مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
جلد چهار، شماره چهار- ب، زمستان ۱۳۸۴، ۳۴۱-۳۳۲

اثر اکسیدنیتریک در بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین و آپومورفین در موش

اشرف شیرازی[۱]، ناصر اصانلو[۲]، مهروز علاف‌جوادی[۳]، دکتر هدایت صحرایی[۴]، مریم خسروی[۲]

دریافت مقاله: ۱۳۸٤/۳/۲۰ اصلاح نهایی: ۱۳۸٤/۱۰/۱۵ پذیرش مقاله: ۱۳۸٤/۱۰/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: نیکوتین از مهم‌ترین داروهای اعتیادآور محسوب می‌شود. آزمایش‌ها نشان داده‌اند که مصرف مکرر نیکوتین باعث افزایش حساسیت حیوان به این دارو می‌شود به نحوی که مصرف مقادیر کم این دارو می‌تواند به بروز رفتارهای مختلفی از جمله افزایش حرکت منجر شود. هدف از این مطالعه بررسی نقش اکسید نیتریک و واسطه‌گری احتمالی دوپامین در حساسیت حرکتی القاء شده توسط نیکوتین است. با توجه به این که در بروز حساسیت، مسیرهای دوپامینی مغز را دخیل می‌دانند و برای اثبات آن از داروی آپومورفین استفاده می‌کنند، در این تحقیق نیز داروی آپومورفین به عنوان شاهدی بر تداخل اکسید نیتریک با مسیرهای دوپامینی مغز مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی اثر ال- آرژینین (پیش‌ساز اکسید نیتریک) و L-NAME (مهارگر سنتز اکسید نیتریک) بر کسب و بیان القای حساسیت توسط نیکوتین در موش کوچک آزمایشگاهی ماده نژاد N-MARI در محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم بررسی شد (n= ۷ سر موش در هر گروه آزمایشی). فعالیت حرکتی حیوانات با استفاده از دستگاه سنجش حرکت مادون قرمز سنجیده شد. دوزهای مختلف نیکوتین (۰/۲۵mg/kg، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵)، ال-آرژینین (۵mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰)، L-NAME (۵mg/kg، ۱۰ و ۲۰) و یا آپومورفین (۰/۱۲۵mg/kg، ۰/۵ و ۲) تزریق شده و اثر این داروها بر فعالیت حرکتی حیوانات ثبت شد. ال-آرژینین و یا L-NAME در روزهای القاء حساسیت و قبل از تجویز نیکوتین یا آپومورفین (کسب) و یا در روز آزمون قبل از تجویز دوز بی‌اثر نیکوتین و یا آپومورفین (بیان) به حیوانات تزریق شدند.

یافته‌ها: آزمایش‌ها نشان دادند که تجویز نیکوتین در دوز mg/kg ۱ باعث کاهش معنی‌دار فعالیت حرکتی حیوانات می‌شود. تجویز آپومورفین در دوز mg/kg ۰/۱۲۵ باعث افزایش معنی‌دار حرکت حیوانات شد. در حالی‌که تجویز ال-آرژینین اثری بر فعالیت حرکتی حیوانات نداشت، تجویز L-NAME در دوزهای mg/kg ۱۰ و ۲۰ باعث کاهش زیادی در فعالیت حرکتی حیوانات گردید. ال-آرژینین (۵mg/kg، ۱۰،۲۰ و ۵۰) اثری بر کسب حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین نداشت اما از کسب حساسیت حرکتی به آپومورفین جلوگیری کرد. تجویز ال-آرژینین در دوزهای فوق از بروز بیان حساسیت حرکتی توسط نیکوتین و آپومورفین جلوگیری کرد. تجویز L-NAME (۵mg/kg، ۱۰ و ۲۰) نیز از بروز کسب و بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین و آپومورفین جلوگیری کرد.

نتیجه‌گیری: از این آزمایش‌ها نتیجه‌گیری می‌شود که مهار ساخت اکسید نیتریک باعث مهار حساسیت حرکتی به نیکوتین و آپومورفین می‌شود. با توجه به این مسئله به نظر می‌رسد که اکسید نیتریک با تداخل با مسیرهای دوپامینی مغز باعث مهار حساسیت حرکتی به نیکوتین و آپومورفین شده است.

واژه‌های کلیدی: نیکوتین، اکسید نیتریک، ال-آرژینین، حساسیت، حرکت، آپومورفین

۱- کارشناس گروه آموزشی فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)

۲- استادیار گروه آموزشی زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

۳- مربی دانشکده پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)

۴- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی بقیه‌الله (عج)

تلفن: ۲۲۲۸۱۵۶۱ -۰۲۱، فاکس: ۲۲۲۸۱۵۶۱ -۰۲۱، پست الکترونیکی: h.sahraei@bmsu.ac.ir

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

مقدمه

مصرف سیگار از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی‌درمانی در کشور ما محسوب می‌شود و سالانه در کشور بودجه هنگفتی صرف عوارض ناشی از مصرف سیگارمی‌شود. وابستگی به نیکوتین مهم‌ترین دلیل دود کردن سیگار به شمار می‌رود. این ماده خصوصیات یک داروی مخدر شامل: القاء تحمل و وابستگی را از خود نشان می‌دهد. تحقیقات گسترده نشان می‌دهند که مسیرهای مؤثر در القاء وابستگی برای سایر داروهای مخدر، در مورد نیکوتین نیز مؤثرند. آزمایشات پیشنهاد می‌کنند که مسیر دوپامینرژیک مزوکورتیکولیمبیک به عنوان مهم‌ترین مسیر عملکرد نیکوتین می‌باشد [۱]. گیرنده‌های نیکوتینی استیل‌کولین در نواحی مختلف این مسیر مانند تگمنتوم شکمی و هسته‌آکومبانس یافت می‌شوند و تحریک این گیرنده‌ها به افزایش رها شدن دوپامین در هسته‌آکومبانس، آمیگدال، هیپوکمپ و قشر جلوپیشانی منجر شده و احساس لذت را در فرد مصرف کننده القاء می‌کند [۲-۳].

آزمایشات نشان داده‌اند که تجویز مکرر دوزهای نسبتاً کم نیکوتین می‌تواند به افزایش پاسخگویی فرد به آن منجر شود. این حالت را حساسیت یا تحمل معکوس می‌نامند و یکی از علل بازگشت معتادان به اعتیاد را این پدیده ذکر کرده‌اند [۴-۶]. مناطق مختلف مغز از جمله تگمنتوم شکمی و هسته‌آکومبانس را از قسمت‌هایی می‌دانند که در حساسیت دارویی نقش مهمی را دارند [۲، ۷-۸]. از نظر سلولی نیز تحقیقات مختلف گیرنده‌های دوپامینی [۷-۸]، گلوتاماتی [۹]، اوپیوییدی [۱۰] و گیرنده‌های نیکوتینی [۱۱] را در این امر دخیل می‌دانند.

