فصلنامه اعتیاد پژوهی سوء مصرف مواد، سال پنجم، شماره نوزدهم، پاییز ۱۳۹۰
Journal of Research on Addiction, Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

**مقاله پژوهشی**
**Research Article**

# اثر نیتریک اکساید هسته مرکزی آمیگدال در بروز رفتارهای جستجوی دارو

مهناز رحیم‌پور[۱]، منیژه کرمی[۲]، محمدرضا جلالی‌ندوشن[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۱۲

## چکیده

**مقدمه:** در این پژوهش اثرات تزریق دو طرفه عوامل نیتریک اکساید به هسته مرکزی آمیگدال در بروز رفتارهای جستجوی دارو مانند ایستادن، بو کشیدن و تردد بین دو بخش دستگاه ترجیح مکان شرطی شده بررسی شد. **روش:** آزمایش‌ها روی موش بزرگ آزمایشگاهی نر ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام گردید. همه حیوان‌ها پس از جراحی با استروتکس و کانول گذاری در مختصات هسته مرکزی آمیگدال یک هفته دوره بهبود را گذراندند. ترجیح مکان شرطی شده به روش غیر طرفدار و به صورت یک برنامه پنج روزه اجرا شد. **یافته‌ها:** حیوان‌هایی که طی شرطی سازی، مورفین (۲/۵-۱۰ mg/kg) را به صورت زیر جلدی دریافت کرده بودند به شکل معنی داری رفتارهای جستجوی دارو را نشان دادند. تزریق داخل صفاقی نالوکسون (۰/۱-۰/۴ mg/kg) در روز آزمون (پس از شرطی سازی با مورفین (۷/۵ mg/kg)، بروز این علائم رفتاری را کاهش داد. تزریق مستقیم L- آرژینین به داخل هسته مرکزی آمیگدال در روز آزمون مقدم بر تزریق دوز موثر نالوکسون (۰/۴ mg/kg)، بر بیان علائم رفتاری مذکور اثر افزایشی معنی دار داشت ولی تزریق مستقیم L-NAME به داخل هسته پیش از تزریق L- آرژینین، پاسخ L- آرژینین را به طور معنی داری کاهش داد. **نتیجه‌گیری:** احتمالاً سیستم نیتریک اکساید ناحیه آمیگدال مرکزی در بروز برخی از علائم رفتاری جستجوی دارو در حیوانات شرطی شده با مورفین، نقش مهمی را ایفا می‌کند.

**کلید واژه‌ها:** مورفین، نیتریک اکساید، آمیگدال مرکزی، L- آرژینین و L-NAME، رفتار جستجوی دارو



۱. نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی دانشگاه شاهد. پست الکترونیک: Rahimpour@shahed.ac.ir
۲. استادیار بیولوژی گروه زیست شناسی دانشگاه شاهد
۳. استادیار پاتولوژی گروه پاتولوژی دانشگاه شاهد

**مقدمه**

رفتارهای چون ایستادن[1] و بو کشیدن[2] و تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی[3] از جمله علائم رفتاری جستجوی دارو[4] در حیوانات شرطی شده با مورفین می‌باشند (آزورلوسا[5] و سیمون[6]، ۱۹۹۹) و در بروز این علائم در حیوان آزمایشگاهی احتمالاً سیستم‌های تنظیم کننده سطح انگیزش و هیجان ایفای نقش می‌کنند (دانیل[7]، تانیا[8]، مارک[9] و مت[10]، ۲۰۰۸). رفتار بو کشیدن، به ورود و خروج منظم هوا برای نمونه برداری بو و رایحه اطلاق می‌گردد. اولین بار واکر[11] و همکاران در سال ۱۹۹۱ ، رفتار بوکشیدن را به عنوان رفتاری دینامیک تعریف کردند که با هماهنگی دقیق سایر سیستم‌های حرکتی انجام می‌شود و در شکل دهی اطلاعات بو جهت پردازش توسط سیستم عصبی نقش دارد. اپیوئید[12]های مانند مورفین بی دردیشان را از طریق اثر بر نواحی از مغز که دارای گیرنده‌های برای پپتیدهایی با ویژگی‌های فارماکولوژیک شبه اپیوئیدی و جفت شونده با پروتئین G القاء می‌کنند.

این گیرنده‌ها در مناطقی از مغز و نخاع و بافت‌های دیگر شناسایی شده‌اند (کاتزونگ[13]، ۲۰۰۴). گیرنده‌های اپیوئیدی و لیگاندهای پپتیدی درون زاد[14] در سراسر دستگاه عصبی مرکزی[15] و بافت‌های محیطی[16] توزیع شده‌اند که این توزیع وسیع مربوط به نقش مهم سیستم اپیوئیدی در کنترل پاسخ‌های فیزیولوژیک مانند بی دردی، رفتار هیجانی، یادگیری، حافظه و تنظیم مدارهای پاداش می‌باشد (بودنار[17]، ۲۰۰۸). سیستم اپیوئیدی دارای سه گیرنده اصلی μ (mu)، κ (kapa) و δ (delta) می‌باشد که این گیرنده‌ها توسط پپتیدهای اپیوئیدی درون زاد فعال می‌شوند (کاتزونگ، ۲۰۰۴). تجویز مکرر دوزهای درمانی مورفین یا مشتقات آن باعث می‌شود که این مواد تدریجاً اثرشان را از دست بدهند و در این حالت برای به دست آوردن پاسخ اولیه، مقادیر بیشتری از دارو باید تجویز گردد (تحمل[18]) (کاتزونگ، ۲۰۰۴).



سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

1. Rearing
2. Sniffing
3. Compartment entering
4. Drug seeking
5. Azorlosa
6. Simmone
7. Daniel
8. Tanya
9. Marc
10. Matt
11. Walker
12. Opioid
13. Katzung
14. Endogenous
15. Central Nervous System
16. Peripheral Nervous System
17. Bodnar
18.Tolerance

نالوکسون[1] دارویی است که برای درمان تحمل اپیوئیدی (دوز مفرط مورفین و یا هروئین) استفاده می‌شود و تیمار همزمان مورفین با دوز بسیار کم نالوکسون، تحمل و وابستگی اپیوئیدی را به واسطه جلوگیری از تغییرات پیام رسانی تحریکی اپیوئیدها کاهش می‌دهد که این اثر مهاری در نالوکسون به دلیل تمایل[2] بسیار بالای آن در واکنش با گیرنده گیرنده μ ایجاد می‌شود (ونگ[3] و برنز[4]، ۲۰۰۹).

آمیگدال[5] در تشخیص احساسات منفی مانند ترس، ارتباط بین محرک‌های محیطی و احساسات و پردازش اطلاعات پاداش بسیار اهمیت دارد (بکستر[6] و موری[7]، ۲۰۰۲). پژوهش‌های انجام شده نشان دهنده دو مسیر خروجی اصلی از آمیگدال می‌باشند که از طرق مختلف برای پردازش اطلاعات پاداش با هم همکاری دارند. آمیگدال برای انجام فرآیندهای وابسته به پاداش با طیف وسیعی از نواحی قشری و زیر قشری مغز، هسته آکومبنس[8]، سیستم دوپامینرژیک ناحیه مغز میانی، سیستم کولینرژیک مغز جلویی قاعده‌ای قاعده‌ای و قشر پیش پیشانی به خصوص ناحیه میانی و شنوایی ارتباط دارد (بکستر،۲۰۰۲). استاینوس[9]، مل[10] و کوب[11] در سال ۱۹۹۰ نشان دادند که هسته مرکزی آمیگدال در بیان پاسخ شرطی معکوس[12] وابسته به جریان ترک اپیوئیدی نقش دارد.

نیتریک اکساید[13] در افزایش دوپامین[14] خارج سلولی در هسته آکومبنس نقش دارد (والاس[15] و بوز[16]، ۱۹۹۷). رهایش نیتریک اکساید در قشر هسته آکومبنس، از طریق فعالیت گیرنده NMDA[17] به وسیله گلوتامات[18] صورت می‌گیرد و بنابراین گیرنده‌های گلوتاماتی، در سلول‌های تولید کننده نیتریک اکساید وجود دارند (آباکاوا[19]، ۱۹۹۷). فعالیت گیرنده NMDA توسط گلوتامات و گلیسین[20]، موجب ورود یون کلسیم به سلول و تشکیل کمپلکس کلسیم-کالمودولین[21] می‌شود. سپس آنزیم نیتریک اکساید سینتاز فعال شده و سنتز نیتریک اکساید را از L-آرژینین انجام می‌دهد (مانزونی و همکاران، ۱۹۹۲). با توجه به نقش نیتریک اکساید (به عنوان یکی از ناقلین عصبی هسته مرکزی آمیگدال[22] در



سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

1. Naloxone
2. Affinity
3. Wang
4. Burns
5. Amygdala
6. Baxter
7. Murray
8. Accumbens
9. Stinus
10. Moal
11. Koob
12. Conditioned place aversion
13. Nitric oxide
14. Dopamine
15. Wallace
16. Booze
17. N. methyl D. aspartate
18. Glutamate
19. Abecava
20. Glycine
21. Calmodulin
22. Central amygdala

بیان و افزایش تحمل و وابستگی به مورفین و نیز با در نظر گرفتن نقش نیتریک اکساید در بیان ویژگی‌های پاداشی اپیوئیدها و همچنین به دلیل اهمیت آمیگدال در بروز سندرم ترک[1]، چنین فرض می‌شود که بر هم کنش بین نیتریک اکساید و مورفین در این ناحیه بتواند بر علائم رفتاری جستجوی دارو تحت شرایطی تک تزریق نالوکسون تأثیر بگذارد. لذا در مطالعه حاضر اثرات تزریق دوطرفه L-آرژینین وL-NAME به ناحیه آمیگدال مرکزی بر بیان رفتارهای جستجوی دارو ناشی از شرطی شدن با مورفین همراه با تک تزریق نالوکسون بررسی شد.

