

اثر اکسید روی نانو و توده‌ای بر بیان ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مرفین در موش‌های سوری

مریم خیری^۱، مهناز کسمتی^{۲*}، حسین نجف‌زاده^۳ و سیدرضا فاطمی^۴

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۲۰

چکیده

غلظت یون روی (Zn^{2+}) خارج سلولی فاکتور مهمی در تنظیم فعالیت اوبیوئیدهاست، اما مطالعه‌ی چندانی در خصوص اثر این یون در مقیاس نانو بر وابستگی به اوبیوئیدها صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق، مقایسه‌ی اثر نانوذرات اکسید روی و نوع توده‌ای آن بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین بوده است. در این مطالعه از ۱۱۲ سر موش سوری نر بالغ با وزن 25 ± 3 گرم در ۱۶ گروه (۷ سر در هر گروه) استفاده شد. در مرحله‌ی اول، مقادیر متفاوت مرفین (۱۰، ۵، ۲/۵ mg/kg, SC) به منظور تعیین مقدار مؤثر دارو برای القاء ترجیح مکان شرطی شده با استفاده از متد طرفدار (Bias) تجویز شد. در مرحله‌ی دوم اثر مقادیر متفاوت نانو اکسید روی (۱۰، ۵، ۲/۵ mg/kg, IP) و اکسید روی توده‌ای (۱۰، ۵، ۲/۵ mg/kg, IP) بر بیان ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مرفین ارزیابی گردید. مرفین به صورت وابسته به دوز باعث افزایش زمان سپری شده در مکان دریافت مرفین گردید (ترجیح مکان شرطی شده) ($p < 0.001$). این افزایش در گروه دریافت کننده‌ی دوز (۱۰ و ۵ mg/kg) مرفین کاملاً معنی‌دار بود. اکسید روی نانو و توده‌ای قادر به القاء ترجیح مکانی نشدند. نانو اکسید روی در کلیه‌ی مقادیر فوق ($P < 0.001$, $P < 0.05$) و اکسید روی توده‌ای در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی-گرم ($P < 0.001$) سبب کاهش معنی‌دار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین (۵ mg/kg) گردیدند. نانوذرات اکسید روی اثر مهارتی قوی‌تری در مقایسه با نوع توده‌ای نشان داد. به نظر می‌رسد، نانوذرات روی قابلیت بیش‌تری برای مهار وابستگی به مرفین در مقایسه با نوع توده‌ای دارند و احتمال دارد این اثر به واسطه‌ی تعامل بهتر با سیستم‌های نوروشیمیایی درگیر در فرآیند وابستگی به اوبیوئیدها باشد.

کلمات کلیدی: مرفین، نانو ذرات اکسید روی، اکسید روی توده‌ای، ترجیح مکانی شرطی شده

مقدمه

گیرنده‌های اوبیوئیدی و NMDA در پیشرفت فرآیند وابستگی به مرفین با یکدیگر همکاری دارند (Blasie et al. 2010). شواهدی مبنی بر تعدیل اتصالات گیرنده‌های اوبیوئیدی و NMDA توسط آگونیست‌های گیرنده NMDA و اوبیوئیدها، فرضیاتی را در مورد مکانیسم‌های سلولی تحمل، اثر ضد دردی و انعطاف‌پذیری عصبی فراهم می‌کند. در چند مطالعه نشان داده شده که گیرنده‌های NMDA نقش بارزی در پدیده تحمل و وابستگی

امروزه مکانیسم‌ها و عوامل اصلی مرتبط با وابستگی به اوبیوئیدها در مغز تا حدود زیادی شناخته شده‌اند (Hyman and Malenka 2001). اکنون به خوبی روشن شده است که در ایجاد وابستگی به مواد مخدر، سیستم‌های گلوتاماترژیک و دوپامینرژیک مغز اهمیت زیادی دارند (Fan et al. 1999). گزارش‌هایی مبنی بر وساطت گیرنده‌های NMDA^۱ گلوتامات در اثرات ناشی از مرفین در سیستم اعصاب مرکزی ارائه شده که نشان می‌دهد

^۱ دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

(نویسنده‌ی مسئول)

E-mail: m.kesmati@scu.ac.ir

^{۲*} دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۳ استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۴ دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

et al. 2013). از آنجائی که اثر نانو ذرات اکسید روی به عنوان منبع جدیدی از یون روی بر وابستگی حاصل از سیستم اپیوئیدی مطالعه نشده است و هم‌چنین مقایسه‌ای بین نانو اکسید روی و نوع معمولی در زمینه‌ی میزان اثر بخشی آن در افراد معتاد صورت نگرفته و با توجه به تداخل احتمالی بین یون روی و گیرنده‌های اپیوئیدی، در این مطالعه که اولین مطالعه محسوب می‌شود، اثر نانو ذرات اکسید روی و اکسید روی توده‌ای بر بیان ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مرفین به عنوان روشی مناسب برای ارزیابی وابستگی به اپیوئیدها صورت گرفته است.

