در سه روز متوالی در

چون دوز ۰/۵mg/kg مورفین جوابی را القاء نکرد، در قسمتهای بعدی آزمایش از این دوز بعنوان دوز غیر مؤثر استفاده گردید.

**بررسی اثر دوز غیر مؤثر مورفین در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین.**

این قسمت، دو گروه حیوان انتخاب شد. گروه اول در سه روز پیاپی مورفین (۵mg/kg) را بصورت زیر جلدی دریافت کردند. به این حیوانات پنج روز استراحت داده شد. در روزهای بعد، حیوانات با دوز غیر مؤثر مورفین (۰/۵ mg/kg) شرطی شدند. گروه کنترل در سه روز القاء حساسیت، سالیان را بصورت زیرجلدی دریافت کردند.

نتایج نشان داد که حیواناتی که در روزهای القاء حساسیت، مورفین دریافت کرده بودند، ترجیح مکان شرطی شده بسیار معنی داری نسبت به محل دریافت دوز غیر مؤثر مورفین از خود نشان دادند [ $t_{14}=3.15, P<0.01$ ] (شکل ۲).

**بررسی اثر تجویز داخل تگمتوم شکمی ال-آرژینین بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین.**

در این قسمت، چهار گروه حیوان مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات قبل از دریافت مورفین (۵mg/kg) سه روز متوالی (به منظور القاء حساسیت)، دوزهای مختلف ال-آرژینین (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۱۰ μg/rat) را بصورت داخل تگمتوم شکمی دریافت کردند.

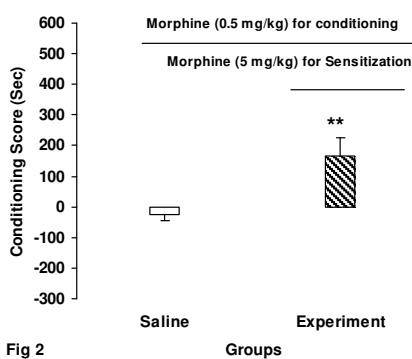


Fig 2

محللول فیکساتیو (فرمالین ۱۰٪) قرار می گرفت. پس از فیکساسیون، این مغزها برش داده شده و محل تزریق با استفاده از رنگ بلودومتیلین مشخص می شد و توسط یک کارشناس خبره مورد تایید قرار می گرفت.

**تجزیه و تحلیل دادهها.** اطلاعات بدست آمده بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد (Mean  $\pm$  SEM) نمره شرطی شدن بیان شدند. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و بدنبال آن تست توکی استفاده شد.  $P<0/05$  به عنوان سطح معنی دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

**یافتهها**

**القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی.**

در این آزمایش، موشها به هفت گروه تقسیم شدند. یک گروه سالیان (به روش ذکر شده در قسمت روشها) دریافت کرد و شش گروه دیگر دوزهای مختلف مورفین (۰/۵ mg/kg، ۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰) را به منظور القاء ترجیح مکان شرطی شده دریافت کردند. تجویز مورفین سبب افزایش زمان سپری شده در قسمت دریافت مورفین نسبت به زمان سپری شده در قسمت دریافت سالیان گردید (ترجیح مکان شرطی شده) [ $F(6,48)=2.05, P<0.05$ ] (شکل ۱).

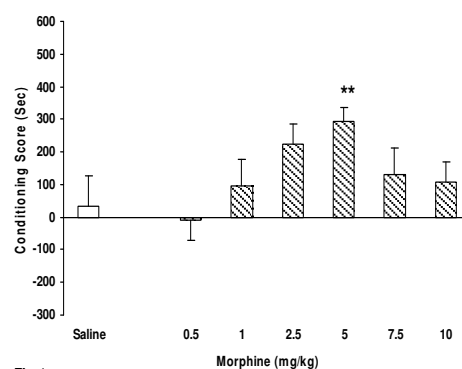


Fig 1

شکل ۲. تاثیر تجویز مکرر و منقطع مورفین در القاء حساسیت. حیوانات به روش گفته شده در متن، سه روز متوالی مورفین دریافت کرده و سپس پنج روز استراحت کردند. در روزهای نهم تا دوازدهم با دوز بی اثر مورفین شرطی شده و در روز تست بدون دریافت دارویی آزمایش شدند. گروه کنترل در سه روز اول بجای مورفین، سالیان دریافت می کردند.  $P<0/01$  \*\* نسبت به گروه کنترل می باشد.

