● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔدوازدهم، شمارهٔ ۴، ص ۲۳۶-۲۲۸، ۱۳۸۴

مقالهٔ پژوهشی

اثر تزریق نیتریک اکسید در پوسته هسته اکومبنس بر علایم سندرم قطع مرفین در موش‌صحرایی نر

دکتر وحید شیبانی*[۱]، دکتر غلامرضا سپهری[۲]، فریبا بقائی[۳] و رسول فرازی فرد[۴]

خلاصه

مقدمه: در مطالعه حاضر اثر تزریق ال - آرژینین (پیشتاز سنتز نیتریک‌اکسید، NO) و ال - نیم (مهارکننده آنزیم سنتز کننده نیتریک‌اکسید، NOS) به درون پوسته هسته اکومبنس بر شدت علایم قطع مرفین در موش‌های صحرایی نر بررسی گردید.

روش: در این مطالعه از ۵۶ سر موش صحرایی در ۸ گروه ۷ تایی استفاده شد. موش‌های صحرایی نر با مخلوط کتامین و زیلازین بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند و سپس به وسیله عمل جراحی یک کانول ۱/۷ میلی‌متر به سمت جلو نسبت به برگما ، ۰/۸ میلی‌متر در طرفین نسبت به برگما و عمق ۷/۱میلی‌متر از سطح استخوان جمجمه به درون هسته اکومبنس به صورت دوطرفه وارد گردید. وابستگی به مرفین به‌وسیله تزریق زیرجلدی ۱۰-۲۰mg/kg مرفین به مدت ۵ روز ایجاد گردید و علایم سندرم قطع مرفین توسط تجویز نالوکسان (۴mg/kg i.p) مورد ارزیابی قرار گرفت. در گروه‌های آزمایشی ال - آرژینین و ال - نیم به‌صورت دوز واحد و یا دوز مکرر روزانه به مدت ۵ روز به درون پوسته هسته اکومبنس تزریق شد. در گروه جراحی Sham کانول‌گذاری دوطرفه درون پوسته هسته اکومبنس صورت گرفت ولی دارویی تزریق نشد و در گروه سالین سرم فیزیولوژی مطابق گروه‌های آزمایشی به درون پوسته هسته اکومبنس تزریق شد. همچنین در گروه کنترل هیچ‌گونه جراحی صورت نگرفت.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که علایم سندرم قطع مرفین در گروه‌های کنترل و سالین تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. تجویز یک دوز ال - آرژینین و یا ال - نیم بلافاصله قبل از تزریق آخرین دوز مرفین به درون پوسته هسته اکومبنس اثری بر علایم قطع سندرم مرفین در مقایسه با گروه کنترل نداشت، ولی تزریق مکرر درون پوسته هسته اکومبنس ال - آرژینین یا ال - نیم قبل از تزریق روزانه مرفین موجب کاهش معنی‌داری در بعضی از علایم سندرم قطع از جمله، پریدن، بلند شدن روی دست و کاهش وزن (فقط در گروه ال - نیم، L-NAME) در مقایسه با گروه کنترل شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاضر نشان‌دهنده نقش نیتریک‌اکسید پوسته هسته اکومبنس در بعضی از علایم سندرم قطع مرفین است.

واژه‌های کلیدی : هسته اکومبنس، نیتریک‌اکسید، ال - آرژینین، ال - نیم، علایم سندرم قطع مرفین ، وابستگی به مرفین

۱ـ استادیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی —درمانی کرمان ۲- دانشیار فارماکولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی —درمانی کرمان ۳- کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی —درمانی کرمان ۴- کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کرمان

* **نویسنده مسؤول:** کرمان ـ مرکز تحقیقات علوم اعصاب **آدرس پست الکترونیک :** vsheibani2@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸٤/۲/۱۲ **دریافت مقاله اصلاح شده :** ۱۳۸٤/۸/۱٦ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸٤/۹/۲

