

## تفاوت شدت علایم سندرم قطع در بعضی از روش های ایجاد وابستگی به مرفین

علی شمسی زاده<sup>۱</sup> وحید شبیانی<sup>۲</sup> غلامرضا سپهری<sup>۲</sup> افروز آذرنگ<sup>۲</sup> آذر نامجو<sup>۲</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** در این مطالعه شدت وابستگی فیزیکی به مرفین (با بررسی علائم سندرم قطع)، میزان مرگ و میر و تغییرات وزن در برخی از روش های رایج القاء وابستگی به مرفین با هم مقایسه شده اند.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه شش روش شایع ایجاد وابستگی به مرفین انتخاب شدند. در تمام این روش ها وابستگی به مرفین در موش های وستار نر مورد بررسی قرار گرفت. در تمام این روش ها وابستگی به مرفین با تزریق مکرر مرفین انجام شد. علائم سندرم قطع در تمام گروه ها در روز آخر تزریق و چهار ساعت پس از مصرف آخرین دوز مرفین به مدت ۲۰ دقیقه بررسی شد. این علائم شامل پرش عمودی، اسهال، دندان قروچه، پتوز، تکان دادن سر، تکاندن بدن مثل سگ خیس و ایستادن روی دو پا هستند.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که در همه گروه ها متعاقب مصرف نالوکسان تمامی علائم سندرم قطع آشکار خواهند شد اما به هرحال شدت بروز این علایم (پرش عمودی، اسهال، دندان قروچه، تکان دادن سر، تکاندن بدن مثل سگ خیس و ایستادن روی دو پا) در گروه های مختلف متفاوت بود. همچنین میزان مرگ و میر و تغییرات وزن نیز در گروه های مختلف متفاوت بود.

**استنتاج:** به طور خلاصه نتایج این مطالعه نشان داد که روش های متفاوت ایجاد وابستگی به مرفین منجر به درجات متفاوتی از علائم و رفتارهای سندرم قطع، مرگ و میر و تغییرات وزن می شود.

**واژه های کلیدی:** وابستگی به مرفین، علایم سندرم قطع، نالوکسان

### مقدمه

برگشت پذیر است که در آن تمایل به مصرف اپیوئیدها افزایش می یابد (۱). تاکنون امکان استفاده از اثرات ضد دردی اپیوئیدها بدون ایجاد عارضه وابستگی ممکن نشده است (۱، ۲). به همین خاطر القای وابستگی به مرفین در جوندگان به عنوان یک مدل، جهت مطالعه مکانیسم های

روند استعمال مواد افیونی با سیر صعودی همراه است و منجر به یک معضل اجتماعی شده است. شناخت دقیق مکانیسم های ایجاد وابستگی فیزیکی و روانی به مواد مخدر به یافتن راه های پیشگیری از اعتیاد کمک می کند. وابستگی به اپیوئیدها یک اختلال مزمن و

E-mail: [alishamsy@gmail.com](mailto:alishamsy@gmail.com)

**مؤلف مسئول:** علی شمسی زاده - رفسنجان: دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان و مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۸/۴/۹ تاریخ تصویب: ۸۸/۵/۹

سه تایی و در دمای  $1 \pm 25$  درجه سانتیگراد و در سیکل روشنی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات از مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان تهیه شدند. کلیه آزمایش‌ها در زمان چرخه روشنایی انجام شد. غذا و آب بطور آزاد در دسترس حیوان‌ها قرار داشت. حیوان‌ها به صورت تصادفی به گروه‌های آزمایشی تقسیم شدند. تعداد حیوان‌ها در هر گروه ۱۵-۱۰ سر بود. در انتهای آزمایش‌ها هر موش با تزریق دوز بالای تیوپنتال کشته شد. تمام آزمایش‌های انجام شده تحت نظر کمیته اخلاق مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان بود (مجوز شماره EEC/۹۰۶/۸۶).

#### ب- داروها:

سولفات مرفین (تهیه شده از شرکت دارو پخش) در سرم فیزیولوژیک حل شد. هیدرو کلرید نالوکسان (تهیه شده از شرکت دارو پخش ایران) به فرم آمپول‌های تزریقی ( $0.4 \text{ mg/ml}$ ) تهیه شد.

