

## بررسی تاثیر کاربنوکسولون بر علائم قطع مصرف مورفین در موش صحرایی

سارو خطیبی بانه<sup>۱</sup>، اسماعیل ایزدپناه<sup>۲</sup>، سهیلا ابراهیمی وسطی کلایبی<sup>۳</sup>، علی عبدالملکی<sup>۴</sup>، مجید قادری<sup>۵</sup>، کامبیز حسن زاده<sup>۶</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، مجتمع علوم پایه و کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران

۲. استادیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۳. استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی همدان، همدان، ایران

۵. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۶. استادیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (مؤلف مسئول) تلفن ثابت: ۰۸۷۱-۶۱۳۴۰۱

kambizhassanzadeh@gmail.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** مکانیسمهای دقیق وابستگی به اپیوئیدها و سندرم قطع مصرف هنوز به طور کامل شناخته نشده اند. از دیر باز مطالعات زیادی در رابطه با مواد و داروهایی که بتوانند این علائم را کاهش دهند صورت گرفته است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثر کاربنوکسولون (مهار کننده اتصالات شکافی) بر علائم قطع مصرف مورفین در موش صحرایی نر می باشد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه که به صورت تجربی انجام شده، موش های صحرایی نر بالغ از نژاد Sprague Dawley در محدوده وزنی ۲۷۵-۲۲۵ گرم بطور تصادفی در گروه های ۸ تایی وارد مطالعه شدند. به منظور القای وابستگی مورفین به روش محدودۀ وزنی ۲۷۵-۲۲۵ گرم بطور تصادفی در گروه های ۸ تایی وارد مطالعه شدند. به منظور القای وابستگی مورفین به روش دوزهای فزاینده در یک دوره ۹ روزه به صورت زیر جلدی به هر حیوان تزریق شد (روز اول ۵ mg/kg، روز دوم و سوم ۱۰ mg/kg، روز چهارم و پنجم ۱۵ mg/kg، روز ششم و هفتم ۲۰ mg/kg و روز هشتم و نهم ۲۵ mg/kg). در روز نهم نیم ساعت بعد از آخرین دوز تزریق مورفین، به گروه کنترل سالیین (۱ ml/kg) و به ۴ گروه درمانی به ترتیب کاربنوکسولون در دوزهای ۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی تزریق شد و مجدداً نیم ساعت بعد به همه گروه ها نالوکسان (۴ mg/kg, ip) تزریق گردید و به مدت ۶۰ دقیقه علائم سندرم محرومیت شامل (پرش، ایستادن روی پاها، تیمار کردن آلت تناسلی، کشیدن شکم روی زمین، تیمار کردن بدن و حرکات شبیه سگ خیس) ثبت شد.

**یافته ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که کاربنوکسولون نه تنها علائم قطع مصرف را به صورت جداگانه کاهش داد، بلکه توانست علائم تام سندرم ترک را نیز به طور معنی داری کاهش دهد ( $P < 0.001$ ).

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج به دست آمده، کاربنوکسولون در کاهش علائم قطع مصرف مورفین موثر بوده است.

**کلمات کلیدی:** کاربنوکسولون، مورفین، علائم قطع مصرف مورفین، وابستگی

وصول مقاله: ۹۰/۱۲/۶ اصلاحیه نهایی: ۹۱/۳/۲۲ پذیرش: ۹۱/۶/۱۹

### مقدمه

امروزه مورفین به عنوان ضد درد مخدری قوی به طور عمده برای تسکین دردهای شدید مورد استفاده قرار می گیرد. از دیرباز وابستگی به اپیوئیدها از مشکلات مصرف مزمن این دسته از داروها بوده است. در این زمینه یافتن داروها و یا

مسیرهای کاهنده وابستگی و علائم قطع مصرف، به ترک اعتیاد خصوصاً در مرحله سم زدایی کمک شایانی خواهد کرد. وابستگی به اپیوئیدها منجر به ایجاد یک سطح تعادلی جدید ناشی از تکرار مصرف مواد اپیوئیدی در سیستم عصبی می‌شود و در صورت عدم مصرف ماده مذکور، چون این سطح تعادلی به هم می‌خورد، حالت محرومیت و یا ترک ایجاد می‌شود که با مصرف ماده اپیوئیدی از بین می‌رود (۱). وابستگی به اپیوئیدها دارای علائم جسمی (وابستگی جسمی) و روانشناختی (وابستگی روانی) می‌باشد. وابستگی شدیدی که به این داروها از لحاظ جسمانی و روانی پیش می‌آید درمان را با مشکلات زیادی روبرو کرده و ترک اعتیاد را مشکل‌تر می‌سازد. مطالعات مختلف در زمینه داروها و عواملی که بتواند تحمل و وابستگی را کاهش دهند صورت گرفته و همگی بیان‌کننده این هستند که جهت کاهش این علائم شناخت مکانیسم‌های دخیل در وابستگی ضروری است (۲، ۳). یکی از مهمترین شاخه‌های مطالعه در نوروفارماکولوژی بررسی مکانیسم‌های بروز وابستگی به اپیوئیدها و یافتن راه‌هایی برای جلوگیری و یا به تعویق انداختن آن‌ها می‌باشد که در صورت توانایی جلوگیری از بروز این پدیده‌ها، قادر خواهیم بود تا برای یکی از بزرگترین معضلات ناشی از مصرف مواد مخدر یعنی مسئله اعتیاد نیز راه حل پیدا بکنیم.