## روش

### جامعه، نمونه و روش نمونه‌گیری

آزمایش‌ها روی موش بزرگ آزمایشگاهی[2] نر نژاد ویستار[3] که در شروع جراحی، میانگین وزن آن‌ها بین ۲۵۰-۲۰۰ گرم بود صورت گرفت. حیوان‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه و به صورت گروه‌های چهارتایی تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی با دوره روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آسان به آب و غذا نگهداری شدند. جنس نر به واسطه نداشتن سیکل استروس[4] و عدم تأثیرپذیری از تغییرات سطح هورمون‌های جنسی از این فرایند انتخاب گردید (کرمی و زرین دست، ۲۰۰۸) و مطالعات قبلی گروه حاضر نیز بر روی این جنس انجام گردیده بود. برای هر آزمایش ۶ سر حیوان مورد مطالعه قرار گرفت و هر حیوان فقط یک بار آزمایش شد. آزمایش‌ها بین ساعت ۸ صبح تا ۵ بعد از ظهر انجام شد. مرحله شرطی سازی به مدت ۳ روز و هر روز یک بار تزریق مورفین و به فاصله ۶ ساعت بعد تزریق سالین انجام شد. آزمون رفتارهای جستجوی دارو در این حیوانات ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق مورفین در شرایطی که دیگر مورفین تزریق نگردید به عمل آمد. مواد مورد استفاده در آزمایش عبارت بودند از: مورفین سولفات[5]، کتامین[6] و زایلزین[7] (به عنوان داروی بیهوشی)، نالوکسون، L- آرژینین و L-NAME.



سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

1. Withdrawal syndrome
2. Rat
3. Wistar
4. Cycle estrous
5. Morphine sulfate
6. Ketamine
7. Xylazine

کلیه داروها قبل از مصرف در سالین ۰/۹ درصد حل شدند. نالوکسون به صورت ویال ۰/۴ml mg/ از شرکت داروپخش، کتامین و زایلزین از داروخانه دامپزشکی و L- آرژینین و L-NAME از شرکت سیگما تهیه گردید.

به منظور جراحی و کانول گذاری، ابتدا حیوان وزن می‌شد و سپس با تزریق درون صفاقی[1] مخلوط کتامین و زایلزین (۱۰۰mg/kg)بیهوش می‌گردید. سپس سر حیوان با استفاده از دستگاه استریو تاکس[2]، در مختصات هسته مرکزی آمیگدال بر اساس اطلس پاکسینو[3] [ برگما(AP) = -۲/۱۲ mm از خط وسط (ML) = ± ۴/۲ mm و از سطح جمجمه (DV) = -۷/۸mm]، کانول گذاری می‌شد. کلیه حیوان‌های جراحی شده قبل از انجام آزمون ترجیح مکانی شرطی شده[4]، یک هفته دوره بهبود را گذراندند. دستگاه شرطی‌سازی[5] دو قسمتی و از جنس چوب است که توسط یک دریچه از هم مجزا می‌شوند (کرمی، ۲۰۰۲).

روش آزمون ترجیح مکانی شرطی شده بر اساس طرح غیر طرفدار[6] و شامل یک برنامه برنامه پنج روزه با سه مرحله مشخص پیش از شرطی سازی[7]، شرطی‌سازی[8] و آزمون[9] می‌باشد. روش ترجیح مکانی شرطی شده یک کار رفتاری[10] است که اغلب برای سنجش و اندازه گیری ویژگی‌های تقویتی داروها و شکل گیری یادگیری ارتباطی بین پاداش- تحریک به کار می‌رود (مک اینتار، راگوزینو[11] و گولد[12]، ۱۹۹۸). در مرحله پیش از شرطی‌سازی (روز اول) حیوان با دستگاه آشنا می‌شود. در این مرحله، حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه ترجیح مکانی شرطی شده (شکل ۱) در حالیکه دریچه گیوتینی ۱۲ سانتی متر بالاتر از کف، ثابت شده بود قرار می‌گرفت و به این صورت به هر دو قسمت دستگاه دسترسی داشت. در طی شرطی سازی از روز دوم تا روز چهارم آزمایش (۳ روز) حیوان



سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

1. Intraperitoneal
2. Stereotaxy
3. Paxinos
4. Conditioned Place Preference
5. CPP box
6. Unbiased
7. Preconditioning
8. Conditioning
9. Test
10. Behavioral
11. Ragozzino
12. Gold