یکی از راه‌های مهم در بررسی اثر داروهای مخدر در القاء حساسیت، بررسی اثر داروهای مخدر در القاء حرکت در حیواناتی است که قبلا این داروها را دریافت کرده بودند. لازم به توضیح است که داروهای مخدر بر حرکت حیوان نیز مؤثرند و می‌توانند باعث بروز حرکت بسیار زیاد در حیوانات شوند. این امر را حساسیت رفتاری نیز می‌نامند [۲، ۶-۷].

آزمایشات فراوانی نشان داده‌اند که اکسید نیتریک موجود در سیستم مزوکورتیکولیمبیک یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای مداخله‌گر در پاداش ناشی نیکوتین است [۱۲-۱۳]. برای مثال: مهار آنزیم اکسید نیتریک سنتاز توسط داروی 7-Nitro-indazole در موش‌های کوچک آزمایشگاهی به کاهش ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین می‌انجامد [۱۴]. هم‌چنین، مهار آنزیم فوق می‌تواند به مهار حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی منجر شود [۱۵-۱۶] . مهار آنزیم اکسید نیتریک سنتاز سبب کاهش عوارض ناشی از قطع مصرف دارو در موشهای کوچک آزمایشگاهی نیز می‌شود [۱۷]. از سوی دیگر، مصرف نیکوتین به افزایش بیان آنزیم اکسید نیتریک سنتاز می‌انجامد. در همین ارتباط نشان داده شده است که تجویز نیکوتین می‌تواند تا ۳۰٪ فعالیت آنزیم اکسید نیتریک سنتاز نوع عصبی را در آنزیم استخراج شده از سگ افزایش دهد [۱۸]. در یک آزمایش جامع نیز نشان داده شده است که نیکوتین بیان آنزیم اکسید نیتریک سنتاز را در نواحی مختلف مغز موش ازجمله کورتکس، هیپوکمپ، استریاتوم و مخچه افزایش می‌دهد [۱۹]. از سوی دیگر، تداخل عمل وسیعی بین اکسید نیتریک و دوپامین گزارش شده است. آزمایش‌ها نشان داده‌اند که اکسید نیتریک با مهار پروتئین‌های بازجذب کننده دوپامین در سیناپس‌های دوپامینی موجب افزایش میزان دوپامین در فضای سیناپسی می‌شود؛ هم‌چنین، غلظت بالایی از آنزیم اکسید نیتریک سنتاز در نواحی پاداشی مغز مانند تگمنتوم شکمی و هسته آکومبانس یافت می‌شود. در نهایت، مشخص شده است که اکسید نیتریک قادر به تحریک رها شدن دوپامین از پایانه‌های دوپامینی با و یا بدون واسطه کلسیم است [۱۲].

با توجه به مطالب عنوان شده به نظر می‌رسد که اکسید نیتریک نقش مهمی را در بروز اثرات نیکوتین بخصوص اثرات پاداشی آن در موش کوچک آزمایشگاهی بازی می‌کند. در همین ارتباط، در تحقیقات قبلی اثر اکسید نیتریک در کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین مورد بررسی قرار گرفت [۲۰]. هم‌چنین، نقش اکسید نیتریک در بروز حساسیت حرکتی به مورفین و آپومورفین در موش کوچک آزمایشگاهی نر بررسی شده است. با توجه به اینکه نقش اکسید نیتریک در بروز حساسیت حرکتی در موش کوچک

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

آزمایشگاهی مورد بررسی قرار نگرفته است، این تحقیق به منظور بررسی اثر اکسید نیتریک در یکی دیگر از خواص پاداشی نیکوتین یعنی بروز حساسیت حرکتی در موش کوچک آزمایشگاهی انجام شد. در کنار آن از داروی آپومورفین به عنوان یک داروی آگونیست دوپامینی برای مقایسه و نتیجه‌گیری نهایی که اثر اکسید نیتریک ممکن است از مسیر(های) دوپامینی اعمال شود، استفاده شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی ماده نژاد N-MARI (انستیتو پاستور ایران) با میانگین وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۲۰ تایی با دوره شبانه روزی طبیعی ودر دمای ۲۴-۲۲ درجه با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. در هر سری آزمایش ۷ سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

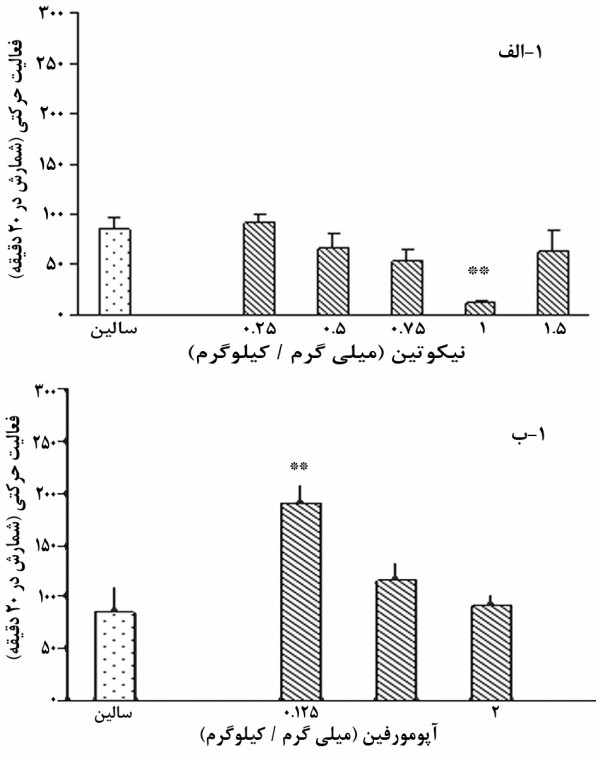
روش القاء حساسیت حرکتی به نیکوتین: برای القاء حساسیت به نیکوتین؛ به مدت پنج روز و هر روز یکبار نیکوتین (۰/۴ mg/kg) به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق می‌شد سپس حیوانات به مدت ۴ روز دارویی دریافت نمی‌کردند. در روز دهم، دوز کم اثر نیکوتین (۰/۲۵mg/kg) به حیوانات تزریق شده و هر حیوان به مدت ۲۰ دقیقه در داخل دستگاه مخصوص شمارش حرکت قرار می‌گرفت و فعالیت حرکتی حیوان در این مدت اندازه‌گیری می‌شد [۵-۴].