مقدمه

استریاتوم بطنی یا هسته اکومبنس (Nacc) و ارتباط دو طرفه آن با ناحیه تگمنتال بطنی(VTA, Ventral Tegmental Area) اجزای اصلی مسیر پاداش مزولیمبیک را تشکیل می‌دهند (۱۲). پاداش‌های طبیعی نظیر خوردن، آشامیدن و همچنین داروهای اعتیادآور هر دو آزاد شدن دوپامین از نورون‌های پیش سیناپسی ناحیه تگمنتال بطنی (VTA) را به درون هسته اکومبنس تحریک می‌کنند و منجر به ایجاد سرخوشی و حالت لذت و رضایت می‌گردند (۸،۱۴). تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده دوپامینی (هالوپریدول) به هسته اکومبنس و یا تخریب این هسته منجر به کاهش اثر پاداشی و تقویت اثر داروهای مورد سوءمصرف می‌شوند (۲۵،۲۷). همچنین هسته اکومبنس در بروز علایم سندرم قطع داروهای مورد استفاده نابجا از جمله اپیوئیدها دخیل است. میزان دوپامین در هسته اکومبنس در طی بروز علایم سندرم قطع مخدرها کاهش چشم‌گیری پیدا می‌کند و تزریق آگونیست‌های D_2 به درون هسته اکومبنس موجب کاهش چشم‌گیری در بعضی از علایم سندرم قطع اپیوئیدها می‌شود (۱). هسته اکومبنس از طریق دخالت در انتقالات دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک نقش مهمی را در ایجاد وابستگی به مرفین اعمال می‌کند (۵،۱۲،۲۷). از طرف دیگر نیتریک‌اکسید که یک واسطه شیمیایی مهم در سیستم اعصاب مرکزی است در پیشرفت وابستگی به مرفین نقش دارد و موجب آزاد شدن دوپامین در هسته اکومبنس شده و همچنین به عنوان یک میانجی ثانوی برای گیرنده‌های NMDA عمل می‌کند (۱۳،۲۷،۲۹).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تزریق مهارکننده‌های NOS مانند ال – نیم به صورت سیستمیک (۶،۱۵،۱۶) و یا درون بطنی (ICV) (۱۱) و درون هسته‌های مغزی (۳۱) موجب کاهش بعضی از علایم سندرم قطع مخدرها می‌شود. لذا احتمال دارد که نیتریک‌اکسید در ایجاد وابستگی و بروز علایم سندرم قطع مرفین دخیل باشد (۴،۱۶،۲۴). ولی با توجه به اینکه نواحی مختلفی در سیستم اعصاب مرکزی (از جمله لوکوس سرولئوس، ناحیه تگمنتال بطنی، ماده خاکستری دور قنات مغزی(PAG) و هسته اکومبنس) در بروز علایم سندرم قطع مخدرها دخیل هستند، بنابراین نقش NO بر علایم سندرم قطع مخدرها در هر یک از هسته‌های فوق به درستی مشخص نشده است. لذا مطالعه حاضر بدین منظور صورت گرفت تا اثر تزریق درون هسته اکومبنس ال – آرژینین (به عنوان پیشتاز سنتز NO) و ال – نیم (به عنوان مهارکننده آنزیم NOS) بر روی ایجاد وابستگی و بروز علایم سندرم قطع مرفین در موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش بررسی

حیوانات: در این مطالعه از ۵۶ رأس موش صحرایی نر از نژاد ویستار و با وزن تقریبی ۳۵۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. موش‌های صحرایی از مرکز نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه شدند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. دمای اتاق حیوانات ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود و حیوانات دسترسی آزاد به غذا و آب داشتند. همه آزمایشات در ساعت مشخص در طی روز صورت می‌گرفت.

ابتدا حیوانات توسط تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۶۰mg/kg و زیلازین ۵mg/kg بیهوش شدند. سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و یک برش طولی از قسمت ابتدائی به طرف انتهایی جمجمه صورت گرفت. تنظیم دستگاه استریوتاکس برای پوسته هسته اکومبنس براساس مشخصات اطلس پاکسینوس و واتسون (۲۱) به شرح زیر انجام شد:

۱/۷ میلی‌متربه سمت جلو نسبت به برگما، ۰/۸ میلی‌متر در طرفین نسبت به برگما و عمق ۷/۱ میلی‌متری از سطح استخوان جمجمه. سپس دو کانول شماره ۲۲ به عنوان کانول راهنما به‌صورت دوطرفه و تا عمق ۵/۶ میلی‌متری از سطح جمجمه وارد سر حیوان شدند. کانول راهنما ۱/۵ میلی‌متر بالاتر از محل تزریق قرار می‌گرفت تا از تخریب هسته در اثر ورود کانال راهنما جلوگیری شود. سپس کانول‌های راهنما توسط پیچ‌های عینک و سیمان دندانپزشکی در جای خود ثابت می‌گردید. به منظور جلوگیری از انسداد کانول‌های راهنما درپوش‌هایی از سر سوزن شماره ۲۷ تهیه و در درون کانول‌های تزریق قرار گرفتند. حیوانات یک هفته پس از جراحی تحت نظر قرار می‌گرفتند تا بهبودی کامل پیدا کنند (۹).