پس از دریافت دارو به مدت ۴۵ دقیقه در دستگاه ترجیح مکانی شرطی شده ، در حالیکه دریچه گیوتینی در جای خود قرار داشت و دو قسمت دستگاه را از هم جدا می‌کرد، قرار می‌گرفت (به این ترتیب، فقط به یکی از دو قسمت یعنی قسمت شرطی دسترسی داشت) و پس از گذشت ۴۵ دقیقه به حیوانخانه منتقل می‌گردید. در روز آزمون حیوان مورد آزمایش مورفین دریافت نمی‌کند. در این مرحله نالوکسون در مقادیر مورد نظر و به صورت داخل صفاقی، ۱۰ دقیقه قبل از آزمون تزریق می‌شد و در مواردی که مقرر شده بود اثر سیستم نیتریک اکساید در CeA بر پاسخ‌ها مطالعه شود، عوامل سیستم نیتریک اکساید یعنیL-NAME و L-Arginine داخل هسته تزریق می‌شدند و بلافاصله تزریق نالوکسون انجام می‌شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه، حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه ترجیح مکانی شرطی شده قرار می‌گرفت و در این روز و در لحظه آزمون مانند روز اول (آشنایی) دریچه گیوتینی ۱۲ سانتی متر بالاتر از کف قرار داشت (در این حالت حیوان به هر دو قسمت دسترسی داشته و هر دو قسمت را مورد بررسی قرار می‌دهد). مدت زمان توقف حیوان در هر قسمت، در تمامی مراحل توسط دستگاه اتوویژن[1] و زمان سنج ثبت می‌شد.



سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

**شکل ۱: دستگاه ترجیح مکانی شرطی شده**

1. Ethovision

**بررسی اثرات مورفین بر روی علائم رفتاری در مدل شرطی:** چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلف مورفین (۲/۵-۱۰mg/kg) را به صورت زیر جلدی دریافت کردند و یک گروه نیز به منظور مقایسه بین گروه‌های تحت آزمایش با گروه کنترل به عنوان گروه شاهد، طی شرطی سازی سالین را به صورت زیر جلدی دریافت کرد. فعالیت و علائم رفتاری همه گروه‌ها در مرحله آزمون توسط دستگاه اتوویژن (ثبت و رکوردینگ رفتارها به صورت خودکار) ذخیره و سپس تجزیه و تحلیل گردید.

**بررسی اثرات تداخل نالوکسون و مورفین بر روی علائم رفتاری:** اثرات تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف نالوکسون (آنتاگونیست[1] رقابتی گیرنده‌های اپیوئیدی) بر روی بیان علائم رفتاری بررسی شد. پنج گروه از حیوانات طی یک برنامه سه روزه شرطی سازی به صورت زیر جلدی دوز موثر مورفین (۷/۵mg/kg) را دریافت کردند ولی ۱۰ دقیقه قبل از آزمون، نالوکسون به صورت داخل صفاقی (۰/۱-۰/۴mg/kg) در چهار تزریق شد و یک گروه نیز به عنوان گروه کنترل بدون دریافت نالوکسون وارد مرحله آزمون شدند. علائم رفتاری کلیه حیوانات ثبت و تحلیل شد.

**بررسی اثرات L-آرژینین داخل مغزی بر روی علائم رفتاری:** چهار گروه از حیوانات طی یک برنامه شرطی سازی سه روزه، مورفین را به صورت زیر جلدی دریافت کردند. در روز آزمون، تزریق داخل هسته‌ای مقادیر مختلف L-آرژینین (۰/۳-۳ μgr/rat) مقدم بر تزریق داخل صفاقی دوز موثر نالوکسون (۰/۴ mg/kg) بر روی سه گروه انجام گردید و یک گروه نیز به عنوان گروه کنترل (بدون دریافت L-آرژینین) در نظر گرفته شد. حیوانات پس از ۱۰ دقیقه، تحت آزمون واقع شدند و علائم رفتاری همه گروه‌ها مورد سنجش قرار گرفت.

**بررسی اثرات L-NAME داخل مغزی بر روی علائم رفتاری:** در این آزمایش چهار گروه از حیوانات طی یک برنامه شرطی سازی سه روزه، مورفین را به صورت زیر جلدی

1. Antagonist

دریافت کردند. در روز آزمون، مقادیر مختلف L-NAME (μgr/rat ۳-۰/۳) به صورت داخل مغزی، مقدم بر L-آرژینین (μgr/rat ۳) و پیش از تزریق نالوکسون (mg/kg ۰/۴) بر روی سه گروه از حیوانات انجام شد و گروه چهارم به عنوان گروه کنترل (بدون دریافت L-NAME) در نظر گرفته شد. همه گروه‌ها پس از ۱۰ دقیقه وارد مرحله آزمون شدند و علائم رفتاری آن‌ها برای انجام تحلیل و بررسی ثبت و ذخیره گردید.

داده‌های مربوط به علائم رفتاری با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس از تست نرمالیتی اسمیرنو کولموگرو[1] تحت تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و برای تحلیل بیشتر داده‌ها آنالیزهای Post hoc از آزمون LSD استفاده شد و در همه موارد p<۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. محاسبات آماری با کمک نرم افزار G state و SPSS انجام گرفت.

## یافته‌ها

**اثرات مورفین بر بیان رفتارهای جستجوی دارو در مدل شرطی:** جدول۱، پاسخ مورفین(mg/kg, s.c ۱۰-۲/۵ )را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی نشان می‌دهد.