#### ج- روش استفاده از مرفین

از میان روش‌های تزریقی ایجاد وابستگی به مرفین ۶ روش رایج انتخاب شد که جزییات این روش‌ها به شرح زیر است:

روش ۱: در این روش مرفین بصورت داخل صفاقی با دوز پلکانی افزایش یابنده  $50 \text{ mg/kg}$  -  $10$  بصورت دوبار در روز و بمدت ۵ روز تزریق شد. روش استفاده به این ترتیب بود که در روز اول مرفین با دوز  $10 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۸ صبح و ۴ عصر تزریق شد. در روز دوم با دوز  $20 \text{ mg/kg}$ ، در روز سوم با دوز  $30 \text{ mg/kg}$ ، در روز چهارم با دوز  $40 \text{ mg/kg}$  و در روز پنجم با دوز  $50 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۸ صبح و ۴ عصر تزریق شد (۱۴).

روش ۲: در این روش مرفین با دوز پلکانی افزایش یابنده  $40 \text{ mg/kg}$  -  $10$  به صورت زیر جلدی به مدت ۵ روز تزریق شد. مرفین در روز اول با دوز  $10 \text{ mg/kg}$ ، روز دوم با دوز  $20 \text{ mg/kg}$ ، روز سوم با دوز  $30 \text{ mg/kg}$ ،

وابستگی به اپیوئیدها، عوارض جانبی مصرف آن‌ها و عوارض سندرم قطع اپیوئیدها رایج است. برای القای وابستگی فیزیکی از روش‌های متفاوتی مثل استفاده از قرص‌های مرفینی (۳-۵)، تزریق مرفین (۶-۹) و مصرف خوراکی مرفین (۱۰، ۱۱) استفاده می‌شود.

یکی از عوامل مهم در انتخاب روش القای وابستگی میزان، مرگ‌ومیر و مدت زمان لازم جهت ایجاد وابستگی است (۱۱). میزان مرگ و میر به خصوص در حیواناتی که در آنها جراحی‌های مختلف مانند کانول گذاری و... انجام می‌شود، اهمیت بیشتری می‌یابد. روش‌های متفاوت تزریقی استفاده شده توسط محققان جهت ایجاد وابستگی به مرفین در فاکتورهای مثل دوز اولیه تزریق، دوز انتهایی تزریق، مدت زمان دریافت دارو، فرکانس تزریق و روش تزریق (زیر جلدی، صفاقی و...)، با هم با یکدیگر تفاوت دارند. گزارشاتی مبنی بر اینکه شدت وابستگی فیزیکی تحت تاثیر عواملی مانند دوز، فرکانس و مدت زمان مصرف خوراکی مرفین قرار دارد، موجود است (۱۲، ۱۳). بنابراین ممکن است که روش مصرف مرفین بر شدت علایم وابستگی فیزیکی موثر باشد.

اطلاعات کمی در مورد مقایسه شدت علایم سندرم قطع ناشی از وابستگی به مرفین، میزان مرگ و میر و تغییرات وزن در روش‌های متفاوت تزریقی مرفین وجود دارد. اخیراً سپهری و همکارانش میزان مرگ و میر را در ۵ روش ایجاد وابستگی به مرفین مقایسه کرده‌اند و نشان داده‌اند که در روش‌های متفاوت، ایجاد وابستگی متفاوت است (۱۱). مطالعه حاضر جهت بررسی شدت وابستگی فیزیکی (با اندازه گیری علایم سندرم قطع)، میزان مرگ و میر و تغییرات وزن در برخی از رایج ترین روش‌های تزریقی ایجاد وابستگی به مرفین طراحی و انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### الف- حیوان‌ها

در این مطالعه از موش‌های نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در قفس‌های

(teeth chattering)، پتوز (ptosis)، تکان دادن سر (head shake)، تکاندن بدن مثل سگ خیس (Wet dog shake) و علامت ایستادن روی دو پا (rearing) هستند (۱۸). در تمام روش‌ها علائم سندرم قطع ارزیابی شد. وزن حیوان‌ها در همه گروه‌ها در روز اول و آخر ثبت شد. میزان مرگ و میر نیز اندازه‌گیری شد.