روش انجام آزمایش حساسیت حرکتی: برای انجام آزمایش، از یک دستگاه حرکت‌سنج فلزی (ساخت مرکز پژوهش بنیاد جانبازان-ایران) استفاده شد که دارای سه ردیف دیود مادون قرمز در دو دیواره بود. ابعاد این دستگاه ۳۰× ۳۰× ۳۰ سانتی‌متر (طول و عرض و ارتفاع) می‌باشد و دیودها در ارتفاع ۲ و ۲/۵ سانتی‌متری از کف دستگاه قرار داشت. این دیودها هرگونه حرکت حیوان را در داخل دستگاه ثبت می‌کردند. برای بررسی اثر هر دارو ابتدا حیوانات به محل آزمایش منتقل شده و پس از ۲۰ دقیقه که با محیط سازگار شدند، آزمایش شروع می‌شد. ابتدا به حیوانات دارو تزریق می‌شد و سپس ۵ دقیقه حیوان در داخل دستگاه قرار می‌گرفت تا با آن آشنا شود و پس از آن دستگاه روشن شده و به مدت ۱۰ دقیقه حرکت هر حیوان ثبت می‌شد [۵-۴].

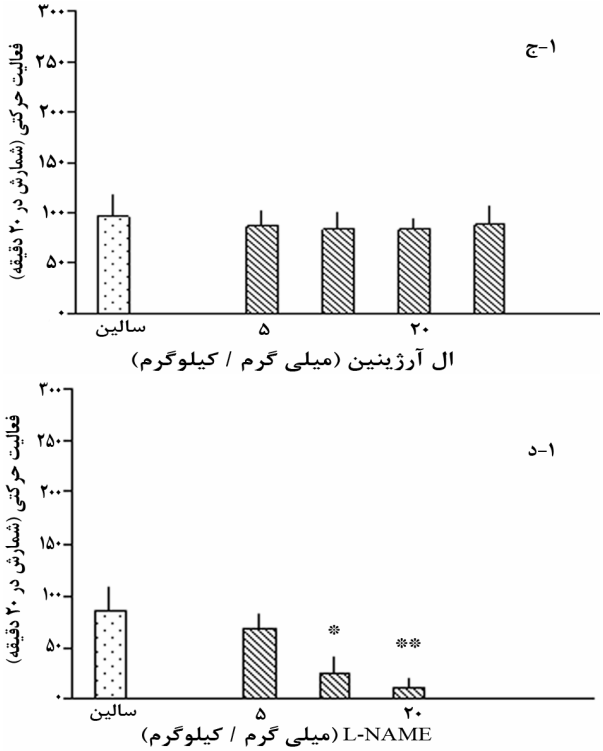
داروها: دراین تحقیق، نیکوتین هیدروژن تارتارات، آپومورفین هیدروکلراید، ال-آرژینین، L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl-ester) (سیگما-آمریکا) و اسید آسکوربیک (داروپخش-ایران) مورداستفاده قرار گرفتند. نیکوتین، ال-آرژینین و L-NAME در سالین و آپومورفین در محلول اسیدآسکوربیک (هم وزن آپومورفین) حل شده و با حجم ml/kg ۱۰ به صورت داخل صفاقی به حیوانات تجویز شدند. pH نیکوتین با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم به ۷/۲ می‌رسید.

گروه بندی دارویی

بررسی اثر نیکوتین، آپومورفین، ال-آرژینین و L-NAME در القاء فعالیت حرکتی: در این مرحله از آزمایشات دوزهای مختلف نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵)، آپومورفین (۰/۱۲۵، ۰/۵ و ۲)، ال-آرژینین (۵، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) و یا L-NAME (۵ mg/kg، ۱۰و ۲۰) به گروه‌های مختلف از حیوانات تزریق شد و پس از ۵ دقیقه زمان برای عادت کردن به محیط، اثر این داروها بر حرکت حیوان‌ها در ۲۰ دقیقه بررسی شد. گروه‌های کنترل سالین دریافت کردند (نمودار ۱-الف، ب، ج، د).



[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

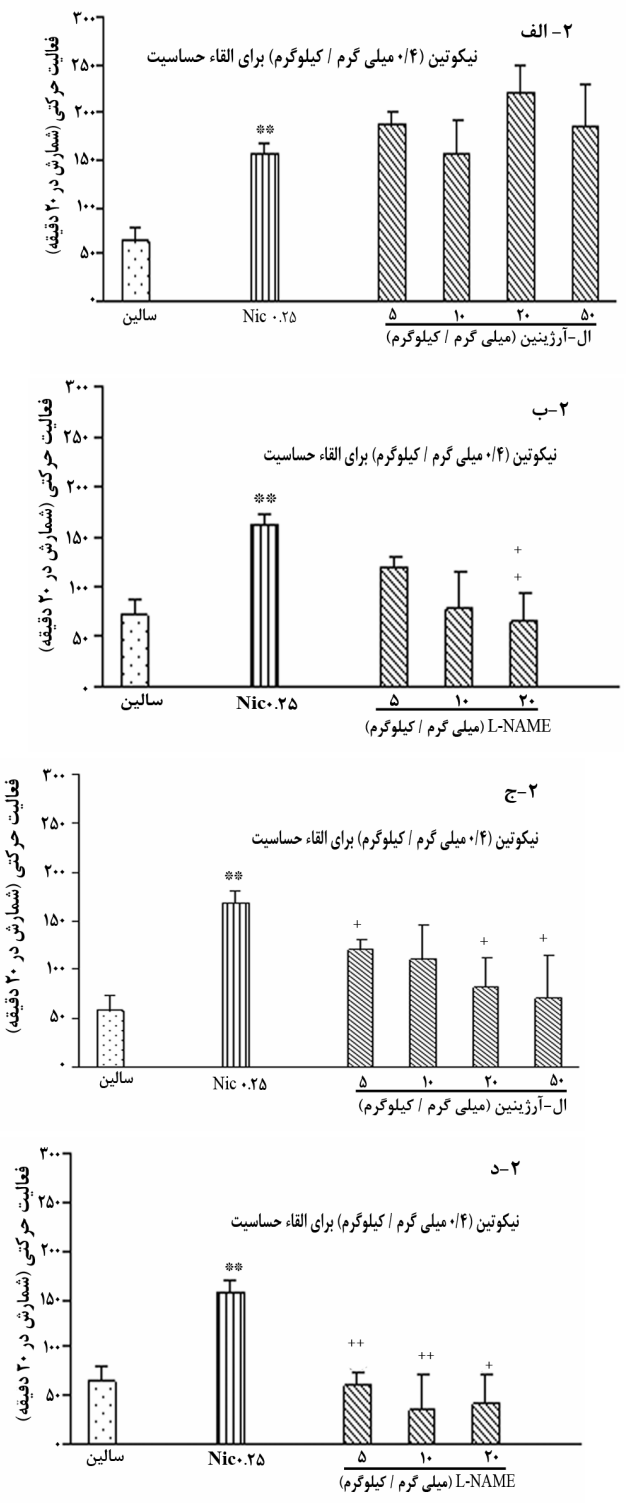


نمودار ۱: تاثیر تجویز مقادیر متفاوت نیکوتین (الف)، آپومورفین (ب)، ال-آرژینین (ج) و یا L-NAME (د) بر فعالیت حرکتی موش‌های کوچک آزمایشگاهی. هر نقطه بیانگر Mean±SEM برای ۷ سر حیوان است. ۰/۰۵ >p* و ۰/۰۱ >p** اختلاف نسبت به گروه کنترل است.