تاکنون مطالعات زیادی در این خصوص صورت پذیرفته و مکانیسم‌های متعددی برای بروز وابستگی پیشنهاد شده است. مطالعات حاکی از دخالت مراکز مختلف سیستم اعصاب مرکزی از جمله لوکوس سرلئوس در بروز علائم محرومیت هستند (۴). سیستم نورآدرنرژیک لوکوس سرلئوس از طریق انشعابات وسیعی که به هسته‌های مختلف مغز ارسال می‌کند، درحافظه، یادگیری و تمرکز و در کل فعالیت‌های شناختی نقش موثری دارد. مصرف اپیوئیدها به شکل حاد، میزان تخلیه‌های نورونی در لوکوس سرلئوس را

کاهش می‌دهند که این کار از طریق مهار آدنیلیل سیکلاز (AC) و فعال شدن کانال‌های پتاسیمی صورت می‌گیرد (۵). تحت درمان مزمن با اپیوئیدها میزان تخلیه نورونی در لوکوس سرلئوس به سمت سطح قبل از درمان پیش می‌رود که دلیل آن افزایش جبرانی در فعالیت و حساسیت AC و تولید cAMP است. بازگشت تخلیه‌های نورونی از سطوح مهارتی به سطوح قبل از درمان نشانگر افزایش وابستگی و تحمل نسبت به اپیوئیدها می‌باشد. توقف ناگهانی در درمان اپیوئیدی یا مصرف آنتاگونیست‌ها سبب افزایش تخلیه‌های نورونی در لوکوس سرلئوس به میزان بیشتر از دوره قبل از مصرف می‌شود (۵). همچنین محققین با مشاهده تأثیر بلوک کننده‌های اتصالات شکافی (Gap Junction) بر عملکرد لوکوس سرلئوس به وجود و نقش احتمالی این ساختارها در فعالیت لوکوس سرلئوس پی بردند (۶). اتصالات شکافی ساختارهای تشکیل دهنده کانال در غشاهای پلاسمایی سلول‌ها هستند که سبب برقراری ارتباطات الکتریکی و متابولیک در انواع سلول‌های موجود در سیستم اعصاب مرکزی (CNS) می‌شوند (۷).

با توجه به نقش ارتباطات الکتریکی در آزادسازی نوراپی نفرین از لوکوس سرلئوس، به نظر می‌رسد عوامل مهار کننده اتصالات شکافی بتوانند آزادسازی نوراپی نفرین از این ناحیه را کاهش دهند. مطالعات پیشین حاکی از نقش مهار کننده‌های اتصالات شکافی از جمله کاربنوکسولون در مهار تشنج در مدل‌های مختلف ایجاد صرع می‌باشند (۸).

بدین منظور پس از بررسی متون، با توجه به تشابه تخلیه‌های الکتریکی تشنج و علائم قطع مصرف اپیوئیدها، کاربنوکسولون که یک ماده مشتق از عصاره گیاه شیرین بیان و دارای اثرات قدرتمند مهار کنندگی اتصالات شکافی (Gap Junction) می‌باشد، انتخاب گردید تا تأثیر آن بر علائم قطع مصرف مورفین بررسی شود. لازم به ذکر است

## گروه های دریافت کننده کاربنوکسولون یا دیزوسیلپین (MK-801)

شش گروه از حیوانات پس از ایجاد وابستگی به مورفین مشابه گروه های قبلی در روز نهم، نیم ساعت بعد از تزریق دوز صبحگاهی مورفین، به ترتیب کاربنوکسولون با دوزهای  $100 \text{ mg/kg}$ ،  $50 \text{ mg/kg}$  و  $25 \text{ mg/kg}$  یا  $801 \text{ MK-}$   $100 \text{ mg/kg}$ ،  $1/1$  یا موثرترین دوز کاربنوکسولون ( $100 \text{ mg/kg}$ ، ip) به همراه  $0.05 \text{ mg/kg}$  MK-801 به صورت تک دوز دریافت کردند، پس از نیم ساعت، نالوکسان ( $1 \text{ mg/kg}$ ، ip) تجویز شد و بلافاصله علائم سندرم محرومیت به مدت ۶۰ دقیقه توسط دوربین فیلمبرداری ثبت گردید (۱۰).

### روش ایجاد وابستگی

جهت ایجاد وابستگی به مورفین، حیوانات به مدت ۹ روز، روزی دوبار هر ۱۲ ساعت یک بار (۸ صبح-۸ شب) مورفین طبق الگوی دوز افزایشی دریافت کردند. روز اول  $5 \text{ mg/kg}$ ، Sc، روز دوم و سوم  $10 \text{ mg/kg}$ ، Sc، روز چهارم و پنجم  $15 \text{ mg/kg}$ ، Sc، روز ششم و هفتم  $20 \text{ mg/kg}$ ، Sc، روز هشتم و نهم  $25 \text{ mg/kg}$ ، Sc و در روز نهم فقط دوز صبحگاهی تجویز شد (۱۱).

### القاء سندرم محرومیت مورفین

پس از وابسته کردن حیوانات، در روز نهم یک ساعت بعد از دریافت دوز صبحگاهی مورفین (آخرین دوز مورفین) و نیم ساعت بعد از تجویز دارو یا حامل، نالوکسان  $4 \text{ mg/kg}$  به صورت داخل صفاقی (ip) به حیوان تزریق شد.

بررسی میزان بروز علائم قطع مصرف در گروه های درمانی و کنترل:

جهت بررسی میزان علائم قطع مصرف بعد از تجویز  $4 \text{ mg/kg}$  نالوکسان، حیوانات به صورت انفرادی در داخل محفظه ای استوانه ای قرار گرفته و بلافاصله علائم سندرم محرومیت شامل: پرش (Jumping)، ایستادن روی پاها

که در رابطه با تاثیر کاربنوکسولون بر علائم قطع مصرف اپیوئیدها تاکنون مطالعه ای صورت نگرفته است.

### مواد و روش ها

این مطالعه از نوع تجربی بوده و حیوانات مورد مطالعه موش های صحرایی نر نژاد اسپراگ داوولی (Sprague Dawley) در محدوده وزنی ۲۷۵-۲۲۵ گرم بودند. تمامی رت ها از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات انستیتو پاستور تهران تهیه و بعد از انتقال به حیوانخانه ی دانشگاه علوم پزشکی کردستان در قفس های جداگانه و در دمای  $20^{\circ}\text{C}$   $\pm 2$  و سیکل ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی نگهداری شدند. در تمام مدت حیوانات آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. در تمامی گروه ها سه روز قبل از انجام آزمایشات و مطالعات رفتاری هر روز دوبار و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه حیوانات با محیط آزمایش، آزمایشگر و محفظه ای استوانه ای آشنا می شدند تا استرس ناشی از تغییر محل زندگی و تماس با آنها به حداقل ممکن برسد. همچنین هر روز قبل از انجام تزریقات، موش ها با ترازوی دیجیتالی وزن شده و مقدار تزریقات، برحسب وزن حیوانات تنظیم می شد.