#### ارزیابی آماری

داده‌ها با کمک نرم افزارهای excel و SPSS آنالیز شدند. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شده است. اختلاف داده‌های به دست آمده در گروه‌های مختلف با کمک آزمون one-way ANOVA followed by tuckey post hoc ارزیابی شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انتخاب شد.

#### یافته‌ها

در ابتدا علائم سندرم قطع در هر گروه آزمایشی با حیوان‌های کنترل همان گروه مقایسه شدند. در تمامی گروه‌ها تزریق مرفین منجر به القای علائم سندرم قطع شد که این علائم به صورت معنی‌داری بیشتر از حیوانات گروه کنترل بود (نتایج نشان داده نشده‌اند) (t-test all  $P < 0.05$ ).

نمودار شماره ۱ میزان پرش عمودی را در گروه‌های مختلف آزمایشی نشان می‌دهد. میزان پرش عمودی در گروه‌های مختلف متفاوت بود ( $P < 0.05$ ). به طوری که گروهی که مرفین را طبق روش ۱ (مواد و روش‌ها) دریافت کرده بودند، بیشترین پرش را داشتند ( $2/04 \pm 11/5$ ). این مقدار در گروهی که مرفین را طبق روش ۳ دریافت کرده بودند حداقل بود ( $3 \pm 0/5$ ).

مقایسه علامت تکاندن بدن مثل سگ خیس در گروه‌های مختلف نشان داد که بیشترین تعداد این رفتار در گروهی که مرفین را با دوز پلکانی طبق روش ۱ دریافت کرده بودند، دیده شد ( $2 \pm 11/3$ ). کمترین میزان این رفتار در گروهی که مرفین را طبق روش

روز چهارم و پنجم با دوز  $40 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۸ صبح به صورت زیر جلدی یک بار در روز تزریق شد (۷).

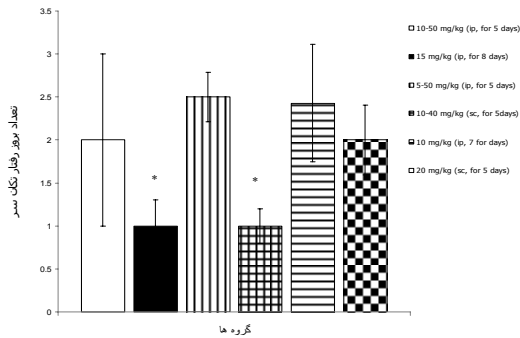
روش ۳: در این روش مرفین با دوز پلکانی افزایش یابنده  $50 \text{ mg/kg}$  - ۵ به صورت داخل صفاقی دو بار در روز، به مدت پنج روز استفاده شد. در روز اول مرفین با دوز  $5 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۸ صبح و با دوز  $10 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۴ عصر تزریق شد. در روز دوم مرفین با دوز  $15 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۸ صبح و با دوز  $20 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۴ عصر تزریق شد. در روز سوم با دوز  $25 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۸ صبح و با دوز  $30 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۴ عصر تزریق شد. در روز چهارم مرفین با دوز  $35 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۸ صبح و با دوز  $40 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۴ عصر و در روز پنجم با دوز  $45 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۸ صبح و با دوز  $50 \text{ mg/kg}$  در ساعت ۴ عصر تزریق شد (۹).

روش ۴: در این روش مرفین با دوز ثابت  $20 \text{ mg/kg}$  روزانه یک بار و به مدت پنج روز به صورت زیرجلدی استفاده شد (۸).

روش ۵: در این روش مرفین با دوز ثابت  $10 \text{ mg/kg}$  روزانه یک بار و به مدت ۷ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۵).

روش ۶: در این روش مرفین با دوز ثابت  $15 \text{ mg/kg}$  روزانه یک بار و به مدت ۸ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۶).

