

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

نویسندگان: مهناز رحیم پور^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

E-mail: karami@shahed.ac.ir

*نویسنده مسئول: دکتر منیژه کرمی

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 کاهش می‌دهد. 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 بررسی شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش‌ها روی موش بزرگ نر نژاد ویستار (g ۲۵۰-۲۰۰) انجام گرفت. حیوانات با دستگاه استروناکس 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 مرحله آشنایی، شرطی‌سازی و آزمون اجرا شد. 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 تزریق شد.

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

نتیجه‌گیری: نالوکسون به عنوان اگونیست گیرنده اپیویدی با مرفین در القای آثار رفتاری در مدل شرطی رقابت می‌کند و NO در هسته مرکزی آمیگدال با مرفین در بیان این آثار تداخل نشان می‌دهد. شاید مطالعه حاضر بتواند تداخل بین مرفین و NO هسته مرکزی آمیگدال را بر بیان رفتارهای جستجوی دارو تأیید کند.

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

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

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

مقدمه

ایستادن، بو کشیدن و تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی (فعالیت حرکتی) از جمله علائم رفتاری جستجوی دارو در مدل شرطی شده اند (۱). رفتار ایستادن در حیوان شرطی شده به واسطه سیستم های تنظیم کننده انگیزش و هیجان تعدیل می شود (۲). بو کشیدن، به ورود و خروج منظم هوا برای درک بو و رایحه اطلاق می گردد (۲). در سال ۱۹۶۴، Welker این گونه بیان کرد که بو کشیدن در حیوان زنده، رفتاری دینامیک است که با هماهنگی دقیق سایر سیستم های حرکتی انجام می شود و نقشی مهم در شکل دهی داده های بو برای پردازش با سیستم عصبی بازی می کند (۳). آلکالوئیدهای اپیویدی مانند مرفین، بی دردی را از طریق اثرگذاری بر آن نواحی مغز که پپتیدهایی با ویژگی های فارماکولوژیک شبه اپیوید دارند، القامی کنند (۴). آگونیست های اپیویدی از طریق اتصال با گیرنده های اختصاصی جفت شده با پروتئین G ایفای نقش می کنند که این گیرنده ها در مناطقی از مغز و نخاع و بافت های دیگر، شناسایی شده اند (۵). گیرنده های اپیویدی و لیگاند های پپتیدی درون زاد در سراسر دستگاه عصبی مرکزی (Central Nervous System) و بافت های محیطی (Peripheral Nervous System) توزیع شده اند و نقشی مهم در کنترل پاسخ های فیزیولوژیک مانند بی دردی، رفتار هیجانی، یادگیری، حافظه و تنظیم مدارهای پاداش برعهده دارند (۶). سیستم اپیویدی، سه گیرنده اصلی μ (میو)، κ (کاپا) و δ (دلتا) دارد که پپتیدهای اپیویدی درون زاد این گیرنده ها را فعال می کنند (۷). تجویز مکرر دوزهای درمانی مرفین یا مشتق های آن باعث می گردد که این مخدرها به تدریج، اثرشان را از دست بدهند (بنابراین برای دستیابی به پاسخ اولیه، مقادیر بیشتری از دارو باید تجویز شود) که این پدیده، تحمل (Tolerance) نام دارد (۸). در این حالت، وابستگی دارویی به اپیویدها با یک سندرم ترک یا پرهیزی به نسبت اختصاصی مشخص می شود (۵). نالوکسون دارویی است که برای درمان تحمل اپیویدی (اور دوز مرفین یا

هروئین) استفاده می شود و تیمار هم زمان مرفین و دوز بسیار پایین نالوکسون، تحمل و وابستگی اپیویدی را در اثر جلوگیری از تغییرهای سیگنالینگ تحریکی اپیویدها کاهش می دهد که این اثر به واسطه تمایل بسیار بالای نالوکسون در واکنش با گیرنده μ ایجاد می شود (۷). آمیگدال در تشخیص احساس های منفی مانند ترس، ارتباط بین محرک های محیطی و احساس ها و پردازش داده های 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 در نظر گرفتن تداخل این سیستم با مرفین در بیان ویژگی های پاداشی مرفین و نیز با توجه به اهمیت آمیگدال در بیان سندرم ترک القاء شده با نالوکسون (10)، چنین فرض می شود 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-آرژنین و L-NAME به هسته مرکزی آمیگدال در بیان پاسخ های رفتاری القاء شده با مرفین در مدل شرطی که با یک تزریق منفرد نالوکسون مزدوج گردیده، بررسی شد.