**جدول۱: اثر مورفین بر علائم رفتاری (رفتارهای جستجوی دارو)**

| مورفین (mg/kg) | ایستادن (تعداد در ۱۵ دقیقه) | بو کشیدن (تعداد در ۱۵ دقیقه) | تردد بین دو خط (تعداد در ۱۵ دقیقه) |
|---|---|---|---|
| ۰ | ۴۳/۵۰±۲/۸۴ | ۱۲/۷۵±۱/۲۵ | ۲۱/۲۵±۳/۱۷ |
| ۲/۵ | ۱۹±۴/۸۴*** | ۹±۱/۵۸ | ۱۰/۵۰±۱/۴۴** |
| ۵ | ۳۳±۲/۸۵* | ۱۱/۷۵±۱/۸۸ | ۱۷/۵۰±۱/۳۲ |
| ۷/۵ | ۲۶±۲/۶۷** | ۱۴/۷۵±۲/۵۹ | ۱۲/۲۵±۱/۱۰** |
| ۱۰ | ۲۰±۲/۳۴*** | ۶/۵۰±۱/۰۴* | ۱۱/۲۵±۱/۸۴** |

مقایسه بین گروهی به کمک آزمون LSD انجام شده است: ***p<۰/۰۰۱، **p<۰/۰۱، *p<۰/۰۵

جدول آنالیز واریانس یک طرفه را نشان می‌دهد که مورفین اثر معنی داری [P <۰/۰۰۰۱ ; $F_{۴,۲۵}$=۹/۸۶۸] بر ایستادن دارد. بررسی بیشتر با آزمون LSD نشان می‌دهد که مورفین در

1. Smirnov Kolmogorov

تمام مقادیر نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری را بر بیان این رفتار نشان می‌دهد. اثر مورفین بر بوکشیدن اثری معنی دار [$F_{۴,۲۵}$=۳/۳۹۵; P<۰/۰۱] است و آزمون LSD حاکی از آن است که دوز بالای مورفین (۱۰ mg/kg) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری بر بیان این رفتار نشان می‌دهد. اثر مورفین بر تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی نیز معنی دار [$F_{۴,۲۵}$=۵/۸۱۶; P<۰/۰۰۱] است و بررسی بیشتر با آزمون LSD حاکی از آن است که مورفین در مقادیر مختلف (۱۰ mg/kg و ۷/۵ ، ۲/۵) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری بر این رفتار دارد.

**اثرات تداخل نالوکسون و مورفین در بیان علائم رفتاری جستجوی دارو:** جدول۲، پاسخ نالوکسون (۰/۱-۰/۴mg/kg, i.p) را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی نشان می‌دهد.

**جدول۲: اثر نالوکسون بر روی علائم رفتاری در مدل شرطی**

| تردد بین دو قسمت (تعداد در ۱۵ دقیقه) | بو کشیدن (تعداد در ۱۵ دقیقه) | ایستادن (تعداد در ۱۵ دقیقه) | +(۷/۵mg/kg) مورفین (mg/kg) ناکسون |
|---|---|---|---|
| ۱۲/۲۵±۱/۱۰ | ۱۴/۷۵±۲/۵۹ | ۲۶±۲/۶۷ | ۰ |
| ۶۶±۱/۲۲* | ۴±۱/۳۵** | ۶/۷۵±۲/۱۷*** | ۰/۱ |
| ۴/۷۵±۳/۱۹* | ۲/۵۰±۱/۰۴*** | ۷/۵۰±۴/۲۹*** | ۰/۲ |
| ۴/۵۰±۱/۸۹* | ۵±۲/۶۷** | ۵±۲/۰۴*** | ۰/۳ |
| ۴/۲۵±۱/۵۴* | ۲±۰/۷۰*** | ۶/۵۰±۲/۳۹*** | ۰/۴ |

مقایسه بین گروهی به کمک آزمونLSD انجام شده است: *p<۰/۰۵، **p<۰/۰۱، ***p<۰/۰۰۱

جدول ۲ آنالیز واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که نالوکسون اثر معنی داری [$F_{۴,۲۵}$=۹/۶۱۵; P<۰/۰۰۰۱] بر ایستادن و نیز اثر معنی داری [$F_{۴,۲۵}$=۷/۸۸; P<۰/۰۰۱] بر بوکشیدن دارد. همچنین اثر مورفین بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی معنی دار [$F_{۴,۲۵}$=۲/۹۹۲; P<۰/۰۱] می‌باشد 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.

**اثرات تزریق مستقیم L–آرژینین بر روی علائم رفتاری در حیوان شرطی شده با مورفین:**
جدول۳، پاسخ L– آرژینین (۰/۳–۳ µgr/rat) را در بیان علائمی مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی نشان می‌دهد.