مواد و روش کار

حیوانات

در این پژوهش از موش‌های سوری نر نژاد NMRI با میانگین وزنی 25 ± 3 گرم تهیه شده از خانه‌ی حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۷ تایی با شرایط آزمایشگاهی 23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و در دوره‌ی ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی همراه تهویه‌ی مناسب و آب و غذای کافی نگهداری شدند. برای کاهش استرس و سازگاری حیوان با محیط جدید و آزمایش‌گر به مدت یک هفته حیوانات دستی می‌شدند. کلیه‌ی آزمایش‌های روی موش‌ها با رعایت اصول در منشور اخلاقی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد.

روش القای ترجیح مکان شرطی شده (CPP)

Conditioned Place Preference

دستگاه CPP

در این آزمایش از دستگاه چوبی دارای خانه‌های تاریک و روشن با ابعاد $30 \times 16 \times 45$ سانتی‌متر (طول و عرض و ارتفاع) استفاده شد. خانه‌ها از طریق یک دریچه‌ی گیوتینی به هم مرتبط می‌شدند. دوره‌ی آزمایش ترجیح مکان شرطی شده شامل سه مرحله است:

متعاقب اثرات ضد درد اپیوئیدی ایفا می‌کنند (Trujillo 2000). به طوری که آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA (مثل MK-801) و آنتاگونیست رقابتی این گیرنده (مثل LY27614) تحمل و وابستگی به مرفین را در موش صحرائی مهار می‌کند (Plic et al. 2007). یون روی Zn^{++} به عنوان آنتاگونیست غیر رقابتی NMDA (Watt et al. 2011) نیز عمل می‌کند. از سوی دیگر مشخص شده که Zn^{++} تمایل اپیوئیدها به گیرنده‌های خود را کم کرده ولی با افزایش رهاسازی آن‌ها سبب افزایش اثر بخشی آن‌ها می‌گردد (Lin et al. 2010). در واقع Zn^{++} خارج سلولی فاکتور مهمی در فعالیت اپیوئیدهاست و این شاید دلیلی باشد که کمبود Zn^{++} در CNS معتادان سبب وابستگی طولانی مدت آن‌ها به اپیوئیدها می‌شود (Larson et al. 2000). در گزارش دیگر مرتبط با تداخل Zn^{++} و سیستم اپیوئیدی مرکزی مشخص شده است که مرفین با اثر بر زیر واحد NR در NMDA سبب افزایش نفوذپذیری این گیرنده به یون‌های Zn^{++} و Ca^{++} به داخل سلول می‌شود (Rodríguez-Muñoz et al. 2008). به نظر می‌رسد نوعی تعامل پیچیده و مبهم بین سیستم اپیوئیدی و عملکرد یون روی وجود داشته باشد که بررسی بیشتر روابط عملی بین آن‌ها ضروری می‌نماید.

در سال‌های اخیر توجه محققین علوم زیستی، تغذیه و پزشکان نسبت به نانو ذرات اکسید روی به شدت جلب شده است. امروزه نانو ذرات غیرآلی موضوع اصلی در پزشکی و انتقال دارو هستند (Li et al. 2008). در مطالعه‌ی اخیر این آزمایشگاه نشان داده شد نانو ذرات اکسید روی که به عنوان مکمل جدیدی در عرصه‌ی دارویی و تغذیه‌ای کاربردهای متنوعی یافته است، در مقایسه با نوع معمولی اثر مهاری بیشتر و مؤثرتری بر رفتارهای شبه اضطرابی اعمال نموده و پیشنهاد شده دارد که شاید به واسطه‌ی تداخل با گیرنده‌های اپیوئیدی و نفوذ بهتر به سلول‌ها و تأثیر بخشی بیشتر از طریق گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی عمل نموده است (Torabi

مرحله‌ی پیش شرطی‌سازی

در اولین روز هر دوره پس از برداشتن دریچه‌ی گیوتینی، هر حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه قرار گرفته تا با محیط آن آشنا شود. زمان سپری شده در هر قسمت دستگاه در این روز ثبت می‌شد. نتایج نشان داد که موش‌ها تمایل ذاتی به قسمت تاریک دستگاه نشان داده و بنابراین از شیوه‌ی طرفدار (Bias) برای ادامه‌ی کار استفاده شده و موش‌ها در قسمت روشن دستگاه شرطی شدند.

مرحله‌ی شرطی‌سازی

برای شرطی نمودن حیوانات به مکان معینی، به مدت سه روز به طور متناوب به آن‌ها دارو تزریق می‌شد بدین صورت که در ساعت ۹ صبح روز دوم، پس از توزین حیوانات، مرفین به صورت زیرجلدی تزریق و پس از بستن دریچه‌ی گیوتینی به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت روشن دستگاه (مکان شرطی) قرار داده می‌شدند. شش ساعت بعد به حیوانات سالیین تزریق نموده و به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت تاریک دستگاه قرار داده می‌شدند. در روز سوم زمان تزریق مرفین و سالیین را برعکس نموده در روز چهارم زمان تزریقات مانند روز دوم بود.