بررسی اثر ال-آرژینین و L-NAME بر کسب و بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین

در این قسمت، حیوانات ۵ روز و هر روز یک‌بار نیکوتین (۰/۴ mg/kg) دریافت می‌کردند. ۲۰ دقیقه قبل از تجویز نیکوتین، ابتدا به حیوانات دوزهای مختلف ال-آرژینین (۵mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) یا L-NAME (۵ mg/kg، ۱۰ و ۲۰) تجویز شد. سپس ۴ روز استراحت به حیوانات داده شد. در روز دهم، ابتدا به همه گروه‌ها نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg)، تزریق شد و پس از ۵ دقیقه زمان برای عادت کردن، فعالیت حرکتی هر حیوان در مدت زمان ۲۰ دقیقه بررسی شد. گروه‌های کنترل سالین دریافت کردند (نمودار۲-الف و۲-ب).

به منظور بررسی اثر داروهای نیتریک ارژیک بر بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین، چهار گروه از حیوانات ابتدا ۵ روز و هر روز یک‌بار نیکوتین (۰/۴ mg/kg) دریافت کردند. سپس ۴ روز استراحت به حیوانات داده شد. در روز دهم، ابتدا به حیوانات دوزهای مختلف ال-آرژینین (۵ mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) و یا L-NAME (۵ mg/kg، ۱۰ و ۲۰) تجویز شد، ۲۰ دقیقه بعد، نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg) به همه گروه‌ها تزریق شد و ۵ دقیقه حیوانات در داخل دستگاه قرار گرفتند تا با محیط سازگار شوند. سپس فعالیت حرکتی هر حیوان در مدت زمان ۲۰ دقیقه بررسی شد. گروه‌های کنترل سالین دریافت کردند (نمودار ۲- ج و ۲- د).



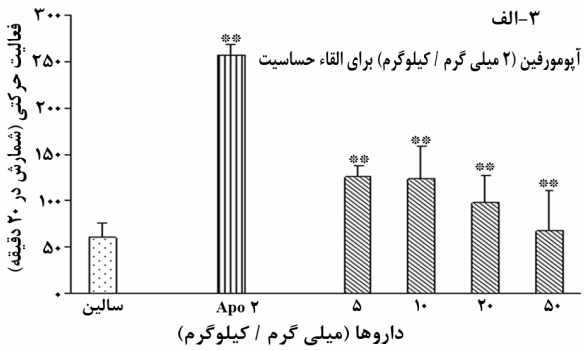
نمودار ۲: تاثیر تجویز ال-آرژینین و L-NAME بر کسب (الف و ب) و بیان (ج و د) حساسیت حرکتی به نیکوتین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. هر نقطه بیانگر Mean±SEM برای ۷ سر حیوان است. ۰/۰۱ >p** اختلاف نسبت به گروه کنترل سالین و ۰/۰۵ >p+ و ۰/۰۱ >p++ اختلاف نسبت به گروه حساس شده به نیکوتین است.

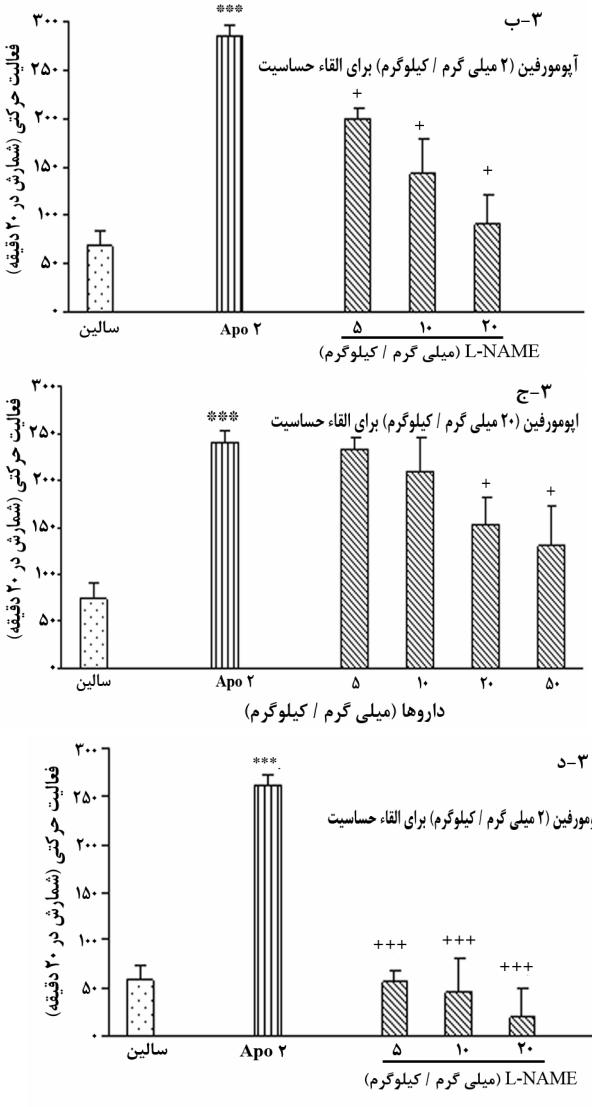
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

بررسی اثر ال-آرژینین و L-NAME بر کسب و بیان حساسیت حرکتی به آپومورفین

در این قسمت، حیوانات ۲ روز و هر روز یکبار آپومورفین (۲ mg/kg) دریافت می‌کردند. ۲۰ دقیقه قبل از تجویز آپومورفین، ابتدا به حیوانات دوزهای مختلف ال-آرژینین (۵mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) یا L-NAME (۵ mg/kg، ۱۰ و ۲۰) تجویز شد. سپس ۷ روز استراحت به حیوانات داده شد. در روز دهم، ابتدا به همه گروه‌ها آپومورفین (۲ mg/kg)، تزریق شد و پس از ۵ دقیقه زمان برای عادت کردن، فعالیت حرکتی هر حیوان در مدت زمان ۲۰ دقیقه بررسی شد. گروه‌های کنترل سالین دریافت کردند (نمودار ۳-الف و ۳-ب).