شکل ۱. القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین در موشهای غیر حساس به مورفین. حیوانات به روشی که در قسمت روشها ذکر شد، در روزهای شرطی شدن دوزهای مختلف مورفین را دریافت کردند. در روز تست، این حیوانات بدون دریافت دارویی تست شدند.  $P<0/01$  \*\* نسبت به گروه کنترل می باشد.

**بررسی اثر تجویز داخل تگمتوم شکمی L-NAME بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین.** در این سری از آزمایشها نیز از دو دسته حیوان (هر دسته شامل چهار گروه) استفاده شد. حیوانات دسته اول (چهار گروه) قبل از دریافت مورفین (5mg/kg) در سه روز متوالی (به منظور القاء حساسیت)، دوزهای مختلف L-NAME (0.1، 0.3، 1.0، یا 3.0) را بصورت داخل تگمتوم شکمی دریافت کردند. این حیوانات سپس مراحل شرطی سازی را با دوز غیر مؤثر مورفین طی کرده و در روز تست بدون دریافت هر نوع دارویی تست شدند. نتایج نشان داد که تجویز داخل تگمتوم شکمی L-NAME باعث تغییری در کسب ترجیح مکان شرطی شده در حیوانات حساس به مورفین نمی شود [F(3,25)=0.3, P>0.05] (شکل ۴).

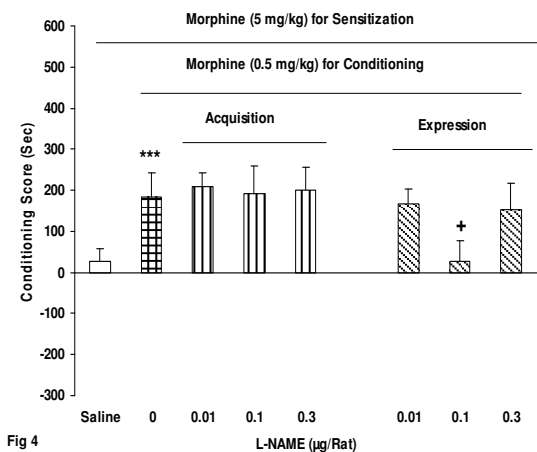


Fig 4

**شکل ۴. تاثیر تجویز داخل تگمتوم شکمی L-NAME بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای حساس به مورفین.** در قسمت کسب، حیوانات در روزهای شرطی سازی ۲۰ دقیقه قبل از دریافت مورفین، دوزهای مختلف L-NAME را دریافت کردند و در روز تست، بدون دریافت دارویی تست شدند. در قسمت بیان، حیوانات در روزهای شرطی سازی تنها مورفین دریافت کردند. در روز تست، ۲۰ دقیقه قبل از شروع آزمایشها، حیوانات دوزهای مختلف L-NAME را بصورت داخل تگمتوم شکمی دریافت کردند. همانگونه که در شکل پیداست، تجویز L-NAME نسبت به گروه کنترل تغییری را در کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای حساس به مورفین ایجاد نمی کند.  $P < 0.001$  نسبت به گروه سالیین و  $P < 0.05$  نسبت به گروه کنترل مورفین می باشد.

این حیوانات پس از پنج روز استراحت، مراحل شرطی سازی را با دوز غیر مؤثر مورفین طی کردند و در روز تست بدون دریافت هر نوع دارویی تست شدند. نتایج نشان داد که ال-آرژینین اثری بر کسب ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین ندارد [F(3,26)=1.16, P>0.05] (شکل ۳). در قسمت بیان نیز از چهار گروه حیوان استفاده شد. هر چهار گروه از حیوانات سه روز متوالی مورفین (5mg/kg) دریافت کردند و نسبت به مورفین حساسیت در آنها القاء شد. این حیوانات پس از پنج روز استراحت، مراحل شرطی سازی را با دوز غیر مؤثر مورفین طی کردند. در روز تست و ۱۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش به داخل ناحیه تگمتوم شکمی این حیوانات دوزهای مختلف ال-آرژینین (0.1، 0.3، 1.0، یا 3.0 µg/rat) تزریق شد. نتایج نشان داد که تجویز ال-آرژینین به داخل تگمتوم شکمی اثری بر بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین ندارد [F(3,27)=0.2, P>0.05] (شکل ۳).