**جدول۳: اثر L–آرژینین بر روی علائم رفتاری در مدل شرطی**

| +(۷/۵mg/kg) مورفین +(۰/۴mg/kg) ناکسون L-آرژنین (µgr/rat) | ایستادن (تعداد در ۱۵ دقیقه) | بو کشیدن (تعداد در ۱۵ دقیقه) | تردد بین دو قسمت (تعداد در ۱۵ دقیقه) |
|---|---|---|---|
| ۰ | ۶/۵۰±۲/۳۹ | ۲±۰/۷۰ | ۴/۲۵±۱/۵۴ |
| ۰/۳ | ۲۴/۳۳±۱۰/۸۳ | ۸±۲/۰۸ | ۲۰±۸/۳۲* |
| ۱ | ۸/۶۶±۳/۷۵ | ۶±۱/۵۲ | ۱۰/۶۶±۴/۴۸ |
| ۳ | ۱۹/۵۰±۰/۵۰ | ۱۲±۷/۰۰ | ۲۲±۲/۰۰* |

مقایسه بین گروهی به کمک آزمون LSD انجام شده است: *p<۰/۰۵

جدول ۳ آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از آن است که L– آرژینین اثر معنی داری را بر ایستادن و بوکشیدن نشان نمی‌دهد (P<۰/۰۵) ولی اثر L– آرژینین بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی معنی دار [$F_{۳,۲۰}$=۲/۹۳۴; P<۰/۰۱] است. همچنان که، در بررسی بیشتر با آزمون LSD نشان داده می‌شود که L– آرژینین در بعضی از مقادیر (۳ µgr/rat و ۰/۳) نسبت به گروه کنترل اثر افزایشی معنی داری را بر بیان این رفتار نشان می‌دهد.

**اثرات تزریق مستقیم L-NAME بر روی علائم رفتاری در حیوان شرطی شده با مورفین:**
جدول۴، پاسخ L-NAME (۰/۳–۳ µgr/rat) را در بیان علائمی مثل ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی نشان می‌دهد.

**جدول۴: اثر L-NAME بر روی علائم رفتاری در مدل شرطی**

| +(۰/۳µgr/rat) آرزنین-L L-NAME (µgr/rat) | ایستادن (تعداد در ۱۵ دقیقه) | بو کشیدن (تعداد در ۱۵ دقیقه) | تردد بین دو قسمت (تعداد در ۱۵ دقیقه) |
|---|---|---|---|
| ۰ | ۱۹/۵۰±۰/۵۰ | ۱۲±۷/۰۰ | ۲۲±۲/۰۰ |
| ۰/۳ | ۶/۵۰±۴/۵۰ | ۶ | ۷±۴/۰۰* |
| ۱ | ۱۴/۵۰±۳/۵۰ | ۱۲/۵۰±۰/۵۰ | ۱۳±۴/۰۰ |
| ۳ | ۸±۷/۰۰ | ۴/۵۰±۳/۵۰ | ۲/۵۰±۲/۵۰* |

مقایسه بین گروهی به کمک آزمون LSD انجام شده است: *p<۰/۰۵



سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

جدول ۴ آنالیز واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که L-NAME اثر معنی داری بر ایستادن و بوکشیدن ندارد ($P<۰/۰۵$) ولی اثر L-NAME بر تردد بین دو قسمت دستگاه شرطی سازی معنی دار [$F_{۳,۲۰}=۶/۷۲۸$; $P<۰/۰۱$] است و آزمون LSD نشان می‌دهد که L-NAME در مقادیر مختلف (۳ μgr/rat و ۰/۳)، بیان این رفتارها را متوقف می‌کند.

## بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش نقش نیتریک اکساید در هسته مرکزی آمیگدال بر بروز علائم رفتاری القاء شده با مورفین با استفاده از دستگاه ترجیح مکانی شرطی شده و نیز به کمک ثبت خودکار علائم رفتاری مانند ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو قسمت شرطی دستگاه در روز آزمون مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه پژوهش حاکی از تأثیر مورفین بر علائم رفتاری ایستادن، بوکشیدن و تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی، در حیوان شرطی شده نسبت به گروه دریافت کننده سالین می‌باشد و اینکه مورفین موجب کاهش فعالیت حرکتی (تردد بین دو بخش دستگاه) در حیوان شد که این یافته با نتایج مطالعات قبلی (آزورلوسا و سیمون، ۱۹۹۹) مطابقت دارد.

یافته‌ها نشان می‌دهد که مورفین موجب تحریک پروتئین G متصل به گیرنده‌های μ، κ و δ می‌شود اما طبق یافته‌های قبلی (اشنایدر[1] و پاستراناک[2]، ۲۰۰۳) گیرنده μ در بروز پاسخ‌های رفتاری القاء شده با مورفین بیشترین نقش را ایفاء می‌کند. نالوکسون به عنوان آنتاگونیست اپیوئیدی تجویز شد و طبق یافته‌های حاضر پس از تزریق داخل صفاقی آن قبل از آزمون، علائم رفتاری ایستادن و بو کشیدن در حیوان شرطی شده کاهش معنی داری پیدا کرد. اما اثر نالوکسون بر فعالیت حرکتی، تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی، اثرهای متفاوت داشت. دوز کم نالوکسون (۰/۱ mg/kg, i.p) موجب افزایش تردد بین دو بخش دستگاه گردید، حال آنکه دوز های بالاتر نالوکسون (۰/۲-۰/۴ mg/kg,i.p) موجب کاهش این فعالیت گردید. نتیجه این یافته‌ها این است که احتمالاً نالوکسون در دوز