مرحله‌ی پس از شرطی‌سازی (مرحله‌ی آزمون)

در روز پنجم آزمایش‌ها ابتدا به حیوانات سالیین یا دارو (نانو اکسید روی و یا اکسید روی توده‌ای) به صورت درون صفاقی (به صورت حاد) تزریق و نیم ساعت بعد، پس از برداشتن دریچه‌ی گیوتینی حیوان در داخل دستگاه قرار می‌گرفت تا برای مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه حرکت کند. مدت زمان توقف هر حیوان در هر قسمت دستگاه ثبت شد و زمان توقف در قسمت دریافت دارو (قسمت روشن دستگاه) از زمان توقف حیوان در قسمت دریافت سالیین (قسمت تاریک) کم شد که به عنوان نمره‌ی شرطی شدن (Conditioning Score) در نظر گرفته می‌شد (Zarrindast et al. 2002).

داروها

در این پژوهش مرفین سولفات مصرف شده از شرکت تمارد ایران تهیه گردید. مرفین در سالیین حل شده و با حجم ۱ ml/kg به صورت زیرجلدی مورد استفاده قرار گرفت. نانو ذرات اکسید روی (از شرکت لولیتک آلمان) و اکسید روی توده‌ای (از شرکت مرک آلمان) درون سالیین (۰/۹ درصد) توسط دستگاه حمام التراسونیک به مدت ۱۵ دقیقه پراکنده گردیدند و سپس پیش از هر بار مصرف توسط دستگاه لرزاننده مجدد پراکنده گردیده و به صورت درون صفاقی تجویز می‌شد. گروه‌های کنترل سالیین را به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

اساس گروه‌بندی

بررسی اثر مرفین بر القاء ترجیح مکان شرطی شده

برای تعیین مقدار مؤثر مرفین در القاء ترجیح مکان شرطی شده سه گروه از موش‌ها، دوزهای مختلف مرفین (۱۰، ۵، ۲/۵ mg/kg) را برای القای ترجیح مکان شرطی و طی مرحله‌ی شرطی شدن دریافت نمودند و روز آزمون سالیین دریافت و به مدت ۱۰ دقیقه مورد آزمون قرار گرفتند.

بررسی اثر نانو اکسید و اکسید روی توده‌ای بر القاء

ترجیح مکان شرطی شده

به منظور تعیین اثر اکسید روی نانو و توده‌ای بر القاء ترجیح مکانی به سه گروه از موش‌ها، مقادیر مختلف نانو اکسید روی (۱۰، ۵، ۲/۵ mg/kg) و سه گروه دیگر اکسید روی معمولی با مقادیر مشابه جهت القای ترجیح مکانی شرطی شدن (مطابق پروتکل) تزریق و روز آزمون سالیین دریافت و به مدت ۱۰ دقیقه مورد آزمون قرار گرفتند. گروه کنترل در هر مرحله فقط سالیین را دریافت کرد.

بررسی اثر اکسید روی توده‌ای و نانو اکسید روی بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین

به شش گروه از موش‌ها در روزهای القاء شرطی شدن، مرفین (۵ mg/kg) تزریق شد. در روز آزمون ۳۰

نتایج

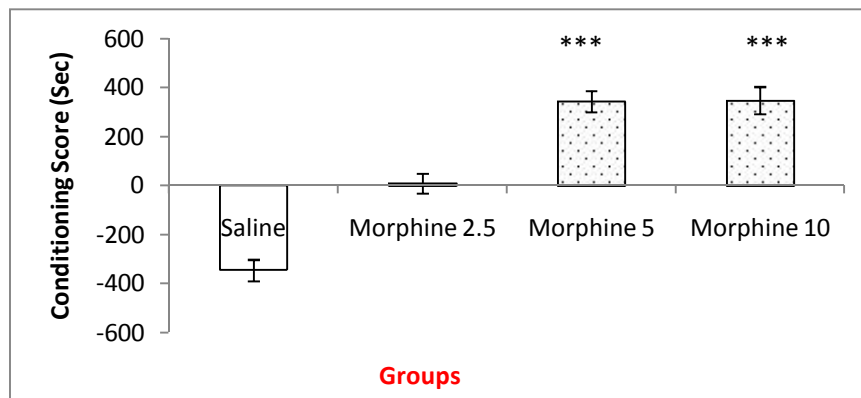
بررسی القا ترجیح مکان شرطی شده توسط مرفین

آنالیز آماری داده‌های حاصل از تزریق مزمن مرفین نشان می‌دهد که این دارو در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم با $P < 0.001$ سبب افزایش نمره‌ی شرطی شدن می‌شود (ترجیح مکان شرطی شده). به عبارت دیگر با ترجیح مکان دریافت دارو وابستگی به مرفین در موش ظاهر می‌گردد (نمودار ۱). چون مقدار ۵ mg/kg مرفین مشابه ۱۰ میلی‌گرم اثر نمود در آزمایشات بعدی از این مقدار استفاده شد.