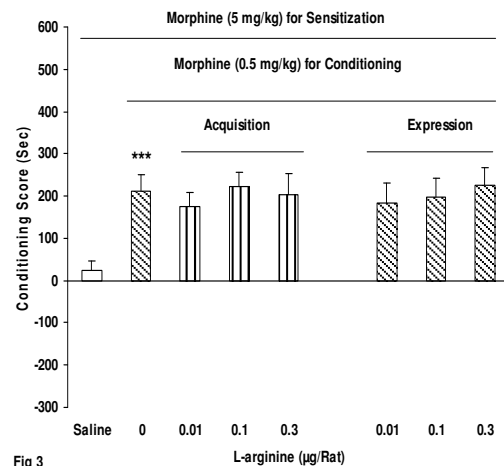


Fig 3

**شکل ۳. تاثیر تجویز داخل تگمتوم شکمی ال-آرژینین بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای حساس به مورفین.** در قسمت کسب، حیوانات در روزهای شرطی سازی ۲۰ دقیقه قبل از دریافت مورفین، دوزهای مختلف ال-آرژینین را دریافت کردند و در روز تست، بدون دریافت دارویی تست شدند. در قسمت بیان، حیوانات در روزهای شرطی سازی تنها مورفین دریافت کردند. در روز تست، ۲۰ دقیقه قبل از شروع آزمایشها، حیوانات دوزهای مختلف ال-آرژینین را بصورت داخل تگمتوم شکمی دریافت کردند. همانگونه که در شکل پیداست، تجویز ال-آرژینین نسبت به گروه کنترل تغییری را در کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای حساس به مورفین ایجاد نمی کند.  $P < 0.001$  نسبت به گروه سالیین می باشد.

گیرنده‌ها (مانند مسیر تولید آدنوزین-منو-فسفات حلقوی) نیز افزایش می‌یابد (۱۹). از سوی دیگر، مشخص شده است که در حساسیت دارویی، گیرنده‌های اوبیوئیدی هم دچار افزایش پاسخگوئی می‌شوند (۲۰). افزایش بیان ژن اوبیوئیدی‌های درون‌زاد مانند بتا-اندورفین (۲۰) و نیز مت و لو-انکفالین (۲۰) هم در نواحی مختلف مغز موشهای بزرگ و کوچک آزمایشگاهی حساس به مورفین گزارش شده است. علاوه بر این، افزایش فعالیت نورونهای گلوتاماتی (۱۷،۱۶،۱۰) و کاهش فعالیت گیرنده‌های گابا-ب در ناحیه تگمنتوم شکمی (۲۱) نیز در موشهای حساس به مورفین مشاهده شده است. تمامی این نتایج نشان می‌دهند که در هنگام بروز حساسیت، عوامل نوروترانسمیتری و سلولی با هم هماهنگ شده و موجود را در راه کسب ماده مخدر سوق می‌دهند. در آزمایش حاضر نیز مجموعه عواملی که نام برده شدند ممکن است در بروز حساسیت دارویی به مورفین دخالت داشته باشند.

در ادامه آزمایشها، اثر تجویز پیش‌ساز نیتریک اکساید (ال-آرژینین) به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای حساس شده به مورفین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تجویز ال-آرژینین اثر مشخصی را بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در حیوانات حساس شده به مورفین ندارد. به عبارت دیگر، افزایش نیتریک اکساید طبیعی در ناحیه تگمنتوم شکمی، حداقل در دوزهای بکار رفته در این تحقیق، نقشی را در بروز و یا ادامه یافتن حساسیت انگیزشی به مورفین بازی نمی‌کند. در تحقیقات قبلی معلوم شده که ال-آرژینین نقش جالبی را در بروز ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین بازی می‌کند. این ماده باعث بروز ترجیح مکان شرطی شده (۲۲) و نیز خود-تجویزی (۲۳) در موشهای بزرگ شده و تزریق آن به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را تقویت می‌کند (۶). از آنجا که در این تحقیق اثر نیتریک اکساید موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی بر حساسیت انگیزشی ناشی از مورفین بررسی شده است، شاید دلیل تفاوت این تحقیق با تحقیقات قبلی در این نکته باشد که در تحقیق قبلی با پدیده ترجیح مکان شرطی شده در حیوانات غیرحساس به مورفین مواجه