حیوان‌های گروه کنترل، سرم فیزیولوژیک را بر اساس همان الگوی مصرف مرفین در هر روش دریافت می‌کردند. در روز آخر در تمام روش‌های مصرف مرفین ۴ ساعت پس از آخرین تزریق مرفین، علائم سندرم قطع با تزریق  $4 \text{ mg/kg i.p}$  نالوکسان القاء شده و به مدت ۲۰ دقیقه پس از مصرف نالوکسان اندازه‌گیری شد (۱۷). علائم سندرم قطع شامل پرش عمودی (Vertical jumping)، اسهال (Diarrhea)، دندان قروچه



نمودار شماره ۳: علامت تکان دادن سر (head shake) در گروه های مختلف آزمایش  
\* اختلاف معنی دار بین گروه ۵۰-۵ mg/kg (ip, for 5 days) و گروه ۱۵ mg/kg (ip, 8 for days) (ANOVA followed by tukey, all  $P < 0.05$ )

رفتار ایستادن روی دو پا (Rearing) در گروه های مختلف مورد مطالعه در نمودار شماره ۴ نمایش داده شده است. حداقل و حداکثر این رفتار به ترتیب در گروه های دریافت کنند. مرفین طبق روش ۶ (۲۶/۳ ± ۳/۵) و روش ۴ (۱۱/۴ ± ۰/۷) دیده شد ( $P < 0.05$ ).

در جدول شماره ۱ میزان اسهال، دندان قروچه، پتوز، مرگ و میرو کاهش وزن در گروه های مختلف نمایش داده شده است. پتوز در همه گروه ها حداکثر بود (۱۰۰ درصد).

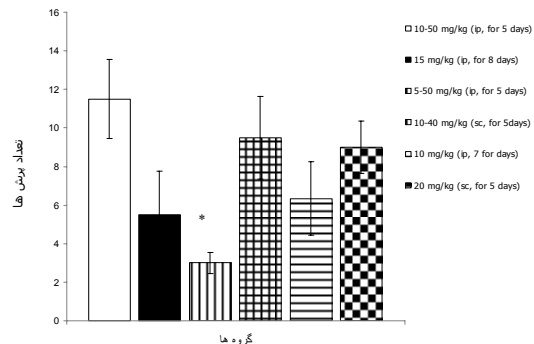
اسهال در گروه هایی که مرفین را طبق روش ۲ و روش ۵ دریافت کرده بودند به ترتیب ۶۰ درصد و ۷۷ درصد بود اما در بقیه گروه ها ۱۰۰ درصد بود ( $P < 0.05$ ).

حداکثر دندان قروچه در گروهی که مرفین را طبق روش ۱ استفاده کرده بودند، به میزان ۱۰۰ درصد گزارش شد. حداقل دندان قروچه در گروهی که مرفین را طبق روش ۲ استفاده کرده بودند، به میزان ۲۰ درصد دیده شد ( $P < 0.05$ ).

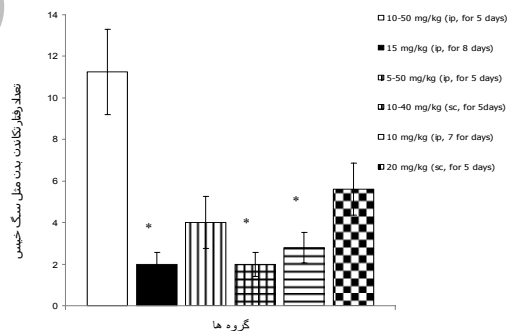
میزان مرگ و میرو در گروه هایی که مرفین را با دوز ثابت طبق روش ۵ (۱۰ درصد) و روش ۶ (۸ درصد) استفاده کرده بودند، حداقل بود. این در حالیست که در بقیه گروه ها مرگ و میرو تا ۵۰ درصد دیده شد ( $P < 0.05$ ).

گروهی که مرفین را با دوز ثابت بر اساس روش ۵ و ۶ دریافت کرده بودند، کاهش وزن مشاهده نشد و حتی

۶ (۲ ± ۰/۵) دریافت کرده بودند، دیده شد ( $P < 0.05$ ) (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۱: پرش عمودی (vertical jumping) در گروه های مختلف آزمایش  
\* اختلاف معنی دار بین گروه ۵۰-۵ mg/kg (ip, for 5 days) و گروه ۵۰-۵ mg/kg (ip, for 5 days) داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده اند.



نمودار شماره ۲: علامت تکان بدن مشابه سگ خیس (wet dog shake) در گروه های مختلف آزمایش  
\* اختلاف معنی دار بین گروه ۵۰-۱۰ mg/kg (ip, for 5 days) و گروه ۱۵ mg/kg (ip, 8 for days) ( $P < 0.05$ ).