دقیقه قبل از آزمایش به سه گروه از آنها نانو اکسید روی با مقادیر (۱۰، ۵، ۲/۵) و به سه گروه دیگر اکسید روی توده‌ای با مقادیر (۱۰، ۵، ۲/۵) تزریق و حیوان‌ها به مدت ۱۰ دقیقه مورد آزمون قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار Instate 3 و روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one-way) و آزمون Tukey بررسی شدند. در تمام آزمایشات سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. نمودارها بر اساس میانگین نمره‌ی شرطی شدن \pm انحراف معیار از میانگین (Mean \pm SEM) رسم شدند.

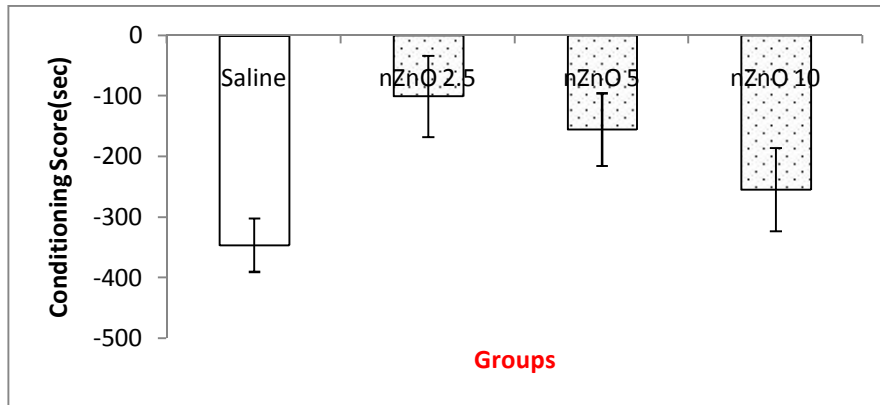


نمودار ۱: اثر مرفین در القا ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های سوری. نتایج به صورت (Mean \pm SEM) نمره‌ی شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ($P < 0.001$) در آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و توکی.

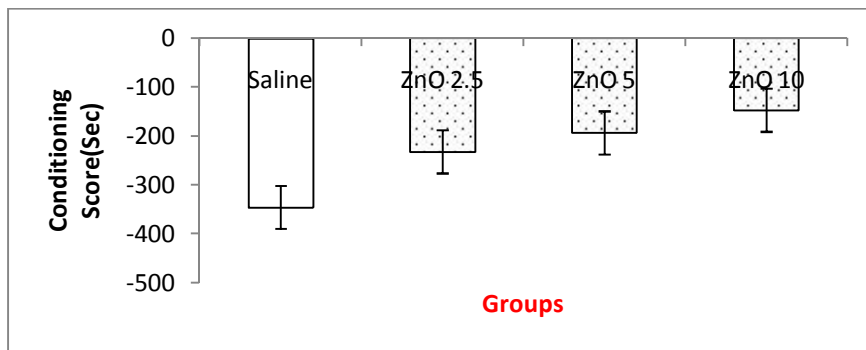
می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه و توکی اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های دریافت هر دو دارو و گروه کنترل نشان نداد بدین ترتیب نانوذرات اکسید روی و اکسید روی توده‌ای باعث القا ترجیح مکان شرطی نشدند.

بررسی القا ترجیح مکان شرطی شده توسط نانو اکسید روی و اکسید روی توده‌ای

نمودارهای ۲ و ۳ اثر تجویز مقادیر مختلف نانوذرات اکسید روی و اکسید روی توده‌ای (۱۰ و ۵، ۲/۵) را در تزریق مزمن بر القا ترجیح مکان شرطی نشان



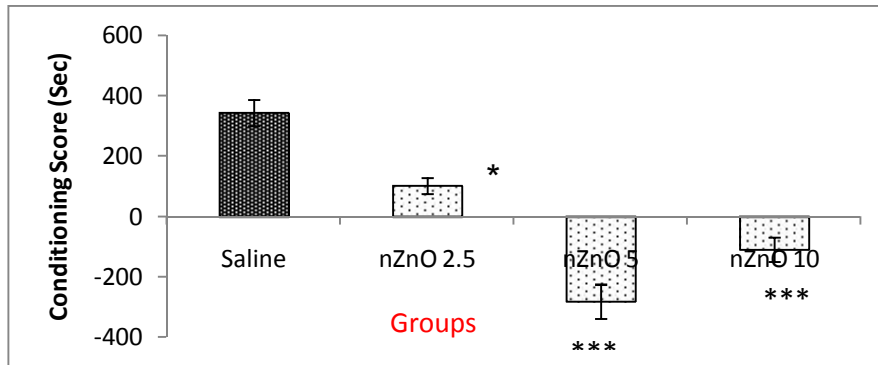
نمودار ۲: اثر تجویز مزمن نانو اکسید روی در القا ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتیجه به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است. آنالیز واریانس یک طرفه و توکی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف نانو اکسید روی و کنترل نشان نمی‌دهد.



