

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

دکتر وحید شبیانی^{۱*}، دکتر غلامرضا سپهری^۲، فریبا بقائی^۳ و رسول فرازی فرد^۴

خلاصه

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

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

یافته ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که علایم سندرم قطع مرفین در گروه های کنترل و سالیین تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد. 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 معنی داری 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.

نتیجه گیری: نتایج حاضر نشان دهنده نقش نیتریک اکسید پوسته هسته اکومبنس در بعضی از علایم سندرم قطع مرفین است.

واژه های کلیدی: هسته اکومبنس، نیتریک اکسید، ال - آرژینین، ال - نیم، علایم سندرم قطع

مرفین، وابستگی به مرفین

۱- 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 - درمانی کرمان

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

دریافت مقاله: ۱۳۸۴/۲/۱۲ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۴/۸/۱۶ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۹/۲

مقدمه

درون بطنی (ICV) (11) و درون هسته‌های مغزی (۳۱) موجب کاهش بعضی از علائم سندرم قطع مخدرها می‌شود. لذا احتمال دارد که نیتریک اکسید در ایجاد وابستگی و بروز علائم 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 علائم سندرم قطع مخدرها دخیل هستند، بنابراین نقش NO بر علائم 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 علائم 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 ۲۵۰-۳۵۰ 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 22 ± 2 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 ۶۰ mg/kg و زیلازین ۵ mg/kg بیهوش شدند. سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و یک برش

استریاتوم بطنی یا هسته اکومبنس (Nacc) و ارتباط دو طرفه آن با ناحیه تگمنتال بطنی (VTA, Ventral Tegmental Area) جزای 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 سوء مصرف می‌شوند (۲۵،۲۷). همچنین هسته اکومبنس در بروز علائم سندرم قطع داروهای مورد استفاده نابجا از جمله اپیوئیدها دخیل است. میزان دوپامین در هسته اکومبنس در طی بروز علائم سندرم قطع مخدرها کاهش چشم‌گیری پیدا می‌کند و تزریق آگونیست‌های D_2 به درون هسته اکومبنس موجب کاهش چشم‌گیری در بعضی از علائم 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 نیتریک اکسید 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

شیبانی و همکاران نقش نیتریک اکسید در پوسته هسته اکومبنس بر ...

(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 - 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 سالی، ال - نیم یا ال - آرژینین به صورت تک دوز (به ترتیب در گروه‌های سالی، ال - نیم-۱، ال - نیم-۱ یا ال - آرژینین-۱) و به صورت مکرر روزانه (به ترتیب در گروه‌های سالی-۲، ال - نیم-۲ یا ال - 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

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:

7/1 میلی‌متر به 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 به صورت 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).

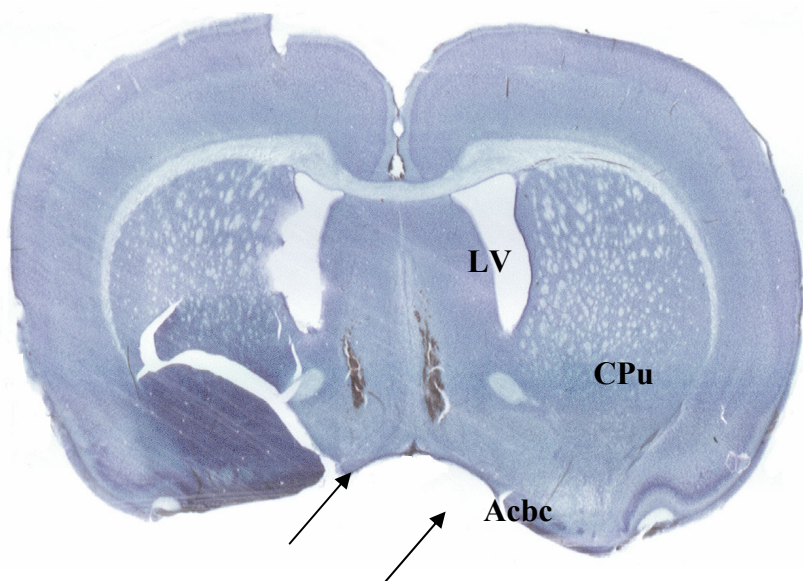
وابستگی به مرفین از طریق تزریق زیرجلدی مرفین به مدت ۵ روز صورت گرفت. بدین منظور تزریق مرفین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز اول و سپس 20mg/kg از روز دوم تا پنجم در ساعت ۹ صبح هر روز انجام شد. جهت ایجاد علایم سندرم قطع مرفین و ثبت علایم آن از تزریق درون صفاقی نالوکسان به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم 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

گونه عمل جراحی صورت نگرفت.