مواد و روش ها

آزمایش ها روی موش های بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار که در شروع جراحی، میانگین وزن آنها بین ۲۰۰-۲۵۰ گرم بود صورت گرفت؛ این حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه و به صورت گروه های چهارتایی تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی با دوره روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و در تمام مدت آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی آسان داشتند. حیوانات، به منظور ایجاد سازگاری با شرایط جدید، دست کم یک هفته زودتر از شروع آزمایش ها به آزمایشگاه منتقل شدند. برای هر گروه تجربی، حداقل شش سر حیوان در نظر گرفته و هر حیوان، فقط یک بار آزمایش شد. آزمایش ها بین ساعت ۸ صبح تا ۵ بعد از ظهر انجام گرفت. مواد مورد استفاده عبارت بودند از: مرفین

نالوکسون (آنتاگونیست رقابتی گیرنده‌های اپیویدی) روی بیان علائم رفتاری بررسی شد. پنج گروه از حیوانات طی برنامه‌ای سه روزه شرطی‌سازی، به صورت زیر جلدی دوز موثر مرفین (7/5 mg/kg) را دریافت کردند ولی ۱۰ دقیقه قبل از آزمون، نالوکسون به صورت داخل صفاقی (0/4-0/1 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 تجزیه و تحلیل 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 دریافت کردند. در روز آزمون، تزریق داخل هسته‌ای مقادیر مختلف L-آرژینین (3-0/3 μg/rat) مقدم بر تزریق داخل صفاقی دوز مؤثر نالوکسون (0/4 mg/kg) روی سه گروه انجام گرفت و یک گروه نیز در مقام گروه کنترل (بدون دریافت L-آرژینین) در نظر گرفته شد. حیوانات پس از ۱۰ دقیقه، تحت آزمون واقع شدند و علائم رفتاری همه گروه‌ها سنجش و ارزیابی شد.

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 دریافت کردند. در روز آزمون، مقادیر مختلف L-NAME (3-0/3 μg/rat) به صورت داخل مغزی، مقدم بر L-آرژینین (3 μg/rat) و پیش از تزریق نالوکسون (0/4 mg/kg) روی سه گروه از حیوانات انجام شد و گروه چهارم در جایگاه گروه کنترل (بدون دریافت L-NAME) در نظر گرفته شد. همه گروه‌ها پس از ۱۰ دقیقه به مرحله آزمون وارد شدند و علائم رفتاری آنها برای تجزیه و تحلیل، ثبت و ذخیره گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به علائم رفتاری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و پس از تست نرمالیتی Smirnov Kolmogorov تحت تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و

سولفات (خریداری شده از شرکت تماد با مجوز رسمی وزارت بهداشت)، کتامین و زایلین (تهیه شده از سازمان دامپزشکی کشور)، نالوکسون هیدروکلراید (خرید از شرکت تولید دارو)، L-آرژینین (تهیه شده از شرکت Merck) و L-NAME (خریداری شده از Research Biomedical Inc. USA). به غیر از نالوکسون، کتامین و زایلین که به صورت ویال تهیه شدند، کلیه داروها قبل از مصرف در سالین ۰/۹ درصد حل شدند. به منظور جراحی و کانول‌گذاری، ابتدا هر حیوان به دقت وزن و سپس با تزریق درون صفاقی کتامین (100 mg/kg) و زایلین (20 mg/kg) بی‌هوش گردید؛ آنگاه حیوان با استفاده از دستگاه استریوتاکس (خرید از شرکت Stoelting, USA) و مختصات هسته مرکزی آمیگدال بر اساس اطلس پاکسینو [2/12 mm = (AP) از برگما، 4/2 mm = ± (ML) از خط وسط و از سطح جمجمه -7/8mm = (DV)]، در ناحیه آمیگدال مرکزی کانول‌گذاری شد. همه حیوانات جراحی شده قبل از آزمون CPP، یک هفته دوره بهبود را گذراندند. دستگاه CPP از جنس چوب و دو قسمتی طراحی گردید 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 اجرا گردید (۱۱).

بررسی آثار مرفین، روی علائم رفتاری در مدل شرطی: چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلف مرفین (10-2/5 mg/kg) را به صورت زیر جلدی دریافت کردند و یک گروه نیز به منظور 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 تجزیه و تحلیل گردید.

بررسی آثار تداخل نالوکسون و مرفین، روی علائم رفتاری: آثار تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف

بوکشیدن دارد؛ همچنین اثر مرفین بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی معنی دار [$F_{4,25}=2.992$; $p<0.01$] است و بررسی بیشتر با آزمون LSD حاکی از آن است که نالوکسون در تمام مقادیر نسبت به گروه کنترل، اثر کاهشی معنی داری بر بیان این رفتارها دارد.