در دسته دوم، هر چهار گروه از حیوانات سه روز متوالی مورفین ( $\Delta mg/kg$ ) دریافت کردند و حساسیت به مورفین در آنها القاء شد. این حیوانات پس از پنج روز استراحت، مراحل شرطی‌سازی را با دوز غیر، مؤثر مورفین طی کردند. در روز تست و ۱۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی این حیوانات دوزهای مختلف L-NAME ( $0.1, 0.1, 0.3$   $\mu g/rat$ ) تزریق شد. نتایج نشان داد که تنها دوز L-NAME ( $0.1 \mu g/Rat$ ) قادر به کاهش بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین است [ $F(3,25)=2.39, P<0.05$ ] (شکل ۴).

## بحث

نقش نیتریک اکساید بر بروز حساسیت انگیزشی تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. در مطالعه حاضر اثر مهار سنتز نیتریک اکساید و نیز افزایش آن در ناحیه تگمنتوم شکمی بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین که می‌تواند نوعی از حساسیت انگیزشی باشد مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشهای ما نشان داد که تجویز مورفین در دوزهای کم، اثری بر القاء ترجیح مکان شرطی شده نداشت. این نتایج در مورد موشهایی که با تجویز منقطع مورفین نسبت به آن حساسیت پیدا کرده بودند، کاملاً معنی‌دار بود. نتیجه ما در این آزمایش با نتایج سایر محققان همخوانی دارد (۱۳-۱۵) و نشان می‌دهد که تجویز منقطع مورفین توانست حساسیت به این دارو را افزایش دهد به نحوی که دوزی از مورفین که در حیوانات عادی اثربخشی نداشت، در حیوانات حساس شده توانست ترجیح مکان شرطی شده معنی‌داری را القاء نماید. بروز حساسیت دارویی از عوامل مهم پاتوفیزیولوژی وابستگی دارویی محسوب شده و یکی از مهمترین دلایل بازگشت معتادان به مصرف مواد مخدر پس از ترک می‌باشد (۹،۱). علل و عوامل بروز این پدیده موضوع تحقیقات زیادی بوده است (برای مرور مراجعه کنید به: ۹، ۱۰، ۱۶، ۱۷) اما با این حال هنوز مکانیسمهای درگیر در این پدیده بخوبی شناخته نشده‌اند. تحقیقات نشان داده‌اند که در هنگام بروز حساسیت، تعداد گیرنده‌های دوپامینی و همچنین تمایل آنها برای اتصال به لیگاند افزایش می‌یابد (۱۸). از سوی دیگر، پاسخهای درون سلولی به تحریک این

مهار ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی (۷) اشاره کرده‌اند که با نتایج تحقیق حاضر تا حدودی همخوانی دارند. به هر حال، به نظر می‌رسد که محل اثر مهارگران آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز در مغز بر کاهش ترجیح مکان شرطی شده و نیز حساسیت رفتاری در جایی غیر از ناحیه تگمنتوم شکمی قرار دارد. اما نکته مهم در این تحقیق، اثربخشی L-NAME در مهار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای حساس به مورفین در هنگام تزریق این ماده به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی است. با توجه به نکاتی که در مورد تاثیر بروز حساسیت به مورفین بر نسبت تعداد گیرنده‌های آمپا به گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی بیان گردید، به نظر می‌رسد که عدم کارائی داروی L-NAME در مهار کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در حیوانات حساس به مورفین با این پدیده قابل توضیح باشد. از سوی دیگر، مهار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین توسط داروی L-NAME پدیده‌ای است که دلیل موجهی برای آن پیدا نشده است. در تحقیقات قبلی نیز L-NAME نتوانسته است از بروز خود-تجویزی مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر جلوگیری کند (۲۳). همچنین، این دارو توانائی مهار ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین را در موشهای کوچک آزمایشگاهی نداشته است (۲۷). به این ترتیب بایستی مهار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی حساس به مورفین با دقت بیشتر و در آزمایشهای آینده مورد بررسی قرار گیرد.