### گروه های مورد مطالعه

تعداد ۸ گروه موش صحرایی نر (۸ سر در هر گروه) به ترتیب زیر و به صورت تصادفی وارد مطالعه شدند:

### - گروه های کنترل

دو گروه از حیوانات به مدت ۹ روز (روزی ۲ بار)، نرمال سالین ( $1 \text{ ml/kg}$ ، ip) یا مورفین (طبق الگوی دوز افزایشی) دریافت کرده و در روز آخر نیم ساعت بعد از تجویز نرمال سالین (حامل کاربنوکسولون)، نالوکسان ( $4 \text{ mg/kg}$ ، ip)، تجویز و بلافاصله پس از انتقال به محفظه ای استوانه ای به مدت ۶۰ دقیقه رفتار حیوانات توسط دوربین فیلمبرداری ثبت گردید.

دیگر (۹)، علایم مختلف قطع مصرف، ارزش گزاری شد و مقادیر به دست آمده برای هر شاخص بر ارزش استاندارد (طبق جدول ۱) تقسیم گردید. سپس این اعداد برای هر موش جمع بندی و برای هر گروه میانگین گرفته شد. مجموع این علایم تحت عنوان امتیاز تام علایم سندرم ترک (Total Withdrawal Score) گزارش شد. در واقع برای از بین بردن تفاوت‌های حیوانات در بروز علایم مختلف، بکارگیری این رابطه به ما کمک می‌کند تا شاخصی کلی برای بروز علایم داشته باشیم.

(Rearing)، کشیدن شکم روی زمین (Abdomen writing)، حرکات شبیه سگ خیس (Wet dog shake)، تیمار کردن آلت تناسلی (Genital grooming) و تیمار کردن بدن (Body grooming) در طی ۶۰ دقیقه ثبت و مورد ارزیابی قرار گرفتند (۱۰).

### محاسبه‌ی امتیاز تام علایم سندرم ترک (Total Withdrawal Score)

به منظور جمع بندی علایم و بدست آوردن شاخصی برای مجموعه علایم ثبت شده و تعیین شدت سندرم قطع مصرف بر اساس مطالعات پیشین و سیستم تعدیل شده‌ی محققان

جدول ۱: ارزش های داده شده به علایم مختلف سندرم ترک (۱۰)

فاکتور وزنی (ارزش داده شده به علامت مورد نظر)	رفتار (علامت سندرم ترک)
۵	تعداد پرش
۵	تعداد ایستادن روی پاها
۱۰	تعداد کشیدن شکم روی زمین
۱۰	تعداد حرکات شبیه سگ خیس
۱۰	مدت زمان تیمار کردن آلت تناسلی
۲۰	مدت زمان تیمار کردن بدن

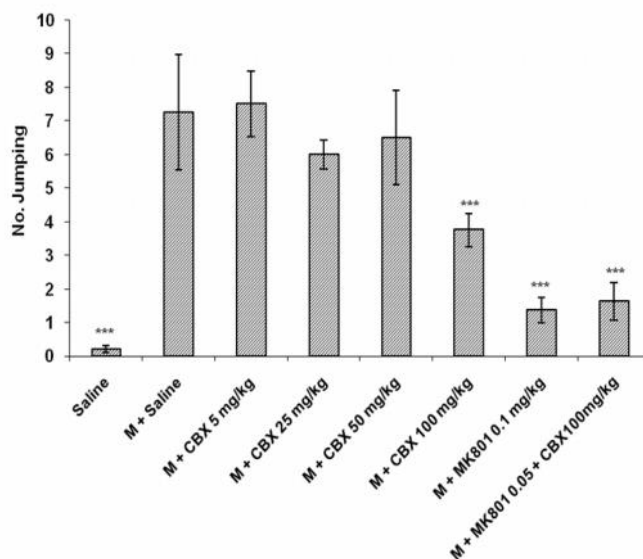
### یافته ها

#### مقایسه تعداد پرش در گروه‌های مختلف تحت مطالعه

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، کاربنوکسولون در دوز ۱۰۰ mg/kg در مقایسه با گروه کنترل (مورفین-سالین) به طور معنی‌داری رفتار پرش را کاهش داد ( $P < 0.001$ ). ولی در دوزهای ۵، ۲۵ و ۵۰ mg/kg اثر معنی‌داری بر این رفتار نداشت.

### آنالیز آماری

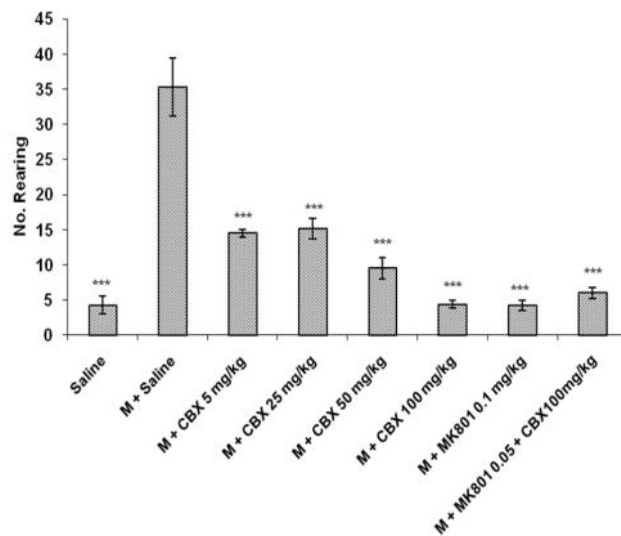
نتایج به صورت  $Mean \pm SEM$  بیان شد. اختلاف بین گروه ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تحلیل گردید. در صورت وجود رابطه‌ی معنی‌دار از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد و اختلاف‌های  $P < 0.05$  معنی‌دار تلقی گردید.



