

بررسی اثر عصاره گیاه شقایق (*Papaver Rhoeas*) بر کسب و بیان حساسیت و تحمل رفتاری ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر

هدایت صحرایی^۱، زهره فقیه منزوی^۲، سیده مائده فاطمی^۳، شاهرخ پاشائی راد^۴، جمال شمس^۴ و حسن قشونی^۱
۱- دانشگاه علوم پزشکی بقیةالله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک و مرکز تحقیقات علوم رفتاری
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شمال تهران، گروه زیست شناسی
۳- دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی
۴- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب

چکیده

اعتیاد به اپیوئیدها از مهمترین مشکلات بهداشتی در ایران محسوب می‌شود. در این تحقیق عصاره آبی الکلی گیاه شقایق (*Papaver rhoeas*) بر کسب و بیان حساسیت و تحمل رفتاری ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر نژاد N-MARI در محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم بررسی شد. حیوانات ابتدا با استفاده از تزریق زیر جلدی (S.C.) مورفین نسبت به آن حساسیت (۵ mg/kg) یکبار در روز برای سه روز و سپس ۵ روز استراحت) و یا تحمل (۵۰ mg/kg) دوبار در روز برای سه روز) پیدا می‌کردند و سپس عصاره گیاه در روز تست و ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش و یا ۳۰ دقیقه قبل از تزریق مورفین در روزهای القاء حساسیت و یا تحمل به آنها تزریق می‌شد. در یک آزمایش مقدماتی، دوزهای مختلف مورفین و عصاره به حیوانات تزریق شد تا اثر این داروها بر القاء فعالیت حرکتی مشخص شود. آزمایش‌ها نشان داد که تجویز زیر جلدی مورفین (۵۰/۵ mg/kg; s.c.) باعث افزایش حرکات حیوانات گردید. این افزایش در گروه دریافت کننده دوز (۵۰ mg/kg; s.c.) مورفین کاملاً معنی‌دار بود. تجویز داخل صفاقی (i.p.) عصاره (۲۵ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰) نسبت به گروه سالیین هیچگونه تغییری در میزان حرکات حیوانات ایجاد نکرد. تجویز مورفین (۵ mg/kg; s.c.) یکبار در روز) به حیوانات در سه روز متوالی و سپس پنج روز استراحت سبب القاء حساسیت به مورفین در این حیوانات شد به نحوی که تجویز دوز بی‌اثر مورفین (۵ mg/kg; s.c.) در این حیوانات سبب القاء پاسخ شدید حرکتی شد. همچنین، تجویز عصاره (۲۵ mg/kg; i.p. و ۵۰ و ۱۰۰) قبل از تجویز مورفین (۵ mg/kg; s.c.) در روزهای القاء حساسیت، سبب کاهش معنی‌دار کسب حساسیت به مورفین گردید. تجویز عصاره گیاه شقایق در دوزهای فوق در روز تست نیز از بیان حساسیت به مورفین جلوگیری کرد. تجویز مورفین (۵۰ mg/kg; s.c.) دوبار در روز) برای سه روز پیاپی سبب القاء تحمل به مورفین در این حیوانات شد به نحوی که تجویز دوز مؤثر مورفین (۵۰ mg/kg; s.c.) در این حیوانات نتوانست افزایش چشمگیری را در فعالیت حرکتی آنها ایجاد کند. تجویز عصاره (۲۵ mg/kg; i.p. و ۵۰ و ۱۰۰) قبل از تجویز مورفین (۵۰ mg/kg; s.c.) در روزهای القاء تحمل، سبب کاهش معنی‌دار کسب تحمل به مورفین گردید. تجویز عصاره گیاه شقایق در دوزهای فوق در روز تست بیان تحمل به مورفین را تقویت نمود. از این آزمایش‌ها استنباط می‌شود که عصاره گیاه شقایق سبب کاهش کسب و بیان حساسیت و کسب تحمل و افزایش بیان تحمل رفتاری ناشی از مورفین در موشها می‌شود که این یافته، انگیزه لازم برای بررسی اثر عصاره همین گیاه را در کاربردهای انسانی نیز فراهم می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: مورفین، حساسیت و تحمل رفتاری، میدان باز، شقایق.