در نهایت، این تحقیق نشان داد که تجویز پیش‌ساز نیتریک اکساید و مهارگر سنتز آن در ناحیه تگمنتوم شکمی اثر چندانی بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین ندارند. این نتایج را می‌توان در ادامه و توسعه دهنده نتایج تحقیقات قبلی دانست که بر کاهش تعداد (و احتمالاً کارائی) گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی (که با تحریک سنتز نیتریک اکساید سروکار دارند) در ناحیه تگمنتوم شکمی در هنگام بروز حساسیت به مورفین (۱۷،۱۶) تاکید دارند. پیشنهاد آخر ما این است که تاثیر نیتریک اکساید بر حساسیت ناشی از مورفین را

بودیم و تنها تقویت مثبت مورفین مورد بررسی قرار می‌گرفت در حالیکه در این تحقیق اثر نیتریک اکساید در موشهای حساس به مورفین مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین، احتمال دارد که به دنبال استفاده منقطع از مورفین و القاء حساسیت، در ناحیه تگمنتوم شکمی تغییراتی به وجود آمده باشد که نتیجه این تغییرات کاهش عملکرد نیتریک اکساید باشد. در تحقیقات قبلی مشخص شده است که بروز حساسیت به مورفین با افزایش تعداد گیرنده‌های آمپا/کینات (AMPA/Kinate) و کاهش تعداد گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی در ناحیه تگمنتوم شکمی همراه است (۱۷،۱۶). از سوی دیگر، فعالیت نیتریک اکساید سنتتاز با فعالیت گیرنده‌های NMDA مرتبط است (۴). به این ترتیب به نظر می‌رسد که در هنگام بروز حساسیت به مورفین، کارائی سیستم نیتریک اکساید در ناحیه تگمنتوم شکمی کاهش می‌یابد و بنابراین، عملکرد ویژه‌ای از ال-آرژنین به عنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید دیده نمی‌شود. باید توجه داشت که حدود ۳۴٪ از نورونهای موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی در حالت عادی محتوی آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز هستند که آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید است (۲۴). اما اینکه در هنگام بروز حساسیت به مورفین نیز این امر صادق باشد، هنوز بررسی نشده است و می‌تواند موضوع تحقیقات بعدی باشد.

در قسمت دیگر این تحقیق، تجویز داروی L-NAME که به عنوان مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز شناخته می‌شود، باعث کاهش بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای حساس به مورفین گردید ولی بر کسب ترجیح مکان شرطی شده در این حیوانات بی‌اثر بود. در یک تحقیق نیز که قبلاً انجام شده است مشخص شده است که تجویز L-NAME به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی اثری را بر القاء ترجیح مکان شرطی شده ندارد (۲۲). همچنین، تجویز این دارو در ناحیه تگمنتوم شکمی اثری را بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای بزرگ آزمایشگاهی از خود نشان نداده است (۶). بر خلاف این تحقیقات، گزارشهایی نیز وجود دارند که بر توانائی مهارگران آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز در مهار حساسیت رفتاری ناشی از مورفین در موشهای کوچک (۲۵) و بزرگ آزمایشگاهی (۲۶) و نیز

1995; 53: 1013-1015.

8. Kelley AE, Berridge KC. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *The J Neurosci* 2002; 22: 3306-3311.

9. Robinson TE, Berridge KC. Addiction. *Annu Rev Psychol* 2003; 54: 25-53.

10. Everitt BJ, Wolf ME. Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. *The J Neurosci* 2002; 22: 3312-20.

11. Codani C, Di Chiara G. Reciprocal changes in dopamine responsiveness in the nucleus accumbens shell and core and in the dorsal caudate-putamen in rats sensitized to morphine. *Neuroscience* 1999; 90: 447-455.

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

13. Sahraei H, Barzegari AA, Zarrindast MR, Haeri-Rohani A, Ghoshooni H, Sepehri H, Salimi SH. Theophylline inhibits tolerance and sensitization induced by morphine: a conditioned place preference study in female mice. *Behav Pharmacol* 2006; 17: 621-628.

14. Carlezon JWA, Boundy VA, Haile CN, Lane SB, Kalb RG, Neve RL, Nestler EJ. Sensitization to morphine induced by viral-mediated gene transfer. *Science* 1997; 277: 812-814.