نمودار ۱: مقایسه تعداد پرش (Jumping) در گروه‌های مختلف دریافت کننده‌ی سالین، مورفین- سالین، مورفین- کاربنوکسولون، و مورفین- دیزوسیلپین (MK801) در مدت ۶۰ دقیقه. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می باشد. تفاوت با  $P < 0.05$  معنی دار تلقی شد.  
 CBX = کاربنوکسولون، M = مورفین،  $*** P < 0.001$ , N = ۸

### مقایسه تعداد ایستادن روی دوپا در گروه‌های مختلف تحت مطالعه

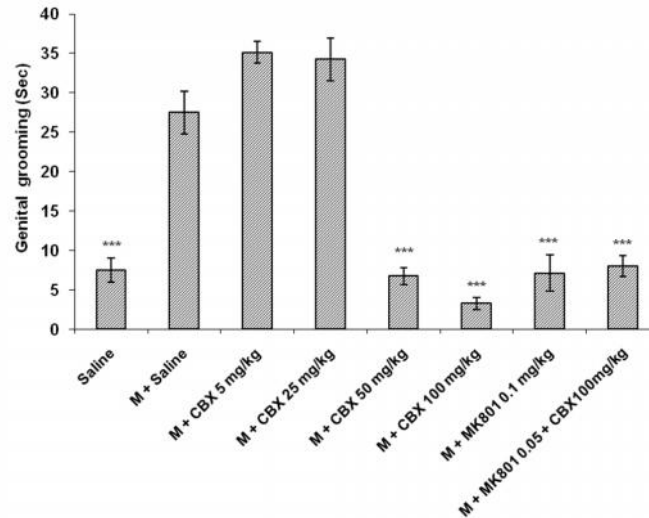
همانطور که در نمودار ۲ مشاهده می شود، کاربنوکسولون در تمام دوزها به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل مورفین - سالین تعداد ایستادن روی دوپا را کاهش داد ( $P < 0.001$ ).



نمودار ۲: مقایسه تعداد ایستادن روی باها (Rearing) در گروه‌های دریافت کننده‌ی سالین، مورفین- سالین، مورفین- کاربنوکسولون و مورفین- دیزوسیلپین (MK801) در مدت ۶۰ دقیقه. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می باشد. تفاوت با  $P < 0.05$  معنی دار تلقی شد.  $*** P < 0.001$ , N = ۸، CBX = کاربنوکسولون

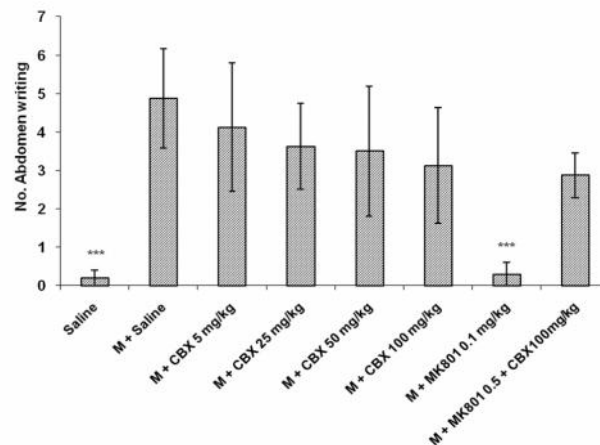
## مقایسه مدت زمان تیمار کردن آلت تناسلی در گروه‌های مختلف تحت مطالعه

همانطور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود، کاربنوکسولون در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg به طور معنی‌داری مدت زمان تیمار کردن آلت تناسلی را کاهش داد ( $P < 0.001$ ). ولی در دوزهای ۵ و ۲۵ mg/kg اثر معنی‌داری بر این رفتار نداشت.



نمودار ۳: مقایسه مدت زمان تیمار کردن آلت تناسلی (Genital grooming) در گروه‌های دریافت‌کننده ی سالین، مرفین، سالین، مرفین- کاربنوکسولون و مرفین- دیزوسیلپین (MK801) در مدت ۶۰ دقیقه. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. تفاوت با  $P < 0.05$  معنی‌دار تلقی شد.  $N=8$ ,  $P < 0.001$ ، \*\*\* مرفین، M، کاربنوکسولون = CBX

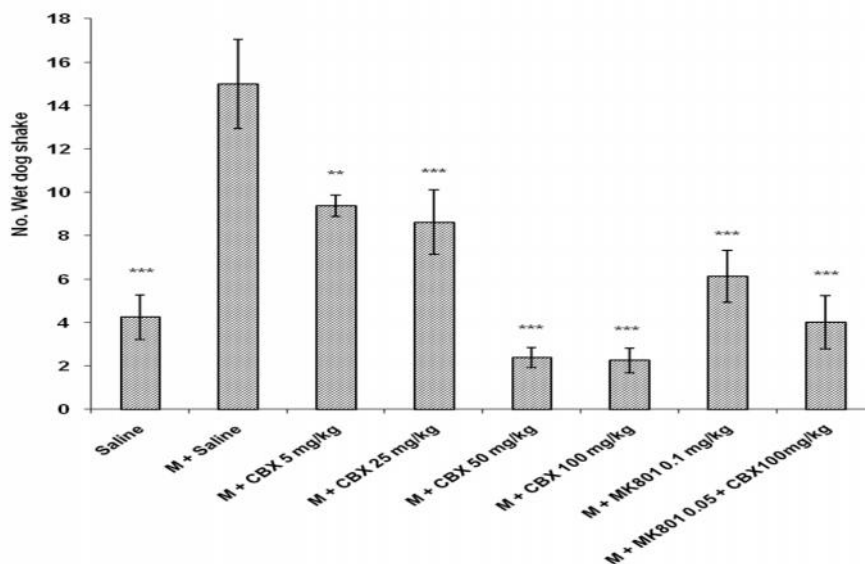
مقایسه تعداد کشیدن شکم روی زمین در گروه‌های مختلف تحت مطالعه: همانطور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود، کاربنوکسولون در تمام دوزهای این مطالعه اثر معنی‌داری بر رفتار کشیدن شکم روی زمین نداشت.