وابستگی به مرفین از طریق تزریق زیرجلدی مرفین به مدت ۵ روز صورت گرفت. بدین منظور تزریق مرفین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز اول و سپس ۲۰mg/kg از روز دوم تا پنجم در ساعت ۹ صبح هر روز انجام شد. جهت ایجاد علایم سندرم قطع مرفین و ثبت علایم آن از تزریق درون صفاقی نالوکسان به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۴ ساعت پس از آخرین دوز مرفین در روز پنجم استفاده شد. قبل از تزریق نالوکسان حیوانات وزن می‌شدند و به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه در

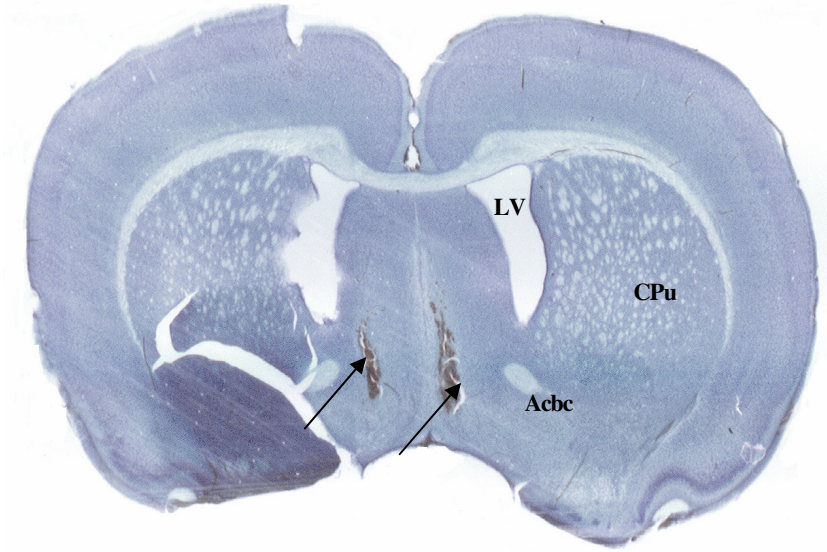
جعبه‌ای پلاستیکی قرار می‌گرفتند تا به محیط آشنا شوند. علایم سندرم قطع مرفین شامل علایم کمی مثل پریدن، بلند شدن روی دست، (Rearing)، کاهش وزن و تکان‌های بدن (Wet Dog Shakes) و علایم کیفی شامل اسهال، افتادگی پلک‌ها و به هم خوردن دندان‌ها (Teeth Chattering) بودند. کلیه علایم در فواصل ۵ دقیقه‌ای و جمعاً به مدت ۲۰ دقیقه مشاهده و ثبت گردیدند. یک ساعت پس از تزریق نالوکسان حیوانات مجدداً وزن شدند و تفاوت وزن قبل و ۱ ساعت پس از تزریق نالوکسان به‌عنوان یکی از علایم سندرم قطع مورد بررسی قرار گرفت و برای هر ۱٪ کاهش وزن مقدار عددی ۱ در نظر گرفته شد. علایم کیفی سندرم قطع شامل اسهال، افتادگی پلک‌ها و به هم خوردن دندان‌ها براساس داشتن یا نداشتن علامت ارزش‌گذاری شدند.

گروه‌های آزمایشی

در این مطالعه از ۵۶ سر موش صحرایی نژاد NMRI در ۸ گروه ۷ تایی استفاده شد. جهت ارزیابی اثر تزریق ال ــ آرژینین و یا ال - نیم به درون هسته اکومبنس بر علایم سندرم قطع مرفین در موش‌های صحرایی نر ابتدا به ترتیب ۰/۰۵ و ۱ میکروگرم از داروهای مذکور در یک میکرولیتر سرم فیزیولوژی حل شدند (۹). سپس سالین، ال ــ نیم یا ال ــ آرژینین به صورت تک دوز (به ترتیب در گروه‌های سالین-۱، ال ــ نیم-۱ یا ال ــ آرژینین-۱) و به صورت مکرر روزانه (به ترتیب در گروه های سالین-۲، ال ــ نیم-۲ یا ال ــ آرژینین-۲) به ترتیب قبل از آخرین دوز مرفین یا قبل از تزریق روزانه مرفین به مدت ۵ روز در ۶ گروه مجزا تزریق شد. ضمناً تمامی داروها با حجم ۰/۵ میکرو لیتر در عرض ۵ دقیقه به صورت دو طرفه در پوسته اکومبنس تزریق شدند. در گروه جراحی Sham فقط کانول‌گذاری در پوسته هسته اکومبنس صورت گرفت ولی دارویی تزریق نشد و در گروه کنترل هیچ گونه عمل جراحی صورت نگرفت.

بررسی‌های هیستولوژیک

پس از پایان آزمایش‌ها و پس از ثبت علایم سندرم قطع، موش‌های صحرایی توسط اتر بیهوش شده و پس از کشتن حیوان، مغز آن‌ها خارج می‌گردید. بافت مغز در محلول فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۳ تا ۴ روز ثابت و سپس توسط دستگاه ویبریواسلایس برش‌های ۱۴۰-۱۲۰ میکرونی لازم از محل کانول‌گذاری تهیه و توسط میکروسکوپ نوری جهت تأیید محل کانول‌گذاری مورد بررسی قرار گرفت. در صورتی که کانول‌گذاری در پوسته هسته اکومبنس صحیح انجام شده بود نتایج حاصل مورد آنالیز قرار می‌گرفت. (شکل ۱)