15. Shippenberg TS, Heidbreder C, Lefevour A. Sensitization to the conditioned rewarding effects of morphine: pharmacology and temporal characteristics. *Eur J Pharmacol* 1996; 299: 33-39.

16. Wolf ME. Addiction: making the connection

بایستی در نقاط دیگر دستگاه عصبی (شاید هسته آکومبانس) جستجو کرد.

**تقدیر و تشکر.** این مقاله قسمتی از نتایج حاصل از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) است. بدینوسیله از حمایت مرکز مذکور قدردانی می شود. محققان بر خود لازم می دانند تا از زحمات سرکار خانم مولود افشار هاشم خانی کمال تشکر را داشته باشند.

## References

1. Kalivas PW, Volkow ND. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry* 2005; 162: 1403-1413.

2. Koob GF, Le Moal M. Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science* 1997; 278: 52-58.

3. Pontieri FE, Tanda G, Di Chiara G. Intravenous cocaine, morphine and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens. *Proc Nat Acad USA* 1995; 92: 304-308.

4. Garthwaite J, Southam E, Anderton M. A kainite receptor, linked to nitric oxide synthesis from arginine. *J Neurochem* 1989; 53: 1952-1954.

5. Wiesinger H. Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Prog Neurobiol* 2001; 64: 365-391.

6. Gholami A, Zarrindast MR, Sahraei H, Haeri-Rohani A. Nitric oxide within the ventral tegmental area is involved in mediating morphine reward. *Eur J Pharmacol* 2003; 458: 119-128.

7. Kivastic T, Rutkauskaite J, Zharkovsky A. Nitric oxide synthesis inhibition attenuates morphine-induced place preference. *Pharmacol Biochem Behav*



- Between behavioral changes and neuronal plasticity in specific pathways. *Molecular Interventions* 2002; 2: 146-157.
17. Wolf ME. LTP may trigger addiction. *Molecular Interventions* 2003; 3: 248-253.
18. Narita M, Mizu K, Mizoguchi H, Sakata M, Narita M, Tseng LF, Suzuki T. Molecular evidence for the functional role of dopamine D3 receptor in the morphine-induced rewarding effect and hyperlocomotion. *The J Neurosci* 2003; 23 : 1006-1012.
19. Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. *The J Neurosci* 1992; 12: 2430-2450.
20. Vigano P, Rubino T, Di Chiara G, Ascari I, Massi P, Parolaro D. Mu-Opioid receptor signaling in morphine sensitization. *Neuroscience* 2003; 117: 921-929.
21. 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. *Addiction Biology* 2003; 8: 319-325.
22. Sahraei H, Pirzadeh-Jahromi G, Noorbakhshni M, Asgari A, Haeri-Rohani A, Khoshbaten A, Poorheidari GhR, Sepehri H, Ghoshooni H, Zarrindast MR. Involvement of nucleus accumbens in L-arginine-induced conditioned place preference in rats. *Behav Pharmacol* 2004; 15: 473-480.
23. Sahraei H, Poorheidari GR, Foadaddinin M, Khoshbaten A, Asgari A, Noroozadeh A, Ghoshooni H, Firoozabadi SH, Zarrindast MR. Effects of nitric oxide on morphine self-administration in rat. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 77: 111-116.
24. Rodrigo J, Springall DR, Uttenthal O, Bentura ML, Abadia-Molina F, Riveros-Moreno V, Martinez-Murillo R, Ploak JM, Moncada S. Localization of nitric oxide synthase in the adult rat brain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1994; 345: 175-221.
25. Atalla A, Kuschinsky K. Effects of glutamate NMDA receptors or of NO synthase on the development or the expression of associative or non-associative sensitization to locomotor activation by morphine. *Transm Neural J* 2006; 113: 1-10.
26. Zarrindast MR, Gholami A, Sahraei, H, Haeri-Rohani, A. Role of nitric oxide in the acquisition and expression of apomorphine- or morphine-induced locomotor sensitization. *Eur J Pharmacol* 2003; 482: 205-213.
27. Sahraei H, Falahi M, Zarrindast MR, Sabetkasaei M, Ghoshooni H, Khalili M. The effects of nitric oxide on the acquisition and expression of nicotine-induced place preference in mice. *Eur J Pharmacol* 2004; 503: 81-87.