نمودار ۴: مقایسه تعداد کشیدن شکم روی زمین (Abdomen writing) در گروه‌های دریافت‌کننده ی سالین، مرفین، سالین، مرفین- کاربنوکسولون و مرفین- دیزوسیلپین (MK801) در مدت ۶۰ دقیقه. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. تفاوت با  $P < 0.05$  معنی‌دار تلقی شد.  $N=8$ ,  $P < 0.001$ ، \*\*\* مرفین، M، کاربنوکسولون = CBX

### مقایسه تعداد حرکات شبیه سگ خیس در گروه های مختلف تحت مطالعه

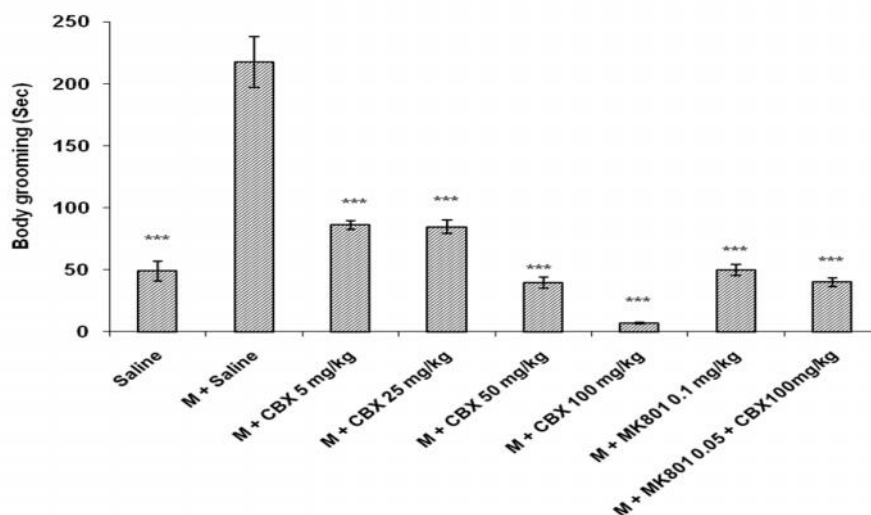
همانطور که در نمودار ۵ مشاهده می شود، کاربنوکسولون در دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۰/۰۰۱ mg/kg و در دوز ۵ mg/kg با  $P < 0/01$  رفتار حرکات شبیه سگ خیس را کاهش داد.



نمودار ۵: مقایسه تعداد حرکات شبیه سگ خیس (Wet dog shake) در گروه های دریافت کننده ی سالین، مرفین- سالین، مرفین- کاربنوکسولون و مرفین- دیزوسیلپین (MK801) در مدت ۶۰ دقیقه. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می باشد. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می باشد. تفاوت با  $P < 0/05$  معنی دار تلقی شد.  $N=8$ ،  $P < 0/001$ ،  $P < 0/01$ ،  $P < 0/001$  = مرفین = CBX = کاربنوکسولون، M.

## مقایسه مدت زمان تیمار کردن بدن در گروه های مختلف تحت مطالعه

همانطور که در نمودار ۶ مشاهده می شود، کاربنوکسولون در تمامی دوزها به طور معنی داری مدت زمان تیمار کردن بدن را کاهش داد ( $P < 0.001$ ).



نمودار ۶: مقایسه مدت زمان تیمار کردن بدن (Body grooming) در گروه های دریافت کننده ی سالین، مورفین- سالین، مورفین- کاربنوکسولون و مورفین- دیزوسیلپین (MK801) در مدت ۶۰ دقیقه. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می باشد. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می باشد. تفاوت با  $P < 0.05$  معنی دار تلقی شد.  $N=8$ ,  $P < 0.001$ ، \*\*\*، مورفین = M، کاربنوکسولون = CBX

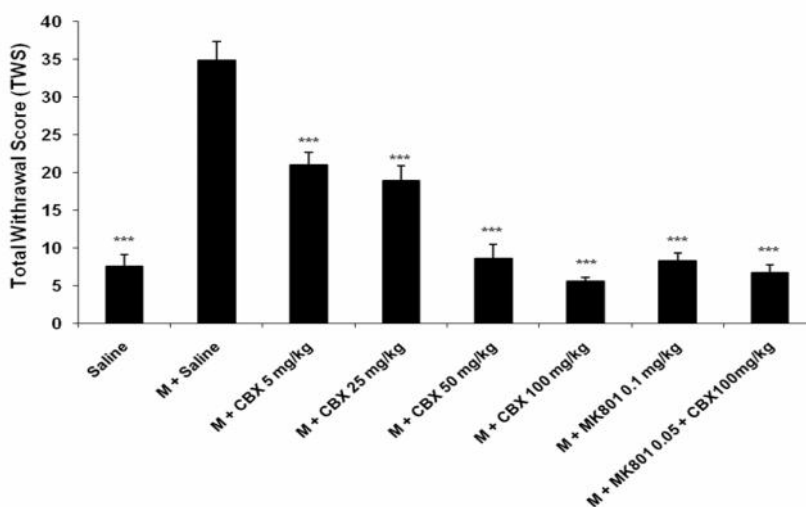
نتایج نشان داد که تجویز موثرترین دوز کاربنوکسولون (۱۰۰ mg/kg) به همراه دیزوسیلپین (MK801) با دوز (۰/۰۵ mg/kg) به طور معنی داری تمام علایم قطع مصرف (به جز تعداد کشیدن شکم روی زمین) را با  $P < 0.001$  کاهش داد (نمودارهای ۱ تا ۷).