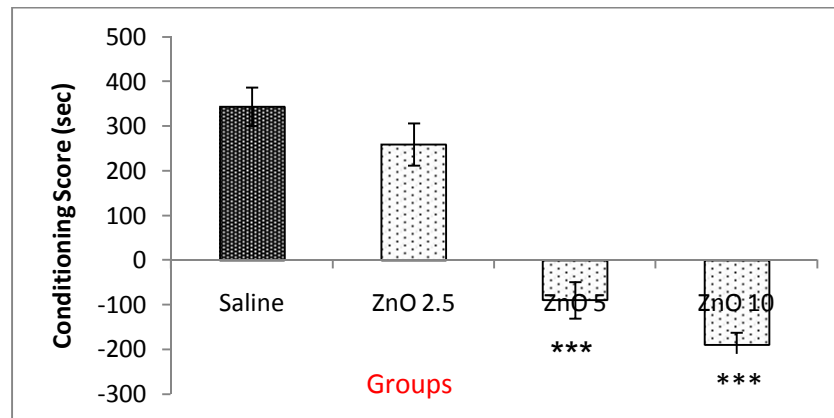
نمودار ۳: اثر تجویز مزمن اکسید روی توده‌ای در القا ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتیجه به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است. آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف اکسید روی توده‌ای و کنترل نشان نمی‌دهد.

باعث کاهش معنی‌دار نمره‌ی شرطی شدن حاصل از مرفین شد (نمودار ۴) در حالی که اکسید روی توده‌ای در مقدار ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثری نداشت و فقط در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری ($P < 0/001$) مؤثر بود (نمودار ۵) و از نظر مقایسه با نانو اکسید روی در مقدار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P < 0/001$) و در سایر مقادیر اختلاف نسبی مشاهده شد (نمودار ۶).

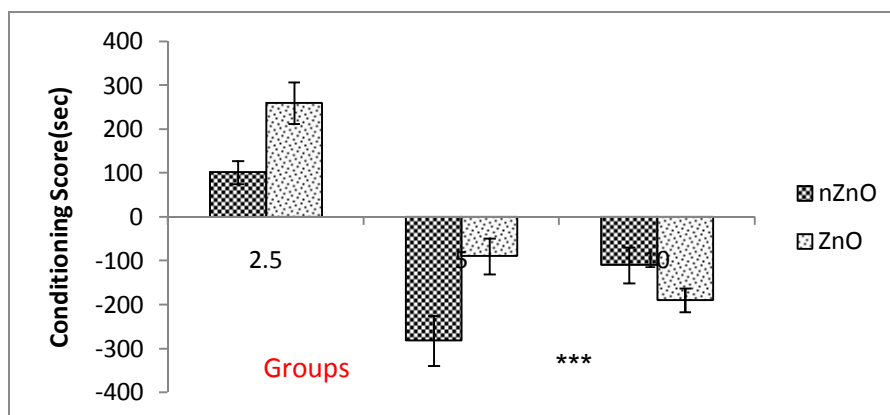
اثر نانو اکسید روی و اکسید روی توده‌ای بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که تجویز نانو اکسید روی و اکسید روی توده‌ای، میزان بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ($P < 0/001$). نتایج حاصل از آزمون توکی نشان داد که نانو اکسید روی در مقادیر ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب با $P < 0/001$ ، $P < 0/001$ و $P < 0/001$



نمودار ۴: اثر تجویز حاد نانواکسید روی در بیان ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتیجه به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است. در آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one – way) و آزمون Tukey اختلاف معنی‌دار با گروه سالین *** (P<۰/۰۰۱) * (P<۰/۰۵).



نمودار ۵: اثر تجویز حاد اکسید روی توده‌ای در بیان ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتیجه به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است. در آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one – way) و آزمون Tukey اختلاف معنی‌دار با گروه سالین *** (P<۰/۰۰۱).



نمودار ۶: مقایسه‌ی اثر تجویز حاد اکسید روی معمولی و نانو اکسید روی بر شاخص‌های بیان ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتیجه به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است. آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one – way) و آزمون Tukey نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار (*** P<۰/۰۰۱) بین گروه‌های دریافت کننده مقدار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسید و نانو اکسید روی می‌باشد.

بحث

در نواحی هدف توسط ورودی‌های تحریکی و مهاری که به این ناحیه وارد می‌شود کنترل می‌گردد (Wittmann et al. 2005). اصلی‌ترین ورودی‌های تحریکی به ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی، نورون‌های گلوتاماترژیک هستند (Carr and Sesack 2000). ورودی‌های مهاری نیز نورون‌های گابائترژیک هستند (Kalivas et al. 1993).