1. Snyder
2. Pasternak

کم (۰/۱ mg/kg) با انواع دیگری از گیرنده‌های اپیوئیدی مانند κ واکنش داده است (زرین دست و همکاران، ۲۰۰۲) و یا اینکه احتمالاً سازوکارهای مولکولی متعددی فعال گردیده است که در حال حاضر با این یافته‌ها درباره آنها نمی‌توان اظهار نظر نمود 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 (۰/۲-۰/۴ mg/kg)، احتمالاً موجب مسدود شدن گیرنده μ گردیده است (ونگ و برنز، ۲۰۰۹). فعالیت هر دو گیرنده μ و κ موجب هیپرپلاریزاسیون[1] نرون در نواحی مختلف مغزی و مهار آنزیم آدنیلات سیکلاز[2] می‌گردد (ایشیدا[3] و همکاران، ۲۰۰۸).

مطابق یافته‌های قبلی، گیرنده μ موجب هیپرپلاریزاسیون نرون های حد واسط[4] غیر دوپامینی، گاباارژیک، در ناحیه تگمنتوم شکمی شده و از این طریق با تحریک نرون های دوپامینرژیک این ناحیه ترشح دوپامین را در هسته آکومبنس افزایش می‌دهد در حالیکه فعالیت گیرنده κ از طریق ارتباط پیش سیناپسی با نرون دوپامینرژیک منشعب شده از ناحیه تگمنتوم شکمی، موجب مهار ترشح دوپامین در هسته آکومبنس می‌شود (شنتک[5] و اشمیت[6]، ۲۰۰۳). پس از فعال شدن گیرنده‌های گلوتاماتی به ویژه NMDA، ورود کلسیم به داخل سلول و سپس فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سینتاز وابسته به کلسیم-کالمودولین اتفاق افتاده و موجب رهایش نیتریک اکساید به فضای سیناپسی می‌گردد (کالیگنانو[7]، پرسیکو[8]، مانکوسو[9] و سورنتینو[10]، ۱۹۹۳) و اثر نیتریک اکساید بر نرون پیش سیناپسی موجب رهایش بیشتر گلوتامات می‌شود (سپهری، شیبانی، بقایی و فرازی‌فرد، ۲۰۰۶). افزایش نیتریک اکساید در هسته مرکزی آمیگدال در ترجیح مکانی القاء شده با مورفین نقش دارد (زرین دست و همکاران، ۲۰۰۲). خروجی‌های گلوتاماترژیک آمیگدال به هسته آکومبنس موجب وابستگی به مورفین می‌شود (دیچارا[11] و ایمپراتو[12]، ۱۹۹۸) و نیز

1. Hyperpolarization
2. Adenylate cyclase
3. Ishida
4. Interneurons
5. Tzchentke
6. Schmidt
7. Calignano
8. Persico
9. Mancuso
10. Sorrentino
11. Dichiara
12. Imperato

خروجی‌های گلوتاماترژیکی که وارد تگمنتوم شکمی می‌شوند و سپس به آمیگدال می‌رسند در بیان وابستگی به مورفین نقش دارند (شنتک و اشمیت،۲۰۰۳)

در این پژوهش اثرات عوامل نیتریک اکساید بر روی علائم رفتاری پاداشی مورفین مورد ارزیابی قرار گرفت. تزریق دوطرفه مقادیر مختلف L-آرژینین و L-NAME به هسته آمیگدال مرکزی، مقدم بر تزریق دوز موثر نالوکسون، اثر معنی داری را بر روی علائم رفتاری ایستادن و بو کشیدن نشان نداد اما بعضی از مقادیر L-آرژینین، فعالیت حرکتی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی را افزایش داد در حالیکه، تزریق L-NAME، مقدم بر L-آرژینین اثر عکس بر روی این فرایند نشان داد و این امر با مطالعات قبلی (کالیگنانو و همکاران،۱۹۹۳) مطابقت می‌کند. با در نظر گرفتن اثرات عوامل نیتریک اکساید بر روی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی که کاملاً معنی دار می‌باشد این احتمال وجود دارد که ناقل عصبی نیتریک اکساید در سطح هسته مرکزی آمیگدال با سیستم‌های تنظیم کننده فعالیت‌های حرکتی مانند سیستم دوپامینرژیک و گاباارژیک (جی هون[1] و همکاران،۲۰۰۷) بر همکنشی داشته باشد که این یافته با پژوهش‌های قبلی (سپهری و همکاران، ۲۰۰۶) مطابقت دارد.

این یافته‌ها حاکی از آن است که احتمالاً نیتریک اکساید ناحیه هسته مرکزی آمیگدال، در شکل گیری علائم رفتاری ایستادن و بو کشیدن نقش مهمی را ایفاء نمی‌کند و بنابراین محتمل است که در این امر سازوکارهای مولکولی دیگری درگیر باشند اما فعالیت حرکتی تردد بین دو بخش دستگاه شرطی سازی در حیوان شرطی شده با مورفین که تحت تداخل نالوکسون واقع شده است احتمالاً توسط سیستم ناقل عصبی نیتریک اکساید تنظیم می‌شود و این یافته‌ها تا ۸۵ درصد قابل تعمیم به انسان می‌باشد.