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 اکومینس صحیح انجام شده بود نتایج حاصل مورد آنالیز قرار می‌گرفت. (شکل ۱)

بررسی‌های هیستولوژیک

پس از پایان آزمایش‌ها و پس از ثبت علائم 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



شکل ۱: شمای هسته اکومینس که با روش نیسل رنگ آمیزی شده است. نوک پیکان محل ورود کانول به پوسته هسته اکومینس را نشان می‌دهد.

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

Tukey post test استفاده شد. در کلیه موارد سطح

معنی‌داری

$P < 0.05$ در نظر گرفته شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین بیان شده‌اند.

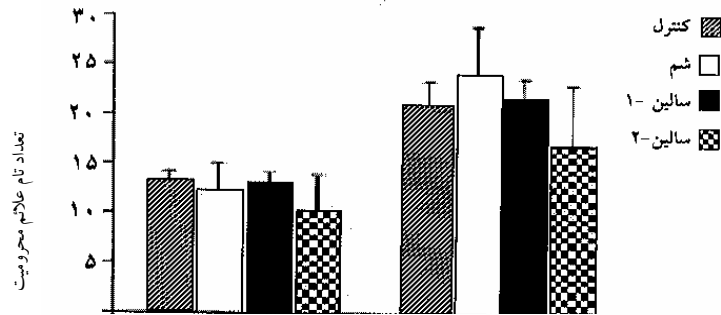
نتایج

آنالیز آماری

برای مقایسه اختلاف در شدت علائم کیفی از آزمون‌های Fisher exact test و Chi-square استفاده شد. برای مقایسه شدت علائم کمی سندرم قطع بین گروه‌ها آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و در جایی که اختلاف معنی‌دار بود

و گروه جراحی Sham مشاهده نشد (تست ANOVA و

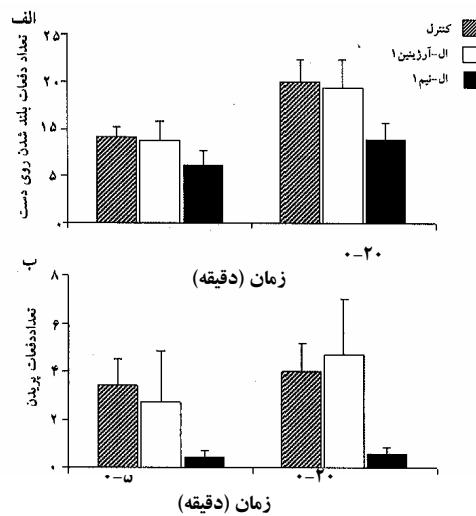
بروز علایم سندرم قطع مرفین:



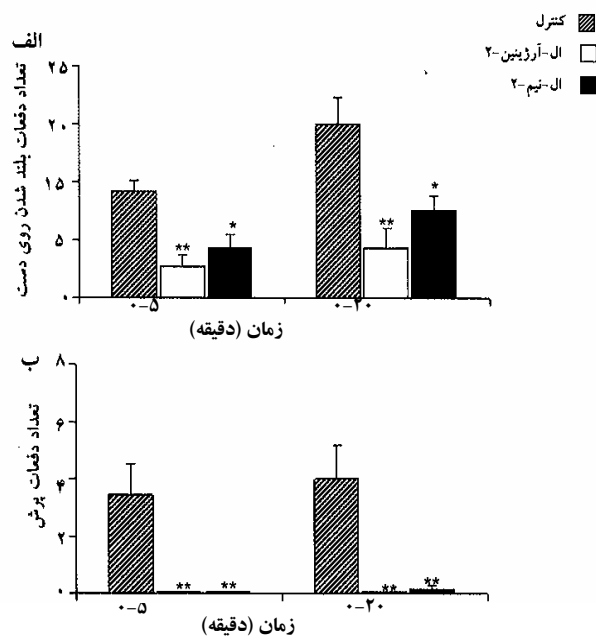
Chi-square). لذا گروه‌های آزمایشی ال - نیم و ال - آرژینین با گروه کنترل مقایسه شد. نمودار یک علایم کمی سندرم قطع مرفین را در گروه‌های مختلف در ۵ دقیقه اول و در مجموع ۲۰ دقیقه پس از تزریق نالوکسان نشان می‌دهد.