شکل ۱: *شمای هسته اکومبنس که با روش نیسل رنگ آمیزی شده است. نوک پیکان محل ورود کانول به پوسته هسته اکومبنس را نشان می دهد.*

LV: Lateral ventricle, AcbC: Accumbens nucleus Core, CPu: Caudate putamen

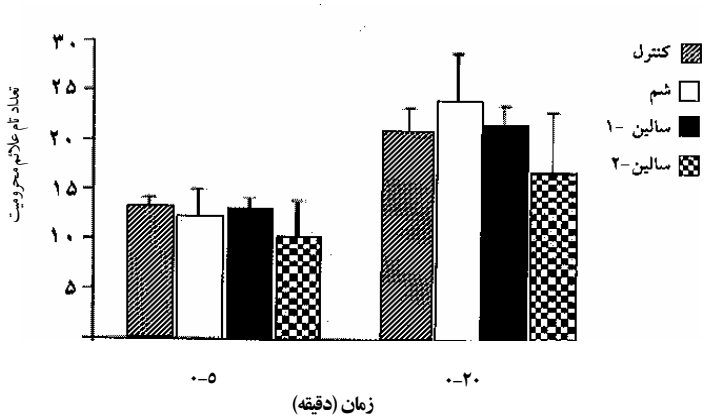
آنالیز آماری

برای مقایسه اختلاف در شدت علایم کیفی از آزمون‌های Chi-square و Fisher exact test استفاده شد. برای مقایسه شدت علایم کمی سندرم قطع بین گروه‌ها آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و در جایی که اختلاف معنی‌دار بود Tukey post test استفاده شد. در کلیه موارد سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین بیان شده اند.

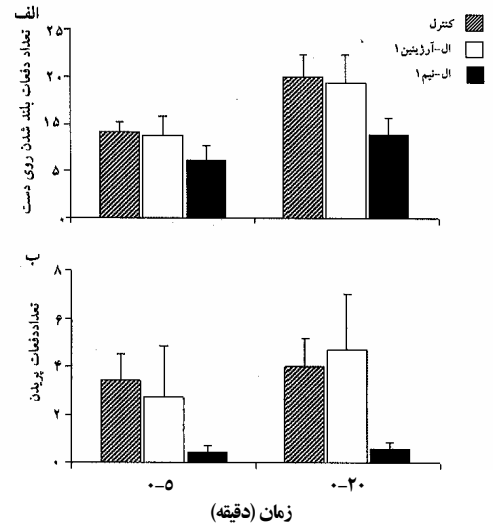
نتایج

بروز علایم سندرم قطع مرفین:

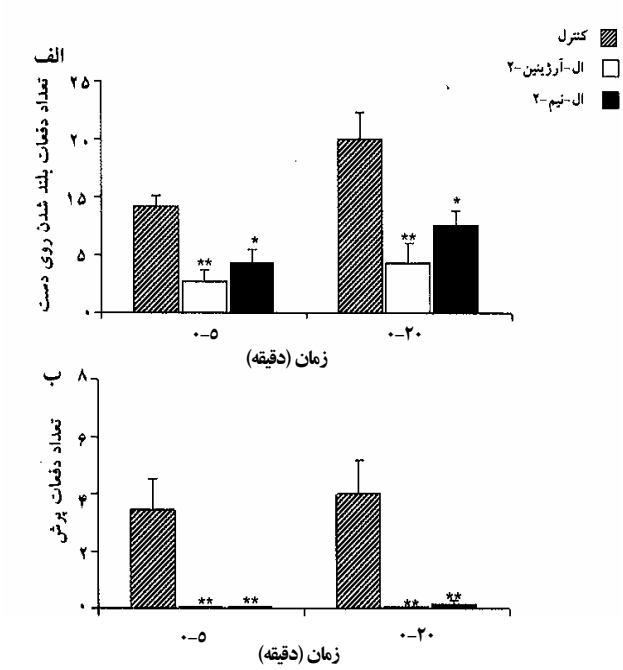
۵۶ سر موش صحرایی نر در ۸ گروه آزمایشی مرفین را به مدت ۵ روز طبق پروتکل درمانی دریافت کردند تمام گروه‌های آزمایشی علایم سندرم قطع مرفین را متعاقب تزریق نالوکسان نشان دادند. هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در علایم کیفی و کمی سندرم قطع بین گروه‌های آزمایشی کنترل (دست نخورده)، گروه سالین ۱، سالین ۲ و گروه جراحیSham مشاهده نشد (تست ANOVA و Chi-square). لذا گروه‌های آزمایشی ال ــ نیم و ال ــ آرژینین با گروه کنترل مقایسه شد. نمودار یک علایم کمی سندرم قطع مرفین را در گروه‌های مختلف در ۵ دقیقه اول و در مجموع ۲۰ دقیقه پس از تزریق نالوکسان نشان می‌دهد.