به منظور بررسی اثر داروهای نیتریک‌ارژیک بر بیان حساسیت حرکتی به آپومورفین، حیوانات ابتدا ۲ روز و هر روز یک‌بار آپومورفین (۲mg/kg) دریافت کردند. سپس۷ روز استراحت به حیوانات داده شد. در روز دهم، ابتدا به حیوانات دوزهای مختلف ال-آرژینین (۵ mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) و یا L-NAME (۵ mg/kg، ۱۰ و ۲۰) تجویز شد، ۲۰ دقیقه بعد، آپومورفین (۲mg/kg) به همه گروه‌ها تزریق شد و ۵ دقیقه حیوانات در داخل دستگاه قرار گرفتند تا با محیط سازگار شوند. سپس فعالیت حرکتی هر حیوان در مدت زمان ۲۰ دقیقه بررسی شد. گروه‌های کنترل سالین دریافت کردند (نمودار ۳-ج و ۳-د).





نمودار ۳: تاثیر تجویز ال-آرژنین و L-NAME بر کسب (الف و ب) و بیان (ج و د) حساسیت حرکتی به آپومورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. هر نقطه بیانگر Mean±SEM برای ۷ سر حیوان است. ** $p<0/01$ *** $p<0/001$ اختلاف نسبت به گروه کنترل سالین و + $p<0/05$ و ++ $p<0/01$ اختلاف نسبت به گروه حساس شده به آپومورفین است.

روش‌های آماری

اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار استاندارد (Mean ± SEM) فعالیت حرکتی حیوانات بیان شدند. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست توکی استفاده شد. $p<0/05$ مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

نتایج

بررسی فعالیت حرکتی حیوانات در پاسخ به نیکوتین، آپومورفین، ال-آرژینین و L-NAME

در این آزمایش، موش‌ها به چهار دسته تقسیم شدند. گروه اول به روش ذکر شده در قسمت روش‌ها دوزهای مختلف نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵)، گروه دوم دوزهای مختلف آپومورفین (۰/۱۲۵mg/kg، ۰/۵ و ۲)، گروه سوم دوزهای مختلف ال-آرژینین (5mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) و گروه چهارم دوزهای مختلف L-NAME (5 mg/kg، ۱۰ و ۲۰) را دریافت کرده و پس از ۵ دقیقه از نظر فعالیت حرکتی تست شدند. گروه‌های کنترل سالین و یا محلول اسیدآسکوربیک دریافت کردند. نتایج نشان می‌دهد که تجویز نیکوتین در این حیوانات سبب کاهش فعالیت حرکتی می‌شود [F=(۵/۳۶)=۳/۶۱ ،p<۰/۰۰۱] (نمودار ۱-الف). در حالی که تجویز آپومورفین سبب افزایش فعالیت حرکتی حیوانات شد [F=(۳/۲۴)=۴/۶۱ ،p<۰/۰۰۰۲] (نمودار ۱-ب). از سوی دیگر، در حالی که تجویز ال‌آرژینین هیچ اثری از خود نشان نداد [F=(۴/۳۰)=۰/۶۷ ،p>۰/۰۰۵] (نمودار ۱-ج)، تجویز L-NAME باعث کاهش شدید فعالیت حرکتی حیوانات شد [F=(۳/۲۴)=۵/۳۱ ،p<۰/۰۰۱] (نمودار ۱-د).

بررسی اثر ال-آرژینین و L-NAME بر کسب حساسیت حرکتی به نیکوتین

شکل A۲ نشان می‌دهد که هنگامی که حیوانات در روزهای القاء حساسیت قبل از دریافت نیکوتین (۰/۴ mg/kg) دوزهای مختلف ال-آرژینین (5 mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) را دریافت کردند، تغییر معنی‌داری در فعالیت حرکتی آن‌ها در روز تست دیده نشد [F=(۵/۲۶)=۱/۲۲ ،p>۰/۰۵] (نمودار ۲-الف). تجویز L-NAME در مقادیر (5 mg/kg، ۱۰ و ۲۰) در روزهای القاء حساسیت و ۲۰ دقیقه قبل از تجویز نیکوتین (۰/۴)، سبب کاهش معنی‌دار حساسیت حرکتی به نیکوتین گردید [F=(۴/۳۰)=۴/۶۱ ،p<۰/۰۵]، (نمودار ۲-ب).

بررسی اثر ال-آرژینین و L-NAME بر بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین

تجویزال-آرژینین در دوزهای (5 mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) به حیوانات در روز تست و ۲۰ دقیقه قبل از تجویز نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg) به حیوانات سبب کاهش معنی‌دار بیان حساسیت حرکتی حیوانات به نیکوتین می‌گردد [F=(۵/۳۶)=۵/۷۸ ،p<۰/۰۱]، (نمودار ۲-ج). به همین ترتیب، تجویز L-NAME نیز در مقادیر (5 mg/kg، ۱۰ و ۲۰) در روز تست و ۲۰ دقیقه قبل از تجویز نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg)، سبب کاهش معنی‌دار بیان حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین می‌گردد [F=(۴/۳۰)=۶/۸ ،p<۰/۰۰۰۱]، (نمودار ۲-د).

بررسی اثر ال-آرژینین و L-NAME بر کسب حساسیت حرکتی به آپومورفین

شکل A۳ نشان می‌دهد که هنگامی که حیوانات در روزهای القاء حساسیت قبل از دریافت آپومورفین (2 mg/kg) دوزهای مختلف ال-آرژینین (5 mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) را دریافت کردند، تغییر معنی‌داری در فعالیت حرکتی آن‌ها در روز تست دیده شد [F=(۵/۳۶)=۷/۱۲ ،p>۰/۰۰۱] (نمودار ۳-الف). تجویز L-NAME در مقادیر (5 mg/kg، ۱۰ و ۲۰) در روزهای القاء حساسیت و ۲۰ دقیقه قبل از تجویز آپومورفین، سبب کاهش معنی‌دار حساسیت حرکتی به آپومورفین گردید [F=(۴/۳۰)=۶/۲۸ ،p<۰/۰۰۱]، (نمودار ۳- ب).