نمودار شماره ۳ میزان تکان سر را در گروه های مختلف آزمایشی نشان می دهد. میانگین تعداد حرکت سر در گروه های مختلف با یکدیگر اختلاف معنی داری داشت ( $P < 0.05$ ). بطوریکه بیشترین و کمترین تعداد این رفتار در گروهی که مرفین را با دوز پلکانی طبق روش ۱ به ترتیب دریافت کرده بودند، و گروهی که مرفین را طبق روش ۲ دریافت کرده بودند، دیده شد.

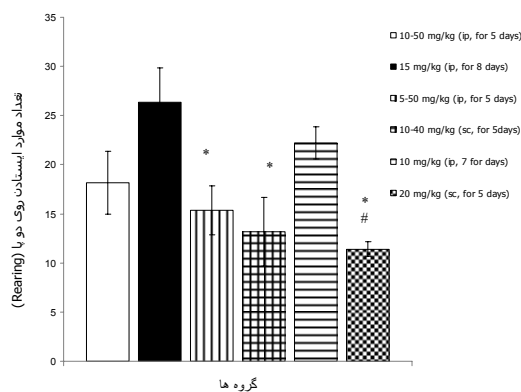
میر و تغییرات وزن در الگوهای مختلف وابستگی به مرفین، متفاوت است.

یافته‌های ما پیشنهاد می‌کنند که تمام گروه‌های آزمایشی، علائم سندرم قطع را متعاقب مصرف نالوکسان نشان دادند (پرش عمودی، اسهال، دندان قروچه، پتوز، تکان دادن سر، ایستادن روی دو پا و تکاندن بدن مشابه سگ خیس). اما شدت این علائم در گروه‌های مختلف با یکدیگر تفاوت داشت. یافته‌های قبلی نیز نشان می‌دهند که در الگوی مصرف خوراکی مرفین، درجه و شدت وابستگی می‌تواند تحت تاثیر دوز اولیه، فرکانس و مدت زمان مصرف مرفین متفاوت باشد (۱۳، ۱۲).

مکانیسم‌های درگیر در پدیده ایجاد وابستگی به مورفین و بروز علائم سندرم قطع به خوبی شناخته نشده‌اند. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد فعالیت گیرنده‌های NMDA نخاع در موش‌های سوری متعاقب مصرف مرفین افزایش می‌یابد (۱۹). همچنین مصرف پلکانی مرفین موجب افزایش رسپتورهای تیروزین کینازی EphB در نخاع می‌شود (۲۰). علاوه بر آن به تازگی نشان داده شده است که تزریق فاکتور رشد نرونی (BDNF) در ناحیه تگمتموم قدامی (VTA) سبب تقویت رفتارهای ناشی از مصرف مرفین مانند جستجوی دارو و غیره می‌شود (۲۱).

القائ سریع وابستگی از محاسن مهم روش‌های

در این گروه‌ها اندکی افزایش وزن نیز دیده شد. در حالی که در دیگر گروه‌ها کاهش وزنی بین ۱/۵-۵/۱ درصد دیده شد ( $P < 0.05$ ).



نمودار شماره ۴: علامت ایستادن روی دو پا (rearing) در گروه‌های مختلف آزمایشی  
 \* اختلاف معنی‌دار بین گروه ۱۵ mg/kg (ip, for 8 days) با گروه‌های ۱۰-۴۰ mg/kg (sc, for 5 days) و ۲۰ mg/kg (sc, for 5 days).  
 # اختلاف معنی‌دار بین گروه ۱۰ mg/kg (ip, 7 for days) با گروه ۲۰ mg/kg (sc, for 5 days) ( $P < 0.05$ )

## بحث

روش‌های متفاوتی جهت ایجاد وابستگی به مرفین در حیوان‌ها استفاده می‌شود. اطلاعات کمی در مورد اختلاف این روش‌ها در القای درجات متفاوت وابستگی وجود دارد. مطالعه ما نشان داد شدت وابستگی فیزیکی (ارزیابی شده از طریق سنجش علائم سندرم قطع)، میزان مرگ و