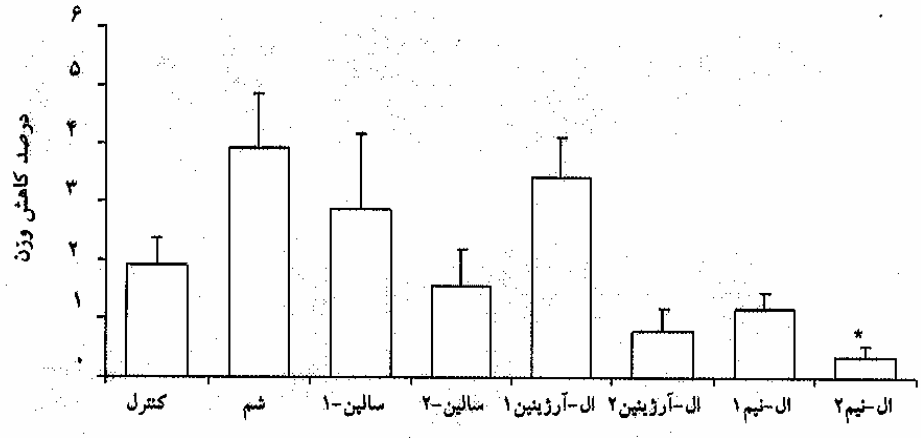
نمودار ۱: *شدت بروز علایم سندرم قطع مرفین در گروه کنترل، جراحی Sham سالین-۱ و سالین -۲ در موش‌های صحرایی وابسته به مرفین. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین نشان داده شده‌اند (n=۷).*



نمودار ۲: *شدت علایم بلند شدن روی دست‌ها (الف) و پریدن (ب) پس از تزریق تک دوز ال ـ آرژینین (L-Arge1) و ال ـ نیم(L-NAME1) در موش‌های وابسته به مرفین در مقایسه با گروه کنترل. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین نشان داده شده اند (n=۷).*



نمودار ۳: *شدت علایم بلند شدن روی دست‌ها (الف) و پریدن (ب) پس از تزریق مکرر ال ـ آرژنین (L-Arge2) و ال ـ نیم (L-NAME2) در موش‌های صحرایی وابسته به مرفین در مقایسه با گروه کنترل. علایم پریدن و بلند شدن روی دست‌ها در گروه درمانی در طی مدت زمان مشاهده علایم سندرم قطع کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین نشان داده شده‌اند (n=۷). P<۰/۰۱ **، P<۰/۰۵**



نمودار ٤: *مقایسه درصد کاهش وزن بین گروه‌های کنترل، جراحی Sham تزریق تک دوز و مکرر سالین، ال ـ آرژنین (L-Arge) و ال ـ نیم (L-NAME) در موش‌های صحرایی وابسته به مرفین. میزان کاهش وزن در گروه ال ـ نیم (L-NAME) تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین نشان داده شده اند (n=۷). P<۰/۰۵**

اثر تزریق تک دوز ال ـ آرژنین و ال ـ نیم به درون پوسته هسته اکومبنس بر علایم سندرم قطع مرفین.

تزریق ال ـ آرژنین و ال ـ نیم به صورت تک دوز قبل از آخرین دوز روزانه مرفین هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری را بر علایم سندرم قطع مرفین در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد و شدت علایم سندرم قطع در گروه‌های مذکور مشابه با گروه کنترل

بود. نمودار ۲ مقایسه بروز علایم پریدن و بلند شدن بر روی دست ها را در بین گروه‌های تزریق تک دوز ال ــ آرژینین، ال ــ نیم و کنترل نشان می‌دهد.

اثر تزریق مکرر ال ــ آرژینین و ال ــ نیم به درون پوسته هسته اکومبنس بر علایم سندرم قطع مرفین.