گیرنده‌های NMDA گلوتامات موجود در ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی و هسته‌ی آکومبسن برای بیان CPP مرفین ضروری می‌باشند به طوری که در تأیید این مسأله، تجویز سیستمیک آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA سبب بلوک کسب و بیان CPP ناشی از مرفین می‌شود (Kim et al. 1995, Tzschentke and Schmidt 1996). تحریک گیرنده‌های یونوتروپیک گلوتامات مانند NMDA در تسهیل اثرات وابستگی به مرفین نقش دارند (Mao et al. 2002). در مغز و نخاع، یون روی نیز به همان نسبت اویپوئیدها با گیرنده‌های NMDA عملکرد متقابل دارد. روی به صورت آلوستریک یک آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA محسوب می‌گردد (Wilson et al. 2008). این یون از طریق گیرنده‌های NMDA سبب مهار عملکرد گلوتامات و با کاهش میزان آن از طریق افزایش گابا مانع از افزایش زیر واحد NR1 گیرنده‌ی NMDA می‌گردد و در نتیجه، فسفریلاسیون گیرنده NMDA پس از فعال شدن گیرنده اویپوئیدی را کاهش می‌دهد (Rodriguez-Munoz et al. 2008). مسیر احتمالی اثر روی در کاهش وابستگی به مرفین کاهش خروج گلوتامات در سیستم عصبی مرکزی است که می‌تواند با افزایش نوروترانسمیتر گابا صورت گیرد. در فضای پیش سیناپسی در مغز، یون روی به همراه گلوتامات خارج می‌شود و بر علامت دهی گلوتامات اثر مهاری دارد (Takeda et al. 2007). یون روی سبب تحریک خروج گابا از نورون‌های حد واسط در هیپوکمپ می‌گردد بنابراین، سبب افزایش اثرات مهاری این نوروترانسمیتر بر

این مطالعه نشان داد که مرفین در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست در موش‌ها در مدل CPP با بروز رفتار ترجیح برای مکان دریافت آن نسبت به مکان دریافت سالیین وابستگی ایجاد نماید. بروز این وابستگی در این مطالعه با سایر مطالعات انجام یافته از جمله اسدی و همکاران در سال ۲۰۱۱ که نشان داده‌اند این مقادیر از مرفین قادر است در تست‌های CPP وابستگی ایجاد نمایند هم‌خوانی دارد. هم‌چنین در این مطالعه نشان داده شد که تجویز مزمن نانواکسید روی و اکسید روی توده‌ای به تنهایی نتوانستند سبب القای CPP گردند اما تجویز حاد نانواکسید روی و اکسید روی توده‌ای با تأثیری متفاوت سبب مهار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین شدند. به عبارت دیگر یون روی حاصل از اکسید روی نانو و توده‌ای به نحوی با سیستم پاداشی حاصل از مرفین در مغز تداخل کرده و سبب پاسخ‌های تنفیری در موش شده‌اند. مکانیسم عمل احتمالی برای یون روی به طور کامل مشخص نیست، اما با بررسی سیستم‌های دخیل در پاداش و وابستگی به مرفین چند احتمال را می‌توان داد. اکنون به خوبی روشن شده است که در ایجاد وابستگی به مواد مخدر سیستم‌های دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک مغز اهمیت زیادی دارد (دودانگه و همکاران ۱۳۸۱). دوپامین یکی از میانجی‌های عصبی در سیستم اعصاب مرکزی شناخته شده است و شواهدی مبنی بر این که مسیر دوپامینرژیک مزولیمبیک دارای نقش اساسی در میانجی‌گری پاداش ناشی از مرفین باشد ارائه گردیده است (White and Wang 1984) برخی مطالعات نشان می‌دهند که تحریک فارماکولوژیکی گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی در ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی^۱ VTA آزادسازی دوپامین در هسته‌ی آکومبسن را زیاد می‌کند (Tzschentke and Schmidt 2000). از طرف دیگر میزان رهایش دوپامین از نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی

1- Ventraltegmental area

خونی مغزی کمک می‌کند (Rothen-Rutishauser et al. 2006, Fernandez 2006) و همین امر می‌تواند تعاملات آن‌ها را با گیرنده‌های مورد نظر بهبود بخشد. بدین ترتیب قابلیت بیش‌تر نانو ذرات اکسید روی در مهار بیان ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مرفین ممکن است مربوط به خصوصیات فیزیوشیمیایی منحصر به فرد نانو ذرات در مقایسه با نوع توده‌ای آن‌ها باشد.

در یک نتیجه‌گیری کلی باید عنوان کرد که یون روی تولید شده از نانو اکسید روی در مقابل اکسید روی توده‌ای تأثیر و کارایی بیش‌تری برای مهار بیان ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مرفین را نشان می‌دهد و احتمالاً این اثر از طریق تغییر فعالیت سیستم‌های نوروشیمیایی مانند گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی و یا گابا اعمال شده است. در عین حال برای به کارگیری نانو اکسید روی در ترک وابستگی روانی به مرفین در موارد انسانی نیاز به مطالعه‌ی بیش‌تری می‌باشد.