پیشنهاد می‌گردد برای تائید برخی مطالعات مربوط به رفتارهای جستجوی دارو، سایر علائم رفتاری مانند تمیزکردن[2]،پریدن[3] و چرخیدن[4] را به صورت مستقل و یا همراه با هم مورد

1. Gi Hoon
2. Grooming
3. Jumping
4. Circling



سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

ارزیابی قرار داد. سطح نیتریک اکساید را با کمک اندازه گیری متابولیت های آن در هسته مرکزی آمیگدال با روش گریس راکشن[1] انجام داد.

از آنجا که بخشی از هزینه این پژوهش از محل بودجه پروپوزال های کارشناسی ارشد دانشگاه شاهد تأمین گردید، نویسندگان لازم می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه و مسئولین ذیربط قدردانی نمایند.

## منابع

Abecava, T. (1997). Experimental study of methamphetamine psychosis role of glutamate and nitric oxide in methamphetamine-induced dopaminergic and serotonergic neurotoxity in the rat brain. **HokkaidoIgaco Zassh**, 72, 113-126.

Azorlosa, J, L., Simmone, E. L. (1997). Context-specific morphine withdrawal: Evidence that rearing reflects withdrawal, not exploration. **Psychobiol**, 27 (4);557-560.

Baxter, M. G., and Murray, E. A. (2008). The amygdala and reward. **Nat. Rev. Neurosci**, 3, 563–573.

Bodnar, R. J. (2008). Endogenous opiates and behavior. **Rev. Peptides**, 29(12), 2292-2375.

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

Daniel, W.W., Tanya N. D., Marc, O. J., Matt, W. (2008). Sniffing Behavior of Mice during Performance in Odor-Guided Tasks. **Chem. Senses**, 33, 581–596.

Di, Chiara, G., Imperato, A. (1998) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. **Proc. Natl Acad. Sci**, 85,5274-5278.

Gi, Hoon, S., Sooyoung, C., Dongho, G., Sang, S. K.,Wan, C., Kyungjin, K., S. (2007). Hyperactivity and alteration of the midbrain dopaminergic system in maternally stressed male mice offspring. **Biochemical and Biophysical Res**, 3, 52, 823–829.

Ishida, S., Shimosaka, R., Kawasaki, Y., Jin, C., Kitamura, Y., Araki, H., Sendo, T., Gomita, Y. (2008). Involvement of the amygdala on place aversion induced by naloxone in single-dose morphine-treated rats. **Biochemical and Biophysical Res**. 128 (3), 395-403.

1. Griess Reaction

Karami, M., Zarrindast. M. R., Sepehri, H., and Sahraei, H. (2002). Role of nitric oxide in the rat hippocampal CA1 area on morphine-induced conditioned place preference. **European Journal of Pharmacol**, 449(1-2),113-9.

Karami, M., Zarrindast, M. R. (2008). Morphine sex-dependently induced place conditioning in adult Wistar rats. **European Journal of Pharmacol**, 582,78–87.

Katzung, B. G. (2004). **Basic and Clinical Pharmacol**, 31,626-647.

Manzoni, O., Prezeau, L., Marin, P., Deshager, S., Bock, J. & Fagni, L. (1992). Nitric oxide-induced blockade of NMDA receptors. **Neuron**, 8, 653-662.

McIntyre, C. K., Ragozzino, M. E., Gold P. E., (1998). Intra-amygdala infusions of scopolamine impair performance on a conditioned place preference task but not a spatial radial maze task. **Behav. Brain Res**, 95, 219-226.

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

Snyder, S. M., Pasternak, G. W. (2003). Historical review: Opioid receptors. Trends Pharmacol. **Sci**, 24,198-205.

Stinus, L., Moal, M., Koob, G. F. (1990). Nucleus accumbens and amygdale are possible substrates for the aversive stimulus effects of opiate withdrawal. **Neurosci**, 37, 767-773.

Tzchentke, T. M., Schmidt, W. J. (2003). Glutamatergic mechanisms in addition. **Psychiatry**, 8,373-382.

Walker, D. L., McGlynn, T., Grey, C., Ragozzino, M., Gold, P. E. (1991). Naloxone modulates the behavioral effects of cholinergic agonists and antagonists. **Psychopharmacol**, 105, 57-62.

Wallace, D. R. Booze, R. M. (1997). Upregulation of (+)-7-hydroxy-N,N-di-n-[$^3$H]-2-aminotetralinbinding following intracerebroventricular administration of nitric oxide generator. **Neurochem. Res**, 22, 163-170.

Wang, H. Y., Burns, L. H. Naloxone's pentapeptide binding site on filamine A blocks mu opioid receptor-Gs coupling and CREB activation of acute morphine. **PloS ONE**, 4(1), 42-82.

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