آثار تزریق مستقیم L- آرژینین، روی علائم رفتاری در حیوان شرطی شده با مرفین جدول ۳، پاسخ L- آرژینین ($3-0.3 \mu\text{gr}/\text{rat}$) را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی نشان می دهد.

آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از آن است که L- آرژینین اثری معنی دار را بر ایستادن و بوکشیدن نشان نمی دهد ($p>0.05$) ولی اثر L- آرژینین بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی معنی دار [$F_{3,20}=2.934$; $p<0.01$] است؛ همچنان که، در بررسی بیشتر با آزمون LSD نشان داده می شود L- آرژینین در بعضی از مقادیر (3 و $0.3 \mu\text{gr}/\text{rat}$) نسبت به گروه کنترل اثر افزایشی معنی داری را بر بیان این رفتار آشکار می کند.

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

جدول ۴، پاسخ L-NAME ($3-0.3 \mu\text{gr}/\text{rat}$) را در بیان علائمی مثل ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی نشان می دهد.

آنالیز واریانس یک طرفه نشان می دهد که L-NAME اثری معنی دار بر ایستادن و بوکشیدن ندارد ($p>0.05$) ولی اثر L-NAME بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی معنی دار [$F_{3,20}=6.728$; $p<0.01$] است و آزمون LSD نشان دهنده آن است که L-NAME در مقادیر مختلف (3 و $0.3 \mu\text{gr}/\text{rat}$)، بیان این رفتارها را متوقف می کند.

برای تحلیل بیشتر داده ها از آنالیزهای Post hoc جمله آزمون LSD استفاده شد و در همه موارد $p<0.05$ در مقام اختلافی معنی دار در نظر گرفته شد. محاسبات آماری با کمک نرم افزار Gstate و SPSS انجام گرفت.

یافته ها

آثار مرفین بر بیان رفتارهای جستجوی دارو در مدل شرطی

جدول ۱، پاسخ مرفین ($10-2/5 \text{ mg}/\text{kg}$, s.c) را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی نشان می دهد.

آنالیز واریانس یک طرفه نشان می دهد که مرفین بر ایستادن اثری معنی دار [$F_{4,25}=9.868$; $p<0.0001$] دارد. بررسی بیشتر با آزمون LSD نشان می دهد که مرفین در تمام مقادیر نسبت به گروه کنترل، کاهشی معنی دار را بر بیان این رفتار آشکار می سازد. اثر مرفین بر بوکشیدن، اثری معنی دار [$F_{4,25}=3.395$; $p<0.01$] است و آزمون LSD حاکی از آن است که دوز بالای مرفین ($10 \text{ mg}/\text{kg}$)، نسبت به گروه کنترل کاهشی معنی دار بر بیان این رفتار نشان می دهد. اثر مرفین بر تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی نیز معنی دار [$F_{4,25}=5.816$; $p<0.001$] است و بررسی بیشتر با آزمون LSD حاکی از آن است که مرفین در مقادیر مختلف (10 ، $7/5$ ، $2/5 \text{ mg}/\text{kg}$) نسبت به گروه کنترل بر این رفتار، کاهشی معنی دار دارد.

آثار تداخل نالوکسون و مرفین در بیان علائم رفتاری جستجوی دارو

جدول ۲، پاسخ نالوکسون ($8-0.8 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p) را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی نشان می دهد.

آنالیز واریانس یک طرفه نشان دهنده آن است که نالوکسون اثری معنی دار [$F_{4,25}=9.615$; $p<0.0001$] بر ایستادن و نیز اثری معنی دار [$F_{4,25}=7.88$; $p<0.001$] بر

جدول ۱. علائم رفتاری القایی مرفین

Compartment entering (No./15 min)	Sniffing (No./15 min)	Rearing (No./15 min)	Morphine (mg/kg)
۳/۱۷±۲۱/۲۵	۱/۲۵±۱۲/۷۵	۲/۸۴±۴۳/۵۰	۰
۱/۴۴±۱۰/۵۰	۱/۵۸±۹	*۴/۸۴±۱۹	۲/۵
۱/۳۲±۱۷/۵۰	۱/۸۸±۱۱/۷۵	*۲/۸۵±۳۳	۵
**۱/۱۰±۱۲/۲۵	۲/۵۹±۱۴/۷۵	**۲/۶۷±۲۶	۷/۵
۱/۸۴±۱۱/۲۵	*۱/۰۴±۶/۵۰	*۲/۳۴±۲۰	۱۰