تزریق مکرر ال ــ آرژینین به درون پوسته هسته اکومبنس بلافاصله قبل از تزریق روزانه مرفین موجب کاهش معنی‌داری در بعضی از علایم سندرم قطع از جمله پریدن (P<۰/۰۱) و بلند شدن روی دست‌ها (P<۰/۰۱) در ۵ دقیقه اول و در کل ۲۰ دقیقه ثبت علایم سندرم قطع مرفین در مقایسه با گروه کنترل گردید (نمودار ۳A و ۳B). دیگر علایم سندرم قطع از جمله به‌هم خوردن دندان‌ها، کاهش وزن، اسهال، تکان‌های عضلانی در گروه مذکور تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نداد (نتایج نشان داده نشده‌اند). همچنین تزریق مکرر ال ــ نیم به درون پوسته هسته اکومبنس بلافاصله قبل از تزریق زیرجلدی روزانه مرفین نیز موجب کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل در بعضی از علایم سندرم قطع مرفین از جمله پریدن (P<۰/۰۱)، بلند شدن روی دست‌ها (P<۰/۰۵)، و کاهش وزن (P<۰/۰۵) در طی ۵ دقیقه اول و در کل ۲۰ دقیقه زمان ثبت علایم سندرم قطع، گردید (به ترتیب نمودارهای ۳A، ۳B و نمودار ۴). سایر علایم سندرم قطع از جمله افتادگی پلک‌ها، اسهال و تکان‌های شدید در گروه مذکور تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نداد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق یک دوز ال ــ نیم (مهارکننده NOS) بلافاصله قبل از آخرین تزریق زیرجلدی مرفین تأثیری بر علایم سندرم قطع مرفین در مقایسه با گروه کنترل نداشت ولی تزریق مکرر ال ــ نیم به درون پوسته هسته اکومبنس بلافاصله قبل از هر تزریق روزانه مرفین موجب کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل در بعضی از علایم سندرم قطع از جمله پریدن، بلند شدن روی دست‌ها و کاهش وزن داشت. نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد که نیتریک‌اکسید موجود در هسته اکومبنس احتمالاً در بروز بعضی از علایم سندرم قطع مرفین دخیل است که این مسأله هم‌خوانی کامل با گزارش تعدادی از محققین دارد (۱۳،۲۴). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تزریق ال ــ نیم به صورت سیستمیک (۱۹،۲۰،۲۲) و یا درون بطنی (ICV) (۱۱) و درون بعضی از هسته‌های مغزی (۳۱) موجب کاهش بروز بعضی از علایم سندرم قطع مرفین می‌شود. مطالعه حاضر اولین گزارش در مورد نقش نیتریک‌اکسید موجود در هسته اکومبنس بر علایم سندرم قطع مرفین در موش‌های صحرایی است.

مکانیزم‌های دقیق چگونگی کاهش علایم سندرم قطع متعاقب مصرف L-NAME تاکنون دقیقاً مشخص نشده است ولی بسیاری از مطالعات دلالت بر این دارد که انتقالات دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک موجود در پوسته هسته اکومبنس جزء واسطه‌های مهم شیمیایی دخیل در وابستگی دارویی هستند (۳،۲۸،۲۹،۳۰) میزان دوپامین موجود در هسته اکومبنس در زمان بروز علایم سندرم قطع مرفین کاهش می‌یابد (۱،۱۲). محققین دیگری نیز گزارش کرده‌اند که گلوتامات، یک میانجی محرک در سیستم اعصاب مرکزی، در وابستگی فیزیکی به مخدرها نقش دارد و مهارکننده‌های گیرنده‌های NMDA موجب کاهش علایم سندرم قطع مخدرها می‌شوند (۱۷،۲۸). دلایل متعددی وجود دارد که حاکی از تداخل NO در انتقالات گلوتاماترژیک است، بدین معنی که گلوتامات موجب افزایش آزاد شدن NO در هسته اکومبنس می‌شود (۳،۱۰،۱۴). مطالعات قبلی حاکی از آن است که قطع مصرف مخدرها و یا تجویز نالوکسان موجب افزایش گلوتامات و در نتیجه افزایش میزان NO در هسته اکومبنس شده و باعث افزایش شدت علایم سندرم قطع می‌شود (۷،۱۳،۲۹،۳۰). بنابراین تزریق مکرر درون هسته‌ای ال ــ نیم به پوسته هسته اکومبنس موجب کاهش میزان NO و در نتیجه کاهش عمل واسطه گلوتامات و کاهش بعضی از علایم سندرم قطع مخدرها می‌شود (۳۰،۲۸،۲۵،۱۳).

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز یک دوز ال ــ آرژینین به پوسته هسته اکومبنس بلافاصله قبل از تزریق آخرین دوز روزانه مرفین اثری بر شدت علایم سندرم قطع مرفین در مقایسه با گروه کنترل ندارد (نمودار ۲). ولی برعکس نتایج پیش‌بینی شده، تجویز مکرر ال ــ آرژینین به پوسته هسته اکومبنس بلافاصله قبل از تزریق روزانه مرفین موجب کاهش برخی از علایم سندرم قطع از جمله پریدن و بلند شدن روی دست ها شد. مکانیزم این اثر دقیقاً مشخص نیست ولی آثار فوق می‌تواند ناشی از بروز سمیت عصبی ناشی از افزایش میزان NO در پوسته هسته اکومبنس (۲،۲۶،۲۳،۱۸) ویا تفاوت در گونه و نژاد حیوانات مورد آزمایش، دوز داروهای

مصرفی، پروتکل آزمایش وتجویز مکرر ال- آرژینین باشد. سایر محققین نیز گزارش کرده اند که NO می‌تواند به عنوان یک ماده سمی برای سیستم اعصاب مرکزی عمل نموده و افزایش آنزیم سنتزکننده NO موجب دژنراسیون سلول‌های عصبی و تشدید پارکینسونیسم ناشی از NO می‌شود (۲۶،۱۸). بنابراین تصور می‌شود که سمیت عصبی ناشی از مقادیر زیاد نیتریک‌اکسید با علایم سندرم قطع مرفین تداخل پیدا کرده باشد. لذا پیشنهاد می‌شود که اثر مقادیر کم ال ــ آرژینین به درون پوسته هسته اکومبنس بر علایم سندرم قطع مرفین در آینده مورد بررسی قرار گیرد.