جدول شماره ۱: مقایسه علائم سندرم قطع مصرف مرفین در گروه‌های مختلف آزمایشی

علائم سندرم قطع	گروه				
	دندان قروچه (%)	اسهال (%)	پتوز (%)	مرگ و میر (%)	کاهش وزن (%)
۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی، برای ۷ روز)	۴۴/۴۴	۷۷/۷۷ <sup>#</sup>	۱۰۰	۱۰ <sup>S</sup>	-۳ <sup>&amp;</sup>
۱۰-۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی، برای ۵ روز)	۱۰۰ *	۱۰۰	۱۰۰	۵۰	-۵/۱ <sup>&amp;</sup>
۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی، برای ۸ روز)	۴۵/۴۵	۱۰۰	۱۰۰	۸ <sup>S</sup>	-۰/۳۱
۵-۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی، برای ۵ روز)	۴۰	۱۰۰	۱۰۰	۵۸	۴/۱
۱۰-۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی، برای ۵ روز)	۲۰	۶۰ <sup>#</sup>	۱۰۰	۵۰	۱/۵
۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی، برای ۵ روز)	۴۰	۱۰۰	۱۰۰	۵۰	۳/۲

\* اختلاف معنی‌دار در درصد دندان قروچه بین گروه ۲ با سایر گروه‌ها ( $P < 0.05$ ).  
 # اختلاف معنی‌دار در درصد اسهال بین گروه‌های ۱ و ۵ با سایر گروه‌ها ( $P < 0.05$ ).  
 S اختلاف معنی‌دار در درصد مرگ بین گروه‌های ۱ و ۳ با سایر گروه‌ها ( $P < 0.05$ ).  
 & اختلاف معنی‌دار در درصد کاهش وزن بین گروه‌های ۱ با ۲ ( $P < 0.05$ ).

بصورت داخل صفاقی به مدت ۵ روز و دوبار در روز بیشترین شدت علائم سندرم قطع را ایجاد می کرد. به هر حال مطالعات بیشتری جهت بررسی این موضوع پیشنهاد می شود.

همچنین به نظر می رسد که در روش هایی که دوز ابتدایی مرفین کمتر است و همچنین مرفین در دوز ثابت مصرف می شود کاهش وزن کمتر از حالاتی است که دوز اولیه مرفین بالا و همچنین مرفین به صورت پلکانی مصرف شود.

به طور خلاصه نتایج این مطالعه نشان داد که روش های متفاوت ایجاد وابستگی به مرفین منجر به درجات متفاوتی از علائم و رفتارهای سندرم قطع و مرگ و میر و تغییرات وزن می شود.

### سپاسگزاری

این مطالعه توسط مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان حمایت شده است که بدینوسیله نویسندگان مراتب تشکر خود را از این مرکز اعلام می کنند. همچنین از خانم فریده سیستانی و آقای دین یار نوشادی بخاطر کمک در انجام مطالعه قدردانی می شود.

تزریقی است. اما بهر حال میزان مرگ و میر بالا یکی از محدودیت های روش های تزریقی ایجاد وابستگی است. و همان طور که نتایج این مطالعه نشان داد در سه روش تزریق پلکانی افزایش یابنده مرفین، میزان مرگ و میر تا ۵۰ درصد بالا بود. میزان مرگ و میر در روش هایی که دوز ثابت و کم مرفین دریافت می کردند، پائین بود. بنابراین به نظر می رسد که استفاده از مرفین در دوزهای پلکانی افزایش یابنده موجب افزایش احتمال مرگ و میر شود. البته برای نتیجه گیری بهتر، انجام مطالعات بیشتر ضروری است. مطالعه ما همچنین نشان داد که در روشی که مرفین با دوز اولیه ۲۰ mg/kg/s.c استفاده شد، نیز میزان مرگ و میر بالا است (۵۰ درصد). مطالعات قبلی نشان دادند که دوز اولیه استفاده از مرفین، فاکتور موثری در تعیین مرگ و میر است (۱۱). بنابراین به نظر می رسد که در روش هایی که دوز ابتدایی مرفین کمتر است و همچنین مرفین در دوز ثابت مصرف می شود، احتمال مرگ و میر کمتر از حالاتی است که دوز اولیه مرفین بالا است و مرفین به صورت پلکانی مصرف شود. از طرف دیگر به نظر می رسد که استفاده از مرفین در دوز پلکانی وابستگی شدیدتری ایجاد می کند به طوریکه تزریق مرفین با دوز پلکانی ۱۰-۵۰ mg/kg/i.p