بررسی اثر ال-آرژینین و L-NAME بر بیان حساسیت حرکتی به آپومورفین

تجویزال-آرژینین در دوزهای (5 mg/kg، ۱۰، ۲۰ و ۵۰) به حیوانات در روز تست و ۲۰ دقیقه قبل از تجویز آپومورفین (2 mg/kg) به حیوانات سبب کاهش معنی‌دار بیان حساسیت حرکتی حیوانات به آپومورفین می‌گردد [F=(۵/۳)=۸/۲ ،p<۰/۰۰۱]، (نمودار ۳-ج). به همین ترتیب، تجویز L-NAME نیز در مقادیر (5 mg/kg، ۱۰ و ۲۰) در روز تست و ۲۰ دقیقه قبل از تجویز آپومورفین (2 mg/kg)، سبب کاهش معنی‌دار بیان حساسیت حرکتی ناشی از آپومورفین می‌گردد [F=(۴/۳۰)=۵/۶۸ ،p<۰/۰۰۰۱]، (نمودار ۳-د).

بحث

این تحقیق به منظور بررسی اثر اکسید نیتریک بر حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین در موش کوچک آزمایشگاهی ماده طراحی شد. آزمایش‌های ما نشان دادند که تجویز حاد نیکوتین می‌تواند به القاء بی‌حرکتی شدید در

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

حیوانات منجر شود. این نتیجه در مطالعات قبلی نیز به دست آمده است و یکی از خواص مهم نیکوتین به شمار می‌رود [۲۱]. القاء بی‌حرکتی توسط نیکوتین به دلیل اثر این دارو بر مراکز حرکتی موجود در مغز و نخاع بوده و به همین دلیل معتقدند که این دارو بجای تحریک حرکتی در حیوان‌ها، باعث القاء کاتالپسی در آن‌ها می‌شود [۲۱]. در آزمایش حاضر، مقادیر متفاوتی از نیکوتین مورد استفاده قرار گرفت اما تنها دوز ۱ میلی‌گرم این دارو از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با بقیه دوزها داشت. شاید به این دلیل که زمان اندازه‌گیری حرکات ۲۰ دقیقه بود. افزایش زمان اندازه‌گیری ممکن است نتایج دیگری را به دنبال داشته باشد. تجویز حاد آپومورفین نیز که یک آگونیست عمومی گیرنده‌های دوپامینی محسوب می‌شود می‌تواند به افزایش حرکات در حیوانات منجر شود. این نتیجه نیز قبلا تکرار شده است [۲۲]. آپومورفین به دلیل آن که آگونیست مستقیم گیرنده‌های دوپامینی می‌باشد، می‌تواند با تحریک این گیرنده‌ها اثرات مختلف افزایش دوپامین در مغز مانند افزایش فعالیت حرکتی [۲۲] را القاء کند. از اینرو، این دارو به عنوان یک معیار و محک خوب برای نسبت دادن فعالیت یک سیستم یا دارو به فعالیت دوپامین در مغز کاربرد دارد. تجویز ال-آرژینین به عنوان پیشتاز اکسید نیتریک، سبب افزایش و یا کاهش حرکات در حیوانات نشد. در تحقیقات قبلی دوزهای بالاتر ال-آرژینین افزایش حرکت در حیوانات را نشان داده است [۲۲]. هم‌چنین، تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که تجویز ال-آرژینین می‌تواند به القاء ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر [۲۰] و القاء خود-تجویزی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی [۲۳] منجر شود. محققان در علت بروز این پدیده‌ها آن را به اثر ال-آرژینین در افزایش اکسید نیتریک و در نتیجه افزایش غلظت خارج سلول دوپامین در مسیر مزوکورتیکولیمبیک نسبت داده‌اند. احتمال دارد که میزان اکسید نیتریک رها شده توسط ال-آرژینین در این آزمایش به اندازه‌ای که بتواند دوپامین کافی در هسته آکومبانس برای القاء فعالیت حرکتی رها کند، نبوده است. تجویز L-NAME به عنوان مهارگر تولید اکسید نیتریک باعث القاء بی‌حرکتی در حیوانات شد. این نتیجه نیز با نتایج قبلی همخوانی دارد [۲۲]. مهارگران آنزیم اکسید نیتریک سنتاز به عنوان داروهای بالابرنده فشار خون مطرح هستند. ممکن است افزایش فشار خون در این حیوانات باعث افت فعالیت حرکتی در این حیوانات شده باشد. به هر حال، ربط دادن کاهش اکسید نیتریک فیزیولوژیک را که بعد از تجویز L-NAME به وقوع می‌پیوندد با تغییر در فعالیت مسیر دوپامینی مزوکورتیکولیمبیک، بسیار مشکل است.

آزمایش‌های حاضر نشان دادند که تجویز مکرر و منقطع نیکوتین سبب بروز حساسیت حرکتی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی ماده می‌شود. نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهند که تجویز مکرر نیکوتین در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نیز قادر به القاء حساسیت حرکتی می‌باشد [۱۶-۱۵]. در مورد موش‌های کوچک آزمایشگاهی باید گفت که نتایج متناقض است. هرچند برخی از محققان نشان داده‌اند که تجویز نیکوتین به صورت منقطع باعث بروز حساسیت حرکتی در این حیوانات می‌شود [۵-۴] اما تحقیقاتی وجود دارند که از عدم توانایی نیکوتین در القاء حساسیت حرکتی در این حیوانات حکایت دارد (برای مرور رجوع شود به: ۱۳). تحقیقات ما در هم‌خوانی با نتایج دسته اول محققان است اما با نتایج محققان دسته دوم همخوان نیست. بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که نیکوتین با تحریک مسیر دوپامینی مزوکورتیکولیمبیک و افزایش رها شدن دوپامین در هسته آکومبانس اثر خود را در القاء حساسیت دارویی القاء می‌کند [۲۱، ۱۱، ۷، ۳-۲]. چنین فرض شده است که نیکوتین با اثر بر گیرنده‌های خود از نوع موسوم به α-7 که بر روی نورن‌های دوپامینی در ناحیه تگمنتوم شکمی و هسته آکومبانس به صورت پیش‌سیناپسی قرار دارند، باعث ورود یون کلسیم به سلول پیش‌سیناپسی و افزایش رها شدن دوپامین در ناحیه مزولیمبیک شده و در نتیجه پاداش و حساسیت حرکتی القاء می‌شود [۲،۷،۱۱،۲۱،۲۴]. این افزایش دوپامین با افزایش حرکات استریوتایپ مانند فعالیت حرکتی و جویدن و حرکات غیر استریوتایپی مانند بوکشیدن مداوم همراه است [۷]. به علاوه، امروزه اطلاعاتی در دست است که نشان می‌دهند که دیگر نوروترانسمیترها مانند گلوتامات [۱۶-۱۵، ۹] و اکسید نیتریک [۱۲،۱۶] در عملکرد تحریکی نیکوتین دخالت دارند.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

تجویز مکرر آپومورفین نیز توانست حساسیت حرکتی را در موش‌های آزمایشگاهی کوچک القاء کند. نتایج ما با نتایج قبلی در این زمینه هم‌خوانی دارد [۲۲] و نشان می‌دهد که تجویز مکرر آگونیست‌های مستقیم دوپامینی می‌تواند به بروز حساسیت حرکتی در آن‌ها منجر شود. هرچند این داروها حساسیت حرکتی را در حیوانات القاء می‌کنند، اما تجویز آن‌ها تمام اثرات داروهای مخدر را در حیوانات نشان نمی‌دهد. علت این موضوع شاید اثر گسترده و غیر اختصاصی این داروها در سایر مناطق دوپامینی مغز باشد.