به طور خلاصه نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که تزریق ال ــ نیم به درون پوسته هسته اکومبنس موجب کاهش بعضی از علایم سندرم قطع مرفین می‌شود که نتیجه تحقیق حاضر هم‌خوانی کاملی با گزارش نتایج سایر محققین دارد و نشان‌دهنده این مطلب است که نیتریک‌اکسید موجود در پوسته هسته اکومبنس در بروز بعضی از علایم سندرم قطع مخدرها دخیل است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه طرح مصوب تحقیقاتی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان است که با حمایت مالی مرکز فوق انجام پذیرفته است.

Summary

The Effect of Nitric Oxide Microinjection in Nucleus Accumbens Shell on Morphine Withdrawal Signs in Male Rats

Sheibani V., Ph.D. [1], Sepehri Gh., Ph.D.[2], Baghaiee F., M.Sc.[3] and Farazifard R., M.Sc.[4]

1. Assistant professor of Physiology, Kerman Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran. 2. Associate Professor of Pharmacology, School of Farmacy, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran. 3. M.Sc in Physiology, Department of Physiology and Pharmacology, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran 4. M.Sc in Physiology, Kerman Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, and Health Services, Kerman, Iran.

Introduction: *This study was performed to evaluate the effects of intra-nucleus accumbens shell microinjection of L-arginine (NO precursor) and L-NAME (nitric oxide synthase (NOS) inhibitor) on morphine withdrawal signs in male rats.*

Method: *Rats were anaesthetized with a combination of ketamine and xylazine, and placed in stereotaxic apparatus, and a guide cannula was inserted into nucleus accumbens (Nacc) shell, (1.7 mm Anterior to bregma, 0.8 mm bilaterally to bregma and 7.1 mm depth from skull surface). Morphine dependency was induced by subcutaneous administration of morphine (10-20 mg/kg for 5 days), and morphine withdrawal signs were precipitated by naloxone administration (4 mg/kg/ip). Rats received either single or repeated microinjections of saline, L-arginine or L-NAME into Nacc shell during the scheduled periods for 5 days. In Sham group, bilateral canulla was inserted into Nacc shell , but no drug was microinjected, and in saline group only normal saline was injected into Nacc shell in the same way as the experimental groups during the scheduled periods. Control group was intact.*

Results: *The results of this study showed no significant difference between control and saline treated groups in the expression of morphine withdrawal signs. Single dose microinjection of L-NAME / L-arginine, just prior to the last injection of morphine, had no effect on morphine withdrawal signs, but repeated microinjection of L-arginine / L-NAME decreased jumping, rearing and weight loss (only in L-NAME group), as compared to control rats.*

Conclusion: *The obtained results indicate that NO injection in Nacc shell may be involved in some of morphine withdrawal signs.*

Key Words: *Nucleus Accumbens, Nitric Oxide, L-arginine, L-NAME, Morphine Dependency, Morphine Withdrawal*