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 مقایسه بین گروهی به کمک آزمون LSD انجام شده است:

جدول ۲. علائم رفتاری القایی نالوکسون در مدل شرطی

Compartment entering (No./15 min)	Sniffing (No./15 min)	Rearing (No./15 min)	Morphine(7/5mg/kg)+ Naloxone (mg/kg)
۱/۱۰±۱۲/۲۵	۲/۵۹±۱۴/۷۵	۲/۶۷±۲۶	۰
*۱/۲۲±۶۶	**۱/۳۵±۴	***۲/۱۷±۶/۷۵	۰/۱
*۳/۱۹±۴/۷۵	***۱/۰۴±۲/۵۰	***۴/۳۹±۷/۵۰	۰/۲
*۱/۸۹±۴/۵۰	**۲/۶۷±۵	***۲/۰۴±۵	۰/۳
*۱/۵۴±۴/۲۵	***۰/۷۰±۲	***۲/۳۹±۶/۵۰	۰/۴

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 مقایسه بین گروهی به کمک آزمون LSD انجام شده است

جدول ۳. اثر L- آرژینین، روی علائم رفتاری در مدل شرطی

Compartment entering (No./15 min)	Sniffing (No./15 min)	Rearing (No./15 min)	Morphine(7/5mg/kg)+ Naloxone(0/4mg/kg)+ L-arginine (μgr/rat)
۱/۵۴±۴/۲۵	۰/۷۰±۲	۲/۳۹±۶/۵۰	۰
*۸/۳۲±۲۰	۲/۰۸±۸	۱۰/۸۳±۲۴/۳۳	۰/۳
۴/۴۸±۱۰/۶۶	۱/۵۲±۶	۳/۷۵±۸/۶۶	۱
*۲/۰۰±۲۲	۷/۰۰±۱۲	۰/۵۰±۱۹/۵۰	۳

*p<0.05 مقایسه بین گروهی به کمک آزمون LSD انجام شده است:

جدول ۴. اثر L-NAME روی علائم رفتاری در مدل شرطی

Compartment entering (No./15 min)	Sniffing (No./15 min)	Rearing (No./15 min)	L-arginine (0/3μgr/rat)+ L-NAME (μgr/rat)
۲/۰۰±۲۲	۷/۰۰±۱۲	۰/۵۰±۱۹/۵۰	۰
*۴/۰۰±۷	۶	۴/۵۰±۶/۵۰	۰/۳
۴/۰۰±۱۳	۰/۵۰±۱۲/۵۰	۳/۵۰±۱۴/۵۰	۱
*۲/۵۰±۲/۵۰	۳/۵۰±۴/۵۰	۷/۰۰±۸	۳

*p<0.05 مقایسه بین گروهی به کمک آزمون LSD انجام شده است:

بحث

در این تحقیق، نقش نیتریک اکساید (NO) داخل هسته مرکزی آمیگدال (CeA) بر بروز علائم رفتاری القاء شده با مرفین با استفاده از دستگاه شرطی سازی (CPP) و نیز به کمک ثبت خودکار علائم رفتاری مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت شرطی دستگاه در روز آزمون بررسی شد؛ نتیجه تحقیق حاکی از تأثیر مرفین بر علائم رفتاری ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی، در حیوان شرطی شده نسبت به گروهی است که سالین دریافت کرد و اینکه مرفین، کاهش فعالیت حرکتی (تردد بین دو بخش دستگاه) در حیوان را موجب شد که این یافته با نتایج مطالعات قبلی (۱) مطابقت دارد. یافته‌ها نشان می‌دهد 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 عهده دارد. نالوکسون در مقام آنتاگونیست اپیویدی 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 شرطی شده کاهشی معنی‌دار پیدا کرد، اما اثر نالوکسون بر فعالیت حرکتی، تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی، اثری وابسته به دوز داشت. دوز پایین نالوکسون (0.1 mg/kg, i.p)، افزایش تردد را بین دو بخش دستگاه باعث گردید؛ حال آنکه دوزهای بالاتر نالوکسون (0.1 mg/kg, i.p)، کاهش این فعالیت را موجب شد؛ از این یافته‌ها می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که به احتمال زیاد نالوکسون در دوز پایین (0.1 mg/kg) با انواع دیگری از گیرنده‌های اپیویدی مانند κ واکنش داده است (۱۳) یا اینکه شاید ساختارهای مولکولی متعددی فعال گردیده است که در حال حاضر با این یافته‌ها درباره آنها نمی‌توان اظهار نظر کرد و لازم است تا مطالعات آتی در

سطح مولکولی برای بیان و تفسیر این بخش از یافته‌ها به خدمت گرفته شود؛ اما نالوکسون در مقادیر بالاتر ($0.2-0.4 \text{ mg/kg}$)، احتمال دارد که مسدود شدن گیرنده μ را سبب شده باشد (۱۷).