نورون‌های دیگر و در نتیجه کاهش خروج گلوتامات می‌گردد (Takeda and Tamano 2009). هر یک از مسیرهای نام برده از قبیل: افزایش خروج گابا، کاهش خروج گلوتامات، مهار عملکرد گیرنده‌های NMDA و مهار آزادسازی دوپامین می‌توانند مسیرهای احتمالی در اثر یون بر کاهش وابستگی به مرفین باشند که البته ممکن است مسیرهای دیگر نیز در این اثر دخالت داشته باشند.

نتایج این مطالعه نیز نشان داد که نانو اکسید روی بر مهار بیان ترجیح مکانی شرطی ناشی از مرفین در مقایسه با اکسید روی توده‌ای مؤثرتر است. در تأیید این موضوع، برخی مطالعات نشان داده‌اند که نانو اکسید روی نسبت به نوع توده‌ای، اثر بیش‌تری در کاهش اضطراب و درد در موش‌های صحرایی دارند (Torabi et al. 2013). با توجه به این که از خصوصیت مهم نانو ذرات و نانو داروها، بالاتر بودن نسبت سطح به حجم آن‌ها در مقایسه با داروهای معمولی است که این افزایش نسبی، منجر به افزایش حلالیت، سرعت جذب و عبور راحت‌تر آن‌ها از سد

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه بوده و از حمایت مالی و معنوی معاون پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به صورت گرانت (شماره ۹۰/۰۲/۱۸۶۷۲) برخوردار بوده و بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- mesocortical neurons. *Journal of Neuroscience*, 20(10): 3864-3873.
- Costa, B.M.; Irvine, M.W.; Fang, G.; Eaves, R.J.; Mayo-Martin, M.B.; Skifter, D.A. et al. (2010). A novel family of negative and positive allosteric modulators of NMDA receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 335: 614-621.
- Fan, G.H.; Wang, L.Z.; Qiu, H.C.; Ma, L. and Pei, G. (1999). Inhibition of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in rat hippocampus attenuates morphine tolerance and dependence. *Molecular Pharmacology*, 56: 39-45.
- Fernandez, P.I. (2007). Nanotechnology, nanomedicine and nanopharmacology. *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, 124(1): 189-200.
- دودانگه، احسان؛ جعفری، محمدرضا؛ علایی، حجت‌اله؛ نسیمی، علی و اسماعیلی، محمدحسین (۱۳۸۱). اثر اسید آسکوربیک بر خورد تزریقی هروئین در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی. فصل‌نامه کومش، جلد ۳، شماره ۳، صفحات ۱۴۵-۱۵۴.
- Assadi, A.; Zarrindast, R.; Jouyban, A. and Samini, M. (2011). Comparing of the effects of hypericin and synthetic antidepressants on the expression of morphine-induced conditioned place preference. *Journal of Pharmaceutical Research*, 10 (3): 619-626.
- Carr, D.B. and Sesack, S.R. (2000). Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and