تجویز ال-آرژینین اثر خاصی را بر کسب حساسیت حرکتی به نیکوتین از خود نشان نداد اما بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین را کاهش داد. هم‌چنین، تجویز L-NAME باعث مهار هم کسب و هم بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین شد. در تحقیقات قبلی، تجویز ال-آرژینین باعث تقویت کسب و مهار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی شده است [۲۰]. از سوی دیگر، تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که ال-آرژینین کسب و بیان حساسیت حرکتی به مورفین را تقویت می‌کند [۲۲]. نتایج حاضر با توجه به مطالعات قبلی تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل تفاوت در روش کار (تفاوت بین ترجیح مکان شرطی شده و حساسیت حرکتی) که در نتیجه تفاوت در مسیرهای فعال شده در مغز باشد [۷]. و یا تفاوت به داروهای مورد استفاده (مورفین و نیکوتین) و عملکرد متفاوت آن‌ها (هرچند تشابهات زیادی با هم دارند) برگردد. در آزمایش‌های قبلی، L-NAME توانسته است کسب حساسیت حرکتی به نیکوتین را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر خنثی کند [۱۵]. این نتیجه با نتایج ما در مورد موش‌های کوچک آزمایشگاهی هم‌خوانی دارد. اما Shim و همکاران نشان دادند که L-NAME قادر به مهار بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین در این موش‌ها نیست [۱۶]. این قسمت با نتایج ما در تباین است. ممکن است علت تفاوت به گونه حیوانات مربوط باشد.

تجویز هم ال-آرژینین و هم L-NAME باعث مهار کسب و بیان حساسیت حرکتی به آپومورفین شد. در آزمایشات قبلی نتایج مشابهی در ارتباط با L-NAME دیده شده است [۲۲]. اما نتایج ما با نتایج قبلی در مورد ال-آرژینین یکسان نیست. شاید علت بروز این اختلاف این باشد که در تحقیق قبلی از دوزهای بالاتر ال-آرژینین (۱۰۰ mg/kg) استفاده شده است و در این آزمایش دوزهای پایینتر دارو مورد استفاده قرار گرفته است [۲۲].

علت به دست آمدن این نتایج را اگر بخواهیم بیان کنیم بایستی به این نکته اشاره کنیم که تجویز داروهای مؤثر بر سیستم نیتریک‌ارژیک می‌تواند به افزایش دوپامین در هسته آکومبانس منجر شود [۱۹]. این هسته از مهم‌ترین مناطق درگیر در بروز واکنش‌های مربوط به حساسیت دارویی در مغز می‌باشد [۸-۷]. افزایش دوپامین در این هسته با افزایش فعالیت حرکتی در حیوان همراه است. از سوی دیگر، این هسته محل اصلی القاء وابستگی روانی در حیوانات است که با افزایش تعداد فشار دادان پدال در آزمایشات خود-تجویزی و افزایش زمان سپری شده در محل دریافت دارو در آزمایشات ترجیح مکان شرطی شده نشان داده می‌شود [۲۰،۲۳]. این امکان وجود دارد که با تزریق ال-آرژینین، مقدار اکسید نیتریک در نواحی پاداشی مغز بخصوص هسته آکومبانس افزایش یافته و بدین ترتیب، اثرات خود را بر دوپامین در این ناحیه اعمال کرده باشد. این اثر با توجه به سویه حیوان و نیز با توجه به نوع داروی اولیه ممکن است افزایش اثر دارو یا مهار اثر داروی مورد نظر باشد. بایستی اشاره کرد که هنوز در مورد تفاوت‌های بین سویه‌ای به ال-آرژینین یا سایر داروهای رها کننده اکسید نیتریک، مطالعه‌ای انجام نگرفته است و تحقیق در این زمینه می‌تواند بسیار جالب باشد. تجویز L-NAME در مورد هر دو دارو سبب کاهش کسب و بیان حساسیت حرکتی به این دو دارو شد. شاید بتوان اعلام کرد که مهار تولید اکسید نیتریک می‌تواند به مهار حساسیت حرکتی به نیکوتین و آپومورفین منجر شود و از اینجا نیز نتیجه گرفت که این دو دارو مکانیسم‌های مشابهی را در القاء حساسیت حرکتی به کار می‌گیرند. به هر حال، در اینکه هر دو دارو از مکانیسم‌های دوپامینی وابسته به سیستم مزوکورتیکولیمبیک برای القاء حساسیت حرکتی سود می‌برند، اتفاق نظر وجود دارد. هم‌چنین، L-NAME در تحقیقات قبلی توانایی خود را در مهار کسب ترجیح مکان شرطی شده به نیکوتین و کسب و

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

بیان حساسیت حرکتی به آپومورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نشان داده است [۲۰،۲۲]. از سوی دیگر، خود دارو به تنهایی سبب بروز بیحرکتی در حیوانات می‌شود. بنابراین، ممکن است نتیجه گیری شود که کاهش حساسیت حرکتی حداقل در مرحله بیان، به دلیل بروز تداخل بین اثرات کاهش دهنده حرکت توسط L-NAME از یک طرف و داروهای نیکوتین و آپومورفین از طرف دیگر باشد. در آزمایشات دیگران نیز کاهش کسب حساسیت حرکتی به نیکوتین در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در نتیجه تجویز L-NAME دیده شده است [۱۶]. بنابراین، نتیجه حاضر حداقل در قسمتی با نتایج قبلی هم‌خوانی دارد. علت بروز پاسخ‌های یکسان به ال-آرژینین و L-NAME نیز مشخص نیست. در تحقیقات گذشته به طور مکرر عملکرد متضاد از این دو دارو مشاهده شده است. یکی از دلایل شاید این باشد که نیکوتین و آپومورفین در ارتباط با اکسید نیتریک مکانیسم‌های متفاوتی را در مغز فعال می‌کنند. و این مکانیسم‌های متفاوت ممکن است به بروز این پاسخ‌ها منجر شده باشد. در هرحال، بایستی در این مورد تحقیقات بیشتری انجام شود تا دلیل این تشابه روشن شود.