56 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

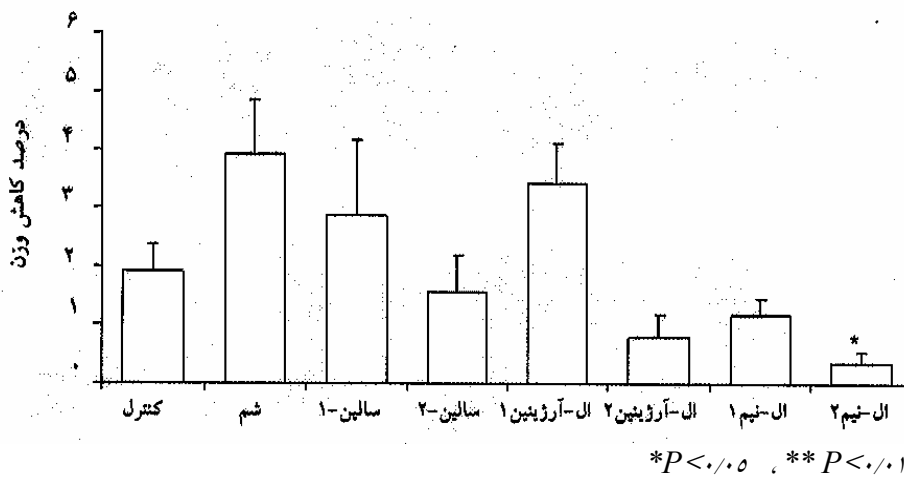
نمودار ۱: شدت بروز علایم سندرم قطع مرفین در گروه کنترل، جراحی Sham سالین-۱ و سالین-۲ در موش‌های صحرایی وابسته به مرفین. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده‌اند ($n=7$).



نمودار ۲: شدت علایم بلند شدن روی دست‌ها (الف) و پریدن (ب) پس از تزریق تک دوز ال - آرژینین (*L-Argel*) و ال - نیم (*L-NMMA*) در موش‌های وابسته به مرفین در مقایسه با گروه کنترل. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده‌اند ($n=7$).



نمودار ۳: شدت علائم بلند شدن روی دست‌ها (الف) و پریدن (ب) پس از تزریق مکرر ال-آرژینین (*L-Arg*) و ال-نیم (*L-NAME*) در موش‌های صحرایی وابسته به مرفین در مقایسه با گروه کنترل. علائم پریدن و بلند شدن روی دست‌ها در گروه درمانی در طی مدت زمان مشاهده علائم سندرم قطع کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان



داده شده‌اند ($n=7$). $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ *

نمودار ۴: مقایسه درصد کاهش وزن بین گروه‌های کنترل، جراحی Sham، تزریق تک دوز و مکرر سالین، ال-آرژینین (*L-Arg*) و ال-نیم (*L-NAME*) در موش‌های صحرایی وابسته به مرفین. میزان کاهش وزن در گروه ال-نیم (*L-NAME*) تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین نشان داده شده‌اند ($n=7$). $P < 0.05$ *

اکومبئس بر علائم سندرم قطع مرفین.

اثر تزریق تک دوز ال-آرژینین و ال-نیم به درون پوسته هسته

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 - نیم (مهارکننده NOS) بلافاصله قبل از آخرین تزریق زیرجلدی مرفین تأثیری بر علائم سندرم قطع مرفین در مقایسه با گروه کنترل نداشت ولی تزریق مکرر ال - نیم به درون پوسته هسته اکومبنس بلافاصله قبل از هر تزریق روزانه مرفین موجب کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل در بعضی از علائم 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 علائم 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 - نیم به صورت سیستمیک (۱۹،۲۰،۲۲) و یا درون بطنی (ICV) (11) و درون بعضی از هسته‌های مغزی (۳۱) موجب کاهش بروز بعضی از علائم سندرم قطع مرفین می‌شود. مطالعه حاضر اولین گزارش در مورد نقش نیتریک‌اکسید موجود در هسته اکومبنس بر علائم سندرم قطع مرفین در موش‌های صحرایی است.