- Hyman, S.E. and Malenka, R.C. (2001). Addiction and brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(10): 695-703.
- Kalivas, P.W.; Churchill, L. and Klitenick, M.A. (1993). GABA and enkephalin projection from the nucleus accumbens and ventral pallidum to the ventral tegmental area. *Neuroscience*, 57(4): 1047-60.
- Kim, H.S.; Jang, C.G. and Park, W.K. (1996). Inhibition by MK-801 of morphine-induced conditioned place preference and postsynaptic dopamine receptor super sensitivity in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 55(1): 11-17.
- Larson, A.A.; Kovacs, K.J. and Spartz, A.K. (2000). Intrathecal Zn²⁺ attenuates morphine antinociception and the development of acute tolerance. *European Journal of Pharmacology*, 407: 267-272.
- Li, Z.; Yang, R.S.; Yu, M.; Bai, F.; Li, C. and Wang, Z.L. (2008). Cellular level biocompatibility and biosafety of ZnO nanowires. *Journal of Physical Chemistry*, 112(51): 20114-20117.
- Lin, S.L.; Tsai, R.Y.; Shen, C.H.; Lin, F.H.; Wang, J.J.; Hsin, S.T. and Wong, C.S. (2010). Co-administration of ultra-low dose naloxone attenuates morphine tolerance in rats via attenuation of NMDA receptor neurotransmission and suppression of neuroinflammation in the spinal cords. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 96: 236-245.
- Mao, J.; Sung, B.; Ji, R.R. and Lim, G. (2002). Chronic morphine induces down regulation of spinal glutamate transporters: implications in morphine tolerance and abnormal pain sensitivity. *Journal of Neuroscience*, 22: 8312-823.
- Plic, A.; Chaki, S.; Nowak, G. and Witkin, I.M. (2007). Mood disorder: Regulation by metabotropic glutamate receptor. *Biochemical Pharmacology*, 75: 997-1006.
- Rodríguez-Muñoz, M.; de la Torre-Madrid, E.; Sánchez-Blázquez, P.; Wang, J.B. and Garzón, J. (2008). NMDAR-nNOS generated zinc recruits PKC γ to the HINT1-RGS17 complex bound to the C terminus of mu-opioid receptors. *Cellular Signaling*, 20: 1855-1864.
- Rothen-Rutishauser, B.M.; Schurch, S.; Haenni, B.; Kapp, N. and Gehr, P. (2006). Interaction of fine particles and nanoparticles with red blood cells visualized with advanced microscopic techniques", *Environmental Science Technology*, 40 (14): 4353-4359.
- Takeda, A. and Tamano, H. (2009). Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain Research Reviews*, 62: 33-44.
- Takeda, A.; Tamano, H.; Kan, F.; Itoh, H. and Oku, N. (2007). Anxiety-like behavior of young rats after 2-week zinc deprivation. *Behavioural Brain Research*, 177: 1-6.
- Torabi, M.; Kesmati, M.; Harooni, H.E. and Varzi, H.N. (2013). Different efficacy of nanoparticle and conventional ZnO in an animal model of anxiety. *Neurophysiology*, 45(4): 299-305.
- Trujillo, K.A. (2000). Are NMDA receptors involved in opiate-induced neural and behavior plasticity? A review of preclinical studies. *Psychopharmacology*, 151: 121-141.
- Tzschentke, T.M. and Schmidt, W.J. (2000). Functional relationship among medical prefrontal cortex, nucleus accumbens, and reward. *Critical Review in Neurobiology*, 14(2):131-142.
- Tzschentke, T.M. and Schmidt, W.J. (1995). N-methyl-D-aspartic acid-receptor antagonists block morphine-induced conditioned place preference in rats. *Neuroscience Letters*, 193(1): 37-40.
- Watt, N.T.; Whitehouse, I.J. and Hooper, N.M. (2011). Role of zinc in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 1: 1-10.
- White, F.J. and Wang, R.Y. (1984). Pharmacological characterization of dopamine autoreceptors in the rat ventral tegmental area: microiontophoretic studies. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 231(2): 275-280.
- Wilson, B.; Samanta, M.K.; Santhi, K.; Kumar, K.P.S.; Paramakrishnan, N. and Shuresh, B. (2008). Poly (n-butylcyanoacrylate) nanoparticles coated with polysorbate 80 for the targeted delivery of rivastigmine into the brain to treat Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1200: 159-168.
- Wittmann, B.C.; Schott, B.H.; Guderian, S.; Frey, J.U.; Heinze, H.J. and Duzel, E. (2005). Reward related FMRI activation of dopaminergic midbrain is associated with enhanced hippocampus-dependent long-term memory formation. *Neuron*, 45(3): 459-467.
- Zarrindast, M.R.; Bahreini, T. and Adl, M. (2002). "Effect of imipramine on the expression and acquisition of morphine induced conditioned place preference in mice", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(4) : 941-949.

Effects of nano-ZnO and bulk ZnO on the expression of morphine-induced conditioned place preference in mice

Kheiry, M.¹; Kesmati, M.²; Najafzadeh, H.³ and Fatemi, S.R.⁴

Received: 14.01.2014

Accepted: 12.10.2014

Abstract

Extracellular zinc ion is an important factor in regulation of opioids activity. However, little research on the effects of nanoscale zinc ion on opioids dependence has been done. So, the aim of this research was to compare the effects of zinc oxide nano particles and the bulk on the expression of morphine conditioned place preference (MCP). In this study, 112 adult male mice weighing 25 ± 3 grams in 16 groups (7 per group) was used. At first, different doses of morphine were given (2.5, 5, 10 mg / kg, SC) to determine the effectiveness of drug-induced conditioned place preference by using the bias method. Secondly, different doses of the nano zinc oxide and bulk zinc oxide (2.5, 5, 10mg /kg, IP) were administered to evaluate the expression of (MCP). Morphine increased the spent time in place with receiving morphine as a dose dependent manner (CPP). The increases at dosage of 5 and 10 mg/kg morphine was significant ($p < 0.001$). Both nano and bulk zinc oxide could not induce place preference. Nano zinc oxide in all doses ($p < 0.05$, $p < 0.001$) and bulk-ZnO at dosage of 5 and 10 mg/kg ($p < 0.001$) decreased the expression of morphine-induced conditioned place preference, significantly. Therefore, nano zinc oxide is more potent than the bulk from for inhibition. It seems that nano zinc has more efficacy for inhibition of morphine dependence. This effect is probably due to better interaction with neurochemical systems which are involved in the process of opioid dependence.

Key words: Morphine, Nano ZnO , Bulk zinc oxide, Conditioned place preference

1- MSc Graduated of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

2- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

3- Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

4- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Kesmati, M., E-mail: m.kesmati@scu.ac.ir