مقدمه

حالت را حساسیت دارویی می‌نامند [۲ و ۱]. این پدیده با افزایش فعالیت حرکتی موجود پس از دریافت مقادیر کم دارو و همچنین افزایش تمایل به مصرف دارو (ولع دارویی) همراه است [۳ و ۴]. آزمایشات متعدد نشان داده‌اند که این حالت برای مدت زمان نسبتاً زیادی در فرد باقی مانده و از عوامل اصلی برگشت به مصرف دارو در افرادی است که مصرف دارو را کنار گذاشته‌اند [۵]. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که در بروز حساسیت دارویی مسیر دوپامینی پاداش یعنی مسیر تگمنتوم شکمی به

شیوع بالای اعتیاد به اپیوئیدها در کشور ما از جمله مواردی است که توجه به درمان معتادان را ضروری می‌سازد. به دلیل بروز اثرات گوناگون پس از مصرف اپیوئیدها، ترک اعتیاد به این مواد نیز با مشکلات زیادی همراه است. هنگامیکه مصرف اپیوئیدها برای یک دوره زمانی قطع شود، تشدید اثرات حرکتی و سرخوشی‌آور این مواد در فرد دیده می‌شود که این

تحقیق تاثیر عصاره این گیاه را بر کسب و بیان حساسیت و تحمل رفتاری (حرکتی) به مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی بررسی نمائیم. در تحقیق قبلی، اثر عصاره این گیاه بر سندروم ترک در موش‌های کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است [۱۵]. لازم به توضیح است که اثر عصاره این گیاه بر کسب و بیان حساسیت و تحمل رفتاری ناشی از مورفین تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است.

مواد و روشها

عصاره گیری

گیاه کامل شقایق از مناطق اطراف کرمانشاه در اواخر فروردین ماه سال ۱۳۸۲ جمع آوری شد و در سایه خشک گردید و سپس به آزمایشگاه دانشکده دارو سازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی منتقل گردید و توسط مهندس کمالی نژاد مورد شناسایی قرار گرفت و کد P-147 به آن داده شد. سپس گیاه خشک شده پودر شده و در دستگاه تقطیر با حرارت کم عصاره آبی-الکلی گیاه گرفته شد. برای این منظور، ۵۰ گرم از پودر کامل گیاه خشک شده در یک مخزن شیشه‌ای ریخته می‌شد و به آن ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول اتانول ۵۰٪ اضافه شده و برای مدت ۲۰ ساعت در دمای اتاق برای خیساندن قرار می‌گرفت. در این مدت مخزن به آرامی چرخانده می‌شد. پس از آن، محتوای مخزن فیلتر شده و اتانول در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد و در فشار پائین تبخیر می‌شد. آب عصاره نیز پس از چند روز به آرامی تبخیر شده و عصاره به جا می‌ماند که بعد از خشک شدن کامل پودر شده و مورد استفاده قرار می‌گرفت. از هر ۱۰۰ گرم پودر کامل گیاه، ۱۵ گرم عصاره بدست می‌آمد. با این روش تمام مواد مؤثر موجود در گیاه استخراج می‌شد [۱۰]. این عصاره در سالیین حل شده و بصورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق می‌شد.

حیوانات

در این تحقیق از موش‌های سوری نر نژاد N-MRI با میانگین وزنی ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفسهای ۱۰ تایی با دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای ۲۴-۲۲، با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. در هر سری آزمایش ۸ سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

روش بررسی حرکت حیوانات

برای بررسی فعالیت حرکتی حیوانات از روش میدان باز (Open Field) استفاده شد. این دستگاه شامل یک استوانه فلزی به قطر ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر است که بر روی یک صفحه چوبی به همین قطر قرار دارد [۱۶]. این صفحه چوبی با دو خط متقاطع به چهار قسمت مساوی تقسیم شده است. روش کار با این دستگاه به این ترتیب است که هرگاه سر و دو اندام جلویی حیوان از یکی از این خطوط عبور کرد یک شماره برای حیوان در نظر گرفته می‌شود. این کار