فعالیت هر دو گیرنده μ و κ ، هیپرپلاریزاسیون نرون در نواحی مختلف مغزی و مهار آنزیم آدنیلات سیکلاز را موجب می‌گردد (۱۴). مطابق یافته‌های قبلی، گیرنده μ موجب هیپرپلاریزاسیون نرون‌های حد واسط غیر دوپامینی، گابا آرژیک، در ناحیه تگمنتوم شکمی شده، از این طریق با تحریک نرون‌های دوپامینرژیک این ناحیه، ترشح دوپامین را در هسته آکومبنس افزایش می‌دهد در حالی که فعالیت گیرنده κ از طریق ارتباط پیش‌سیناپسی با نرون دوپامینرژیک منشعب شده از ناحیه تگمنتوم شکمی، مهار ترشح دوپامین در هسته آکومبنس را سبب می‌شود (۱۵). پس از فعال شدن گیرنده‌های گلوتاماتی به ویژه NMDA (N-methy-d-aspartate)، ورود کلسیم به داخل سلول و سپس فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سینتاز وابسته به کلسیم - کالمودولین اتفاق افتاده، رهایش نیتریک اکساید (NO) به فضای سیناپسی صورت می‌گیرد (۱۶) و تأثیر NO بر نرون پیش‌سیناپسی، رهایش بیشتر گلوتامات را باعث می‌شود (۱۷). افزایش نیتریک اکساید در هسته مرکزی آمیگدال در ترجیح مکانی القاء شده با مرفین نقش دارد (۱۸).

خروجی‌های گلوتاماترژیک آمیگدال به هسته آکومبنس، وابستگی به مرفین را سبب می‌شود (۱۰) و نیز خروجی‌های گلوتاماترژیکی که به تگمنتوم شکمی وارد می‌شوند و سپس به آمیگدال می‌رسند در بیان وابستگی به مرفین نقش دارند (۱۹).

در این تحقیق، از L- آرژینین در مقام پیش ساز NO و از L-NAME در جایگاه مهارگر NOS استفاده شد و تأثیرشان بر علائم رفتاری پاداشی مرفین ارزیابی شد. تزریق دوطرفه مقادیر مختلف L- آرژینین ($3 \mu\text{g/rat}$)

منابع

- 1- Azorlosa JL, Simone 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 filament 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, Sento 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.
- ۰/۳ و ۰/۳-۳ (۰/۳-۳ μg/rat) L-NAME آمیگدال مرکزی، مقدم بر تزریق دوز مؤثر نالوکسون (۰/۳-۳ mg/kg, i.p.) اثری معنی دار را روی علائم رفتاری ایستادن و بوکشیدن نشان نداد اما بعضی از مقادیر L- آرژینین فعالیت حرکتی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی را افزایش داد درحالی که، تزریق L-NAME مقدم بر- آرژینین اثر عکس روی این فرایند نشان داد و این امر با مطالعات قبلی (۲۰) مطابقت می کند.
- با در نظر گرفتن آثار عوامل نیتریک اکساید روی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی که به طور کامل معنی دار است این احتمال وجود دارد که سیستم نوروترانسمیتری NO در سطح هسته مرکزی آمیگدال با سیستم های تنظیم کننده فعالیت های حرکتی مانند سیستم دوپامینرژیک و گاباارژیک (۲۱)، برهمکنشی داشته باشد که این یافته با تحقیق های قبلی (۲۲) مطابقت دارد.

نتیجه گیری

این یافته ها حاکی از آن اند که به احتمال زیاد، نیتریک اکساید ناحیه هسته مرکزی آمیگدال، در شکل گیری علائم رفتاری ایستادن و بوکشیدن نقشی مهم را ایفاء نمی کند و بنابراین محتمل است که در این امر، ساختارهای مولکولی دیگری درگیر باشند اما فعالیت حرکتی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی در حیوان شرطی شده با مرفین که تحت تداخل نالوکسون واقع شده است احتمال دارد با سیستم نوروترانسمیتری NO تنظیم شود.

سپاسگزاری

از آنجا که بخشی از هزینه این تحقیق از محل بودجه پروپوزال های کارشناسی ارشد دانشگاه شاهد تأمین گردید، نویسندگان لازم می دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه و مسئولان ذی ربط قدردانی کنند.

- 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 addiction. *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.