**مقایسه مجموع علایم سندرم ترک بر اساس امتیاز کل (TWS) در گروه های تحت مطالعه**  
همانطور که در نمودار ۷ مشاهده می شود، کاربنوکسولون در تمامی دوزهای مورد استفاده در این مطالعه، بطور معنی داری علایم تام سندرم ترک را کاهش داد ( $P < 0.001$ ).

## تأثیر مصرف دیزوسیلپین بر روند بروز علایم قطع مصرف مورفین

بر اساس نتایج بدست آمده که در همه نمودارها مشاهده می شود، دیزوسیلپین با دوز ۰/۱ mg/kg به عنوان گروه کنترل مثبت به طور معنی داری تمامی علایم قطع مصرف مورفین را کاهش داد ( $P < 0.001$ ).

## تأثیر مصرف توام کاربنوکسولون و دیزوسیلپین بر روند بروز علایم قطع مصرف مورفین



نمودار ۷: نمودار مجموع علائم سندرم ترک بر اساس امتیاز کل (TWS) در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده‌ی سالین، مورفین-سالین، مورفین-کاربنوکسولون و مورفین-دی‌زیوسیلین (MK801) نشان داده شده است. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. هر ستون بیانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. تفاوت با  $p < 0.05$  یعنی دار تلقی شد.  $p < 0.001$ ,  $N=8$ ,  $M$  = مورفین،  $CBX$  = کاربنوکسولون

## بحث

بیان ژنی فاکتورهای موثر در این پروسه‌ها می‌باشد (۱۳). علائم سندرم قطع مصرف در ترک ناگهانی مورفین همراه با تغییراتی در سطح نوروترانسمیترها از جمله گلو تامات است (۱۴). علائم قطع مصرف به عنوان یک شاخص موثر در مفهوم وابستگی مطرح می‌باشند، به این معنی که هر چه میزان وابستگی شدیدتر باشد، بروز علائم قطع مصرف نیز شدیدتر خواهد بود. در رابطه با مفهوم وابستگی بر اساس مطالعات پیشین این پدیده در دو فاز مورد بررسی قرار گرفته است: ۱- فاز القاء که در آن در مسیرهای سیگنالینگ سیستم عصبی یک تطابق ایجاد می‌شود. ۲- فاز بروز علائم قطع مصرف.

نتایج بررسی‌های پیشین حاکی از آن است که یکی از هسته‌های مغزی که در بروز رفتارهای قطع مصرف از اهمیت خاصی برخوردار است، هسته‌ی لوکوس سرلئوس نام دارد. لوکوس سرلئوس، که مکانش روی منطقه‌ی جانبی شکمی بطن چهارم است، شامل حدود ۱۵۰۰ نورون در

نتایج مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار نشان که کاربنوکسولون علائم قطع مصرف مورفین را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ( $P < 0.001$ ). مطالعات نشان داده‌اند که مصرف حاد مورفین، آنزیم آدنیلیل سیکلاز را مهار می‌کند و با این عمل باعث کاهش تشکیل cAMP می‌شود. از طرفی مصرف مزمن مورفین سبب یک افزایش ثانویه در بیان آدنیلیل سیکلاز شده تا اینکه تولید cAMP در حضور مورفین به حالت طبیعی برگردد. همچنین در هنگام ترک حاد مورفین یک افزایش جهشی در تولید cAMP اتفاق می‌افتد که باعث بروز علائم سندرم ترک می‌شود (۱۲). همچنین نشان داده شده است که با مزمن شدن مصرف اپیوئیدها تحمل و وابستگی اتفاق می‌افتد که ناشی از تغییرات تطابقی در گیرنده‌ها، ترانسپورترها و پیامبرهای ثانویه است. همچنین طی پروسه‌های مزبور حوادث دیگری از جمله افزایش آدنیلیل سیکلاز و برخی نوروترانسمیترها صورت می‌پذیرد که عمدتاً این تغییرات ناشی از تداخل در

موش‌های صحرایی برآورد شده است (۱۵). بر اساس یافته‌های پیشین تعداد گیرنده‌های اپیوئیدی در هسته‌های لوکوس سرلئوس خیلی بالا است از این رو این هسته منطقه‌ی خوبی برای مطالعه علایم قطع مصرف شناخته شده است (۱۶). لوکوس سرلئوس در رها کردن نور آدرنالین در ارتباطات الکتریکی نقش دارد و بر اساس مطالعات گذشته با مشاهده‌ی اثر مهارکننده‌های شکافی بر عملکرد این هسته (۶). به نظر می‌رسد، نقش احتمالی آن در ارتباط با

اتصالات شکافی مطرح باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که با تزریق آنتاگونیست‌های اپیوئیدی درون هسته‌ی لوکوس سرلئوس یک موش وابسته به مورفین، علایم قطع مصرف را می‌توان القاء کرد (۴). افزایش فعالیت نورون‌های لوکوس سرلئوس علت اصلی بروز برخی از نشانه‌های مشاهده شده متعاقب بروز علایم قطع مصرف می‌باشد. تصور می‌شود بخشی از این افزایش فعالیت به تغییرات ذاتی نورون‌های این مسیر بخصوص در افزایش بیان ژنی آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) وابسته باشد (۱۷، ۱۸). همچنین تغییرات تطابقی مشابهی در مناطق دیگری از مغز، از قبیل ناحیه‌ی تگمنتال شکمی (VTA) بعد از مصرف مزمن اپیوئیدها مشاهده شده است (۱۹، ۲۰).

نتایج مطالعات دیگر نقش NO و NMDA را در وابستگی و بروز علایم سندرم محرومیت نشان داده‌اند (۲۱، ۲۲). همان‌طور که در مقدمه بیان شد، رسپتورهای اسیدهای آمینه‌ی تحریکی خصوصاً رسپتور NMDA در تحمل و وابستگی به اپیوئیدها نقش دارند (۲۱، ۲۳). آنتاگونیست‌های رسپتورهای NMDA و مهارکننده‌های نیتریک اکساید (NO) سنتتاز تحمل و وابستگی به اپیوئیدها را کاهش می‌دهند (۲۴).

نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز دوزهای فزاینده‌ی مورفین به مدت ۹ روز سبب ایجاد وابستگی به مورفین و متعاقب آن تجویز نالوکسان

سندرم محرومیت شد ( $P < 0.001$ ). در بخش دیگری از مطالعه‌ی حاضر، کاربنوکسولون به عنوان مهارکننده‌ی اتصالات شکافی اثر معنی‌داری بر کاهش علایم سندرم ترک داشته و در دوزهای مختلف به غیر از رفتار (کشیدن شکم روی زمین) سایر رفتارهای تحت مطالعه را به طور معنی‌داری کاهش داد. نتایج حاصل از مطالعات دیگر نشان داده است که مهارکننده‌های اتصالات شکافی از جمله کاربنوکسولون در مهار تشنج در مدل‌های مختلف ایجاد صرع موثر بوده‌اند (۸، ۹). بعضی یافته‌های دیگر حاکی از آنند که کاربنوکسولون به همراه داروهایی مانند والپروات سدیم، گاباپنتن، دیازپام و فنوباریتال سبب بهبود عملکرد داروها و کنترل مناسب و پیشگیرانه‌ی تشنج در مدل‌های ایجاد صرع شد (۲۵). از طرف دیگر تجویز سیستمیک کاربنوکسولون (۴۰-۵۰ mg/kg) توانست شدت تشنجهای جنرالیزه افسنس را کاهش دهد. با توجه به تشابه تخلیه‌های الکتریکی تشنج و علایم قطع مصرف اپیوئیدها، انتظار بر این بود که کاربنوکسولون به عنوان مهارکننده‌ی اتصالات شکافی علایم قطع مصرف مورفین را کاهش دهد. یافته‌های به دست آمده از این مطالعه در رابطه با کاهش بروز علایم قطع مصرف، موید نتایج قبل بوده است. البته لازم به ذکر است همان‌طور که در مقدمه نیز اشاره شد، در رابطه با تأثیر کاربنوکسولون بر علایم قطع مصرف تا کنون مطالعه‌ی صورت نگرفته است.

هر چند که در رابطه با وابسته به دوز بودن نتایج این بررسی مطالعات تکمیلی لازم است، اما با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که تأثیر کاربنوکسولون بر علایم قطع مصرف وابسته به دوز باشد. در رابطه با احتمال بروز عوارض جانبی ناشی از کاربنوکسولون به عنوان مهارکننده اتصالات شکافی، اشاره به این نکته لازم است که با توجه به اینکه در مطالعات دیگر از دوزهای مشابه جهت پیشگیری از بروز

پیشتر در مقدمه توضیح داده شد، گیرنده های NMDA نقش مهمی در پدیده‌ی تحمل و وابستگی دارند و عوامل آنتاگونیزه کننده‌ی این گیرنده ها شدت وابستگی و علائم قطع مصرف را کاهش می دهند، بنابراین در این مطالعه از دیزوسیلپین (MK801) به عنوان یک داروی استاندارد در کاهش علائم قطع مصرف و مقایسه‌ی اثر آن با کاربنوکسولون استفاده شد. همانطور که در بخش نتایج مشاهده شد موثرترین دوز سیستمیک کاربنوکسولون دوز ۱۰۰ mg/kg بود، اثر این دوز، مشابه دیزوسیلپین (MK801) با دوز (۰/۱ mg/kg) بوده و از آن جا که دیزوسیلپین دارای اثرات سمی نسبتا زیادی است، در بخشی از کار به ترکیب کاربنوکسولون با دوز ۱۰۰ mg/kg و دیزوسیلپین با دوز ۰/۰۵ mg/kg پرداختیم. نتایج نشان داد که این ترکیب نیز تا حدود زیادی و با اختلاف معنی‌داری علائم قطع مصرف مورفین را کاهش می دهد و نتایج این گروه با گروه دیزوسیلپین با دوز ۰/۱ mg/kg تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه به اینکه نتایج بدست آمده از این دو گروه اختلاف معنی‌داری نداشت به نظر می رسد که ترکیب کاربنوکسولون و دیزوسیلپین تاثیرات سینرژیستی در کاهش علائم قطع مصرف نداشته باشد.

### نتیجه گیری

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کاربنوکسولون علائم سندرم محرومیت مورفین را کاهش داد و احتمالا مکانیسم این اثر مهار اتصالات شکافی در سیستم اعصاب مرکزی می باشد.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه بر گرفته از پایان نامه دانشجویی و با مساعدت دانشگاه علوم پزشکی کردستان و دانشگاه پیام نور تهران

تشنج استفاده شده و در عین حال عوارض خاصی گزارش نشده (۲۶، ۲۵) و از طرفی در مطالعه ما نیز رفتار غیر طبیعی یا عوارض خاصی مشاهده نشد، بنابراین به نظر می رسد کاربنوکسولون در دوزهای بکار رفته و بصورت تک دوز عارضه جانبی شدیدی نداشته باشد.

به دلیل تنوع بروز علائم قطع مصرف و تاثیر بروز یک یا چند رفتار بر فرکانس بروز سایر رفتارها، بررسی تاثیر داروها بر شدت بروز عوارض قطع مصرف امری پیچیده است، لذا بررسی تاثیر عوامل مختلف بر شدت بروز علائم قطع مصرف با در نظر گرفتن هر یک از علائم به تنهایی با توجه به بزرگ بودن خطای معیار امری مشکل است، بنابراین برای رفع این نقیصه بر اساس مطالعات قبلی برای هر یک از علائم سندرم قطع مصرف امتیازی در نظر گرفته شد و مجموع امتیازها، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه بر اساس سیستم امتیازبندی تعدیل شده (۱۰) و استفاده از این سیستم، در مجموع شاخصی مناسب برای بررسی شدت سندرم قطع مصرف بر اساس امتیاز کل به دست آمد. همچنین به دلیل فیلمبرداری و مشاهده‌ی دقیق رفتارها، اکثر علائم رفتاری ثبت شد و به دلیل قرار دادن حیوان‌ها در محفظه‌ی استوانه‌ای و حذف عوامل مزاحم محیطی، امکان ثبت دقیق تر رفتارهای حیوانات با مشاهده‌ی دقیق فیلم‌ها میسر شد. در بخش دیگری از مطالعه، به بررسی اثر یک آنتاگونیست گیرنده‌ی NMDA به نام دیزوسیلپین (MK801) پرداختیم. با توجه به اینکه تاثیر مفید آنتاگونیست‌های گیرنده‌های NMDA در کاهش علائم قطع مصرف به اثبات رسیده است لذا از این دارو به عنوان یک عامل کنترل مثبت با تاثیرات شناخته شده بر علائم قطع مصرف پرداختیم تا روند کاهش علائم را با کاربنوکسولون مقایسه نماییم. نتایج نشان داد که دیزوسیلپین (MK801) با دوز (۰/۱ mg/kg) به طور معنی‌داری ( $P < 0/001$ ) تمامی علائم قطع مصرف مورفین را کاهش داد. همانطور که