نتیجه‌گیری

در نهایت، این تحقیق نشان داد که مکانیسم‌های وابسته به اکسید نیتریک در بروز حساسیت حرکتی به نیکوتین و آپومورفین تا حدودی دخالت دارند و این نتیجه با نتایج قبلی در مورد تداخل بین اکسید نیتریک و نیکوتین در ترجیح مکانی شرطی در موش کوچک آزمایشگاهی و حساسیت حرکتی در موش بزرگ آزمایشگاهی و هم‌چنین نقش اکسید نیتریک در سیگار کشیدن [۱۳]، هم‌خوانی دارد.

تشکر و قدردانی

این کار قسمتی از طرح تحقیقاتی مرکز تحقیقات علوم رفتاری؛ پژوهشکده طب رزمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) می باشد که بدین‌وسیله از حمایت مالی مرکز مذکور تشکر به عمل می‌آید.

References

[1] Baker TB, Brandon TH, Chassin L. Motivational influences on cigarette smoking. *Annu Rev Psychol,* 2004; 55: 463-491.

[2] Balfour DJ, Benwell ME, Birrell CE, Kelly RJ, Al-Aloul M. Sensitization of the mesoaccumbens dopamine response to nicotine. *Pharmacol Biochem Behav,* 1998; 59(4): 1021-30.

[3] Bannon MJ, Roth RH: Pharmacology of mesocortical dopamine neurons. *Pharmacol Rev,* 1983; 35(11): 53-68.

[4] Biala G, Weglinska B. Calcium channel antagonists attenuate cross-sensitization to the rewarding and/or locomotor effects of nicotine, morphine and MK-801. *J Pharma Pharmacol,* 2004; 56(8): 1021-28.

[5] Biala G: Calcium channel antagonists suppress nicotine-induced place preference and locomotor sensitization in rodents. *Polish J Pharmcol,* 2003; 55(3): 327-35.

[6] Booze RM, Welch MA, Wood ML, Billings KA, Apple SR, Mactutus CF. Behavioral sensitization following repeated intravenous nicotine administration: gender differences and gonadal hormones. *Pharmacol Biochem Behav,* 1999; 64(4): 827-39.

[7] Cadoni C, Di Chiara G. Differential changes in accumbens shell and core dopamine in behavioral sensitization to nicotine. *Eur J Pharmacol,* 2000; 387(3): 23-25.

[8] Di Chiara G: Role of dopamine in the behavioral actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol,* 2000; 393(1-3): 295-314.

[9] Fu Y, Matta SG, Gao W, Brower VG, Sharp BM. Systemic nicotine stimulates dopamine release in nucleus accumbens: re-evaluation of the role of N-methyl-D-aspartate receptors in the ventral tegmental area. *J Pharmacol Exp Ther,* 2000; 294(2): 458-65.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]

[10] Pomerleau OF. Endogenous opioid and smoking: a review of progress and problems. *Psychoneuroendocrinology*. 1998; 23(2): 115-30.

[11] Pidoplichko VI, Noguchi J, Areola OO, Liang Y, Peterson J, Zhang T, et al. Nicotine cholinergic synaptic mechanisms in the ventral tegmental area contribute to nicotine addiction. *Learn Mem,* 2004; 11(1): 60-9.

[12] Pogun S, Demirgoren S, Taskiran D, Kanit L, Yilmaz O, et al. Nicotine modulates nitric oxide in rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol,* 2000; 10(16): 463-72.

[13] Vleeming W, Rambali B, Opperhuizen A. The role of nitric oxide in cigarette smoking and nicotine addiction. *Nicotine Tob Res,* 2002; 4(3): 341-8.

[14] Martin JL, Itzhak Y. 7-Nitroindazole blocks nicotine-induced conditioned place preference but not LiCl-induced conditioned place aversion. *Neuroreport,* 2000; 11(5): 947-9.

[15] Shim I, Kim HT, Kim YH, Chun BG, Hahm DH, Lee EH, et al. Role of nitric oxide synthase inhibitors and NMDA receptor antagonist in nicotine-induced behavioral sensitization in the rat. *Eur J Pharmacol,* 2002; 443(1-3): 119-24.

[16] Shim I, Javaid JI, Wirtsshafter D, Jang SY, Shin KH, Lee HJ, et al. Nicotine-induced behavioral sensitization is associated with extracellular dopamine release and expression of c-Fos in the striatum and nucleus accumbens of the rat. *Behav Brain Res,* 2001; 121(1-2): 137-47.

[17] Adams ML, Cicero TJ. Nitric oxide mediates mecamylamine- and naloxone-percipitated nicotine withdrawal. *Eur J Pharmacol,* 1998; 345: R1-R2.

[18] Tonnessen BH, Severson SA, Hurt RD, Miller VM. Modulation of nitric-oxide synthase by nicotine. *J Pharmacol Exp Ther,* 2000; 295(2): 601-6.

[19] Pogun S, Baumann MH, Kuhar MJ. Nitric oxide inhibits [3H] dopamine uptake. *Brain Res,* 1994; 641(1): 83-91.

[20] Sahraei H, Falahi M, Zarrindast MR, Sabetkasaei M, Ghoshooni H, Khalili M. The effects of nitric oxide on the acquisition and expression of nicotine-induced conditioned place preference in mice. *Eur J Pharmacol,* 2004; 503(1-3): 81-7.

[21] Picciotto MR. Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. *Trend Pharmacol Sci*, 2003; 24(9): 493-9.

[22] Zarrindast MR, Faraji N, Rostami P, Sahraei H, Ghoshouni H. Cross-tolerance between morphine- and nicotine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav,* 2003; 74(2): 363-9.

[23] Sahraei H, Poorheidari G, Foadaddini M, Khoshbaten A, Asgari A, Noroozzadeh A, et al. Effects of nitric oxide on morphine self-administration in rat. *Pharmacol Biochem Behav,* 2004; 77(1): 111-6.

[24] Grottick AJ, Trube G, Corrigall WA, Huwyler J, Malherbe P, Wyler R, et al. Evidence that nicotine alpha (7) receptors are not involved in the hyperlocomotor and rewarding effects of nicotine. *J Pharmacol Exp Ther,* 2000; 294(3): 1112-9.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1384.4.4.16.0]