مکانیزم‌های دقیق چگونگی کاهش علائم 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

تزریق ال - آرژینین و ال - نیم به صورت تک دوز قبل از آخرین دوز روزانه مرفین هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری را بر علائم سندرم قطع مرفین در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد و شدت علائم سندرم قطع در گروه‌های مذکور مشابه با گروه کنترل بود. نمودار ۲ مقایسه بروز علائم پریدن و بلند شدن بر روی دست‌ها را در بین گروه‌های تزریق تک دوز ال - آرژینین، ال - نیم و کنترل نشان می‌دهد.

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

تزریق مکرر ال - آرژینین به درون پوسته هسته اکومبنس بلافاصله قبل از تزریق روزانه مرفین موجب کاهش معنی‌داری در بعضی از علائم سندرم قطع از جمله پریدن ($P < 0.01$) و بلند شدن روی دست‌ها ($P < 0.01$) در ۵ دقیقه اول و در کل ۲۰ دقیقه ثبت علائم سندرم قطع مرفین در مقایسه با گروه کنترل گردید (نمودار A3 و B3). 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 - نیم به درون پوسته هسته اکومبنس بلافاصله قبل از تزریق زیرجلدی روزانه مرفین نیز موجب کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل در بعضی از علائم سندرم قطع مرفین از جمله پریدن ($P < 0.01$)، بلند شدن روی دست‌ها ($P < 0.05$) و کاهش وزن

($P < 0.05$) در طی ۵ دقیقه اول و در کل ۲۰ دقیقه زمان ثبت علائم سندرم قطع، گردید (به ترتیب نمودارهای A3، B3 و نمودار ۴). سایر علائم سندرم قطع از جمله

مکانیزم این اثر دقیقاً مشخص نیست ولی آثار فوق می‌تواند ناشی از بروز سمیت عصبی ناشی از افزایش میزان NO در پوسته هسته اکومبئس (۲۶،۲۳،۱۸،۲) و یا تفاوت در گونه و نژاد حیوانات مورد آزمایش، دوز داروهای مصرفی، پروتکل آزمایش و تجویز مکرر ال-آرژنین 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 علائم سندرم قطع مرفین تداخل پیدا کرده باشد. لذا پیشنهاد می‌شود که اثر مقادیر کم ال-آرژنین به درون پوسته هسته اکومبئس بر علائم سندرم قطع مرفین در آینده مورد بررسی قرار گیرد.

به طور خلاصه نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که تزریق ال-نیم به درون پوسته هسته اکومبئس موجب کاهش بعضی از علائم 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 اکومبئس در بروز بعضی از علائم 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.

وابستگی دارویی هستند (۳،۲۸،۲۹،۳۰) میزان دوپامین موجود در هسته اکومبئس در زمان بروز علائم 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 علائم سندرم قطع مخدرها می‌شوند (۱۷،۲۸). دلایل متعددی وجود دارد که حاکی از تداخل NO در انتقال گلوتاماترژیک است، بدین معنی که گلوتامات موجب افزایش آزاد شدن NO در هسته اکومبئس 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 اکومبئس شده و باعث افزایش شدت علائم سندرم قطع می‌شود (۷،۱۳،۲۹،۳۰). بنابراین تزریق مکرر درون هسته‌ای ال-نیم به پوسته هسته اکومبئس موجب کاهش میزان NO و در نتیجه کاهش عمل واسطه گلوتامات و کاهش بعضی از علائم سندرم قطع مخدرها می‌شود (۳۰،۲۸،۲۵،۱۳).

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز یک دوز ال-آرژنین به پوسته هسته اکومبئس بلافاصله قبل از تزریق آخرین دوز روزانه مرفین اثری بر شدت علائم سندرم قطع مرفین در مقایسه با گروه کنترل ندارد (نمودار ۲). ولی برعکس نتایج پیش‌بینی شده، تجویز مکرر ال-آرژنین به پوسته هسته اکومبئس بلافاصله قبل از تزریق روزانه مرفین موجب کاهش برخی از علائم سندرم قطع از جمله پریدن و بلند شدن روی دست‌ها شد.

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 Pharmacy, 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 cannula 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, Neurozi 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 I. 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.