### References

- Gerdeman GL, Partridge JG, Lupica CR, Lovinger DM. It could be habit forming: drugs of abuse and striatal synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2003; 26: 184-192.
- Cami J, Farre M. Drug addiction. *N Engl J Med* 2003; 349: 975-986.
- Arıcıoglu F, Paul IA, Regunathan S. Agmatine reduces only peripheral-related behavioral signs, not the central signs, of morphine withdrawal in nNOS deficient transgenic mice. *Neurosci Lett* 2004; 354: 153-157.
- Bhargava HN. Attenuation of tolerance to, and physical dependence on, morphine in the rat by inhibition of nitric oxide synthase. *Gen Pharmacol* 1995; 26: 1049-1053.
- Cicero TJ, Nock B, Meyer ER. Gender-linked differences in the expression of physical dependence in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 72: 691-697.
- Afify EA, Daabees TT, Gabra BH, Abou Zeit-Har MS. Role of nitric oxide in catalepsy and hyperthermia in morphine-dependent rats. *Pharmacol Res* 2001; 44: 533-539.
- Fiserova M, Consolo S, Krasiak M. Chronic morphine induces long-lasting changes in acetylcholine release in rat nucleus accumbens

- core and shell: an in vivo microdialysis study. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 142: 85-94.
8. Maeda T, Kishioka S, Inoue N, Shimizu N, Fukazawa Y, Ozaki M, et al. Naloxone-precipitated morphine withdrawal elicits increases in c-fos mRNA expression in restricted regions of the infant rat brain. *Jpn J Pharmacol* 2002; 90: 270-275.
  9. Trang T, Sutak M, Quirion R, Jhamandas K. Spinal administration of lipoxygenase inhibitors suppresses behavioural and neurochemical manifestations of naloxone-precipitated opioid withdrawal. *Br J Pharmacol* 2003; 140: 295-304.
  10. Badawy AA, Evans CM, Evans M. Production of tolerance and physical dependence in the rat by simple administration of morphine in drinking water. *Br J Pharmacol* 1982; 75: 485-491.
  11. Sepehri GS, Baghaiee V, Farazi F. Proposal of a new modified injection method for development of morphine dependency in male rats. *Int J Pharmacology* 2006; 2: 177-180.
  12. Suzuki T. Pharmacological studies on drug dependence in rodents: dependence on opioids and CNS depressants. *Jpn J Pharmacol* 1990; 52: 1-10.
  13. Suzuki T, Shimada M, Yoshii T, Uesugi J, Yanaura S. Development of physical dependence on and tolerance to morphine in rats treated with morphine-admixed food. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1983; 7: 63-71.
  14. Chou WB, Zeng YM, Duan SM, Zhou WH, Gu J, Yang GD. M2 muscarinic receptor of spinal cord mediated increase of nNOS expression in locus coeruleus during morphine withdrawal. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 691-697.
  15. Li JX, Zhang Q, Liang JH. Valproate prevents the induction, but not the expression of morphine sensitization in mice. *Behav Brain Res* 2004; 152: 251-257.
  16. Esmaeili Mahani S, Motamedi F, Javan M, Ahmadiani A. Involvement of hypothalamic pituitary adrenal axis on the effects of nifedipine in the development of morphine tolerance in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2005; 81: 152-157.
  17. Ferrari F, Baggio G. Influence of lisuride on morphine withdrawal signs in the rat: a dopamine-mimetic effect. *Psychopharmacology (Berl)* 1982; 78: 326-330.
  18. Gellert VF, Holtzman SG. Development and maintenance of morphine tolerance and dependence in the rat by scheduled access to morphine drinking solutions. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 205: 536-546.
  19. Ueda H, Ueda M. Mechanisms underlying morphine analgesic tolerance and dependence. *Front Biosci* 2009; 14: 5260-5272.
  20. Liu WT, Li HC, Song XS, Huang ZJ, Song XJ. EphB receptor signaling in mouse spinal cord contributes to physical dependence on morphine. *FASEB J* 2009; 23: 90-98.
  21. Vargas-Perez H, Kee RT, Walton CH, Hansen DM, Razavi R, Clarke L. Ventral tegmental area BDNF induces an opiate-dependent-like reward state in naive rats. *Science* 2009; 324: 1732-1734.