هسته آکومبانس و قشر جلو پیشانی اصلی‌ترین نقش را بر عهده دارد [۵]. تحقیقات نشان داده است که در هنگام القاء حساسیت داروئی، رها شدن دوپامین از این مسیر افزایش یافته و نیز تعداد و پاسخدهی گیرنده‌های دوپامینی نیز افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، الگو و تعداد سیناپسهای موجود در این مسیر بخصوص در ناحیه هسته آکومبانس تغییر کرده و تعداد گیرنده‌های D2 دوپامینی نیز افزایش می‌یابد [۵]. همچنین محققین بجز سیستم دوپامینی، سیستم‌های نوروترانسمیتری دیگری از جمله سیستم گلوتاماتی در هسته آکومبانس و منطقه تگمنتوم شکمی، اوبیوئیدی در هسته آکومبانس و نیتریک اکسایدی در هسته آکومبانس [۶] را در بروز این پدیده دخالت داده‌اند. نقش دقیق این سیستمها هنوز مشخص نیست اما، افزایش تعداد و همچنین کارائی گیرنده‌های گلوتاماتی در هسته آکومبانس و تگمنتوم شکمی در هنگام بروز حساسیت داروئی مشخص شده است [۷-۵]. از نظر سلولی-مولکولی، تغییر در تعداد گیرنده‌های متابوتروپیکی گلوتاماتی [۷و۵] و بروز پدیده تقویت طولانی مدت [۷و۵] در ناحیه تگمنتوم شکمی را از مهمترین تغییرات در هنگام بروز این پدیده می‌دانند. مصرف مداوم اوبیوئیدها همچنین می‌تواند به القاء تحمل به اثرات آنها منجر شود. تحمل به حالتی اطلاق می‌شود که در اثر مصرف مزمن اوبیوئیدها، اثر این داروها به تدریج کاهش یافته و بنابراین برای ایجاد اثر اولیه نیاز به دوزهای بالاتری از دارو کی باشد [۸و۶]. چون تحمل نسبت به همه اثرات اوبیوئیدها ایجاد نمی‌شود، بروز حالت مسمومیت در معتادان به مواد مخدر یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در بین این افراد می‌باشد [۸]. تحمل به اثرات حرکتی اوبیوئیدها که تحمل رفتاری نامیده می‌شود، از مهمترین عواقب مصرف این داروها می‌باشد. مکانیسم‌های درگیر در تحمل رفتاری به اوبیوئیدها بخوبی شناخته نشده اند اما آزمایش‌ها نشان داده اند که تغییرات وسیع سلولی و مولکولی در نواحی مختلف دستگاه عصبی در هنگام بروز تحمل رفتاری به وقوع می‌پیوندد. به همین دلیل، یافتن راه‌هایی که بتواند عوارض حساسیت و تحمل به داروهای اوبیوئیدی را کاهش دهد، یقیناً در افزایش افراد مایل به ترک مواد مخدر مؤثر خواهد بود. داروهای گیاهی که اسانس یا عصاره گیاهان موجود در طبیعت می‌باشند از جمله داروهای هستند که مصرف آنها عوارض جانبی شدیدی ایجاد نمی‌کند و به دلیل همین مساله امروزه تحقیق در مورد این داروها گسترش یافته است [۱۰]. گیاه شقایق با نام علمی *Papaver rhoeas*، گیاهی علفی با گل‌های قرمز به ارتفاع ۹۰-۲۵ سانتی‌متر است که در نواحی مختلف کشور ما مانند کرمانشاه، کرج و اطراف تهران می‌روید. این گیاه دارای آلکالوئیدهای مختلفی مانند رآدین، اسید رآدیک، اسید پاپاوریک، اسید مکوئیک، موسیلاز و قند است. از گذشته‌های دور از جوشانده این گیاه برای رفع بیخوابی و کاهش التهاب استفاده می‌شده است. همچنین، این گیاه دارای اثرات آرام‌بخش و خلط‌آور است و به دلیل مقادیر بسیار اندک مورفین در عصاره آن، این عصاره را بنام تریاک بی‌زیان می‌نامند [۱۰-۱۴]. به دلیل قرابت خانوادگی این گیاه با گیاه خشخاش و همچنین تشابه بسیاری از اثرات آن با اثرات تریاک (کاهش سرفه، تسکین درد)، [۱۰و۱۳]، بر آن شدیم که در این

رفتاری قرار گرفتند.

در ادامه مطالعه در چهار گروه از حیوانات در روزهای القاء حساسیت رفتاری، مورفین (۵ mg/kg) تزریق شد. در روز تست (روز نهم)، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق مورفین (۵ میلی گرم/کیلوگرم/ زیرجلدی)، به سه گروه از حیوانات عصاره (۲۵ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰) بصورت