## References

1. Nestler E J. Molecular neuropharmacology. 4<sup>th</sup> ed. New York: Mc Graw-Hill, 2001.p. 355-380.
2. Ueda H, Ueda M. Mechanism's underlying morphine analgesic tolerance and dependence. *Front Biosci* 2009;1:5260-5272.
3. Raith K, Hochhaus G. Drugs used in the treatment of opioid tolerance and physical dependence: a review. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2004; 42:191-203.
4. Nakai T, Hayashi M, Ichihara K, Wakabayashi H, Hoshi K. Noradrenaline release in rat locus coeruleus is regulated by both opioid and alpha (2)-adrenoceptors. *Pharmacol Res* 2002; 45:407-12.
5. Nestler EJ, Aghajanian GK. Molecular and cellular basis of addiction. *Science* 1997; 278: 58-63.
6. Travagli RA, Dunwiddie TV, Williams JT. Opioid inhibition in locus coeruleus. *J Neurophysiol* 1995; 74:518-528.
6. Kandel ER. Principles of neural science. 4<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill, 2000.p.166-168.
7. Nilsen KE, Kelso AR, Cock HR. Antiepileptic effect of gap-junction blockers in a rat model of refractory focal cortical epilepsy. *Epilepsia* 2006; 47:1169-1175.
8. Uusisaari M, Smirnov S, Voipio J, Kaila K. Spontaneous epileptiform activity mediated by GABA(A) receptors and gap junctions in the rat hippocampal slice following long-term exposure to GABA(B) antagonists. *Neuropharmacology* 2002; 43:563-572.
9. Rasmussen K, Hsu MA, vandergriff J. The selective mGlu2/3receptor antagonist LY341495 exacerbates behavioral signs of morphine withdrawal and morphine withdrawal induced activation of locus coeruleus. *Neuropharmacology* 2004; 46: 620-8.
10. Charkhpour M, Mohajjel Nayebi A. Evaluation of the role of 5-HT2 receptors in dorsal and median raphe nuclei on the morphine withdrawal syndrome in rat. *Pharmaceutical Sciences (Journal of Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences)* 2006; 12: 33-40.
11. Webster RA. Neurotransmitters, drugs and brain function. London: 2001.p. 499-521.
12. Ujcikova H, Dlouha K, Roubalova L, Vosahlikova M, Kagan D, Svoboda P. Up regulation of adenylyl cyclase I and II induced by long-term adaptation of rats to morphine fades away 20 days after morphine withdrawal. *Biochimica et Biophysica Acta* 2011; 1810: 1220-1229.
13. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Pharmacology. 5<sup>th</sup> ed. New York: Churchill Livingstone, 2004.p.614-617.
14. Williams J, Christie MJ, Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiol Rev* 2001; 81:299-343.
15. Carvalho LAV, Azevedo LO. A model for the cellular mechanisms of morphine tolerance and dependence. *Math Comput Model* 2000; 32: 933-53.
16. Aston-Jones G, Cohen JD. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* 2005; 28:403-450.
17. Guitart X, Thompson MA, Mirante CK, Greenberg ME, Nestler EJ. Regulation of cyclic AMP response element-binding protein (CREB), phosphorylation by acute and chronic morphine in the rat locus coeruleus. *J Neurochem* 1992; 58:1168-71.

18. Seo YJ, Kwon MS, Choi HW, Jang JE, Lee JK, Jung JS and et al. The differential effect of morphine and beta-endorphin administered intracerebroventricularly on pERK and pCaMK-II expression induced by various nociceptive stimuli in mice brains. *Neuropeptides* 2008; 42: 319–30.
19. Bonci A, Williams JT. Increased probability of GABA release during withdrawal from morphine. *J Neurosci* 1997; 17:796–803.
20. Cao JL, Liu HL, Wang JK, Zeng YM. Cross talk between nitric oxide and ERK1/2 signaling pathway in the spinal cord mediates naloxone-precipitated withdrawal in morphine dependent rats. *Neuropharmacology* 2006; 51:315–326.
21. Keith A, Trujillo. Are NMDA receptors involved in opiate - induced neural and behavioral plasticity? *Psychopharmacology* 2000; 151: 121-141.
22. Trujillo KA. The neurobiology of opiate tolerance, dependence and sensitization: mechanisms of NMDA receptor-dependent synaptic plasticity. *Neurotox Res* 2002; 4:373-391.
23. Bichoy H Gabra, Elham A. The role of the NO/NMDA pathway in the development of morphine withdrawal induced by viaioxane invitro. *Pharmacol Re* 2005; 51: 319-327.
24. Gareri P, Condorelli D, Belluardo N, Russo E, Loiacono A, Barresi V and et al. Anticonvulsant effects of carbenoxolone in genetically epilepsy prone rats (GEPRs). *Neuropharmacology* 2004; 47: 1205-1216.
25. Gareri P, Condorelli D, Belluardo N, Citraro R, Barresi V, Trovato-Salinaro A and et al. Antiabsence effects of carbenoxolone in two genetic animal models of absence epilepsy . *Neuropharmacology* 2005; 49: 551-63.