Journal of Kerman University of Medical Sciences,2005; 12(4):228-236

References

1. Cami J and Farre M. Drug addiction. *N Engl J Med* 2003; 349(10): 975-86.
2. Castagnoli K, Palmer S and Castagnoli NJr. Neuroprotection by (R)-deprenyl and 7-nitroindazole in the MPTP C57BL/6 mouse model of neurotoxicity. *Neurobiology* 1999; 7(2): 135-49.
3. Cervo L and Samanin R. Effects of dopaminergic and glutamatergic receptor antagonists on the acquisition and expression of cocaine conditioning place preference. *Brain Res* 1995; 673(2): 242-50.
4. Chou WB, Zeng YM, Duan SM, Zhou WH, Gu J and Yang GD. M2 muscarinic receptor of spinal cord mediated increase of nNOS expression in locus coeruleus during morphine withdrawal. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23(8): 691-7.
5. Di Chiara G. Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behav Brain Res* 2002; 137(1-2): 75-114.
6. Dehpour AR, Sadr SS, Nouroddini M, Shadan F, Nourozi A, Farahani M and Sahebgharani M. Comparison of simultaneous administration of lithium with L-NAME or L-arginine on morphine withdrawal syndrome in mice. *Hum Psychopharmacol* 2000; 15(2): 87-93.
7. Gabra BH, Afify EA, Daabees TT and Abou Zeit-Har MS. The role of the NO/NMDA pathways in the development of morphine withdrawal induced by Naloxone in vitro. *Pharmacol Res* 2005; 51(4): 319-27.
8. Gerdeman GL, Partridge JG, Lupica CR and Lovinger DM. It could be habit forming: drugs of abuse and striatal synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2003; 26(4): 184-92.
9. Gholami A, Haeri-Rohani A, Sahraie H and Zarrindast MR. Nitric oxide mediation of morphine-induced place preference in the nucleus accumbens of rat. *Eur J Pharmacol* 2002; 449(3): 269-77.
10. Gracy KN and Pickel VM. Ultrastructural localization and comparative distribution of nitric oxide synthase and N-methyl-D-aspartate receptors in the shell of the rat nucleus accumbens 1. *Brain Res* 1998; 747: 259-72.
11. Hall S, Milne B and Jhamandas K. Nitric oxide synthase inhibitors attenuate acute and chronic morphine withdrawal response in the rat locus coeruleus: an in vivo voltammetric study. *Brain Res* 1996; 739(1-2): 182-91.
12. Harris GC and Aston-Jones G. Involvement of D2 dopamine receptors in the nucleus accumbens in the opiate withdrawal syndrome. *Nature* 1994; 371(6493): 155-7.
13. Herman BH, Vocci F and Bridge P. The effects of NMDA receptor antagonists and nitric oxide synthase inhibitors on opioid tolerance and withdrawal. Medication development issues for opiate addiction. *Neuropsychopharmacology* 1995; 13(4): 269-93.
14. Higgins GA, Nguyen P and Sellers EM. The NMDA antagonist dizocilpine (MK801) attenuates motivational as well as somatic aspects of Naloxone precipitated opioid withdrawal. *Life Sci* 1992; 50(21): 167-72.
15. Homayoun H, Khavandgar S, Mehr SE, Namiranian K and Dehpour AR. The effects of FK506 on the development and expression of morphine tolerance and dependence in mice. *Behav Pharmacol* 2003; 14(2): 121-7.
16. Homayoun H, Khavandgar S, Namiranian K and Dehpour AR. The effect of cyclosporin A on morphine tolerance and dependence: involvement of L-arginine/nitric oxide pathway. *Eur J Pharmacol* 2002; 452(1): 67-75.
17. Koyuncuoglu H, Dizdar Y, Aricioglu F and Sayin U. Effects of MK 801 on morphine physical dependence: attenuation and intensification. *Pharmacol Biochem Behav* 1992; 43(2): 487-90.
18. Liberatore GT, Jackson-Lewis V, Vukosavic S, *et al.* Inducible nitric oxide synthase stimulates dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson disease. *Nat Med* 1999; 5(12): 1403-9.
19. Majeed NH, Przewlocka B, Machelska H and Przewlocki R. Inhibition of nitric oxide synthase attenuates the development of morphine tolerance and dependence in mice. *Neuropharmacology* 1994; 33(2): 189-92.
20. Ozek M, Uresin Y and Gungor M. Comparison of the effects of specific and nonspecific inhibition of

nitric oxide synthase on morphine analgesia, tolerance and dependence in mice. *Life Sci* 2003; 72(17): 1943-51.

21. Paxinos G and Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates (2nd ed), New York: Academic press, 1986.
22. Pineda J, Torrecilla M, Martin-Ruiz R and Ugedo L. Attenuation of withdrawal-induced hyperactivity of locus coeruleus neurones by inhibitors of nitric oxide synthase in morphine-dependent rats. *Neuropharmacology* 1998; 37(6): 759-67.
23. Przedborski S, Jackson-Lewis V, Yokoyama R, Shibata T, Dawson VL and Dawson TM. Role of neuronal nitric oxide in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced dopaminergic neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(10): 4565-71.
24. Sahraei H, Poorheidari G, Foadaddini M, *et al.* Effects of nitric oxide on morphine self-administration in rat. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 77(1): 111-6.
25. Salamone JD, Correa M, Mingote SM and Weber SM. Beyond the reward hypothesis: alternative functions of nucleus accumbens dopamine. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5(1): 34-41.
26. Schulz JB, Matthews RT and Beal MF. Role of nitric oxide in neurodegenerative diseases. *Curr Opin Neurol* 1995; 8(6): 480-6.
27. Sepulveda J, Oliva P and Contreras E. Neurochemical changes of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in the nucleus accumbens of rats after chronic administration of morphine. *Eur J Pharmacol* 2004; 483(2-3): 249-58.
28. Tayfun Uzbay I and Oglesby MW. Nitric oxide and substance dependence. *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25(1): 43-52.
29. Trujillo KA and Akil H. Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science* 1991; 251(4989): 85-7.
30. Wang HL, Zhao Y, Xiang XH, Wang HS and Wu WR. Blockade of ionotropic glutamatergic transmission in the ventral tegmental area attenuates the physical signs of morphine withdrawal in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004; 28(7): 1079-87.
31. Williams JT, Christie MJ and Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiol Rev* 2001; 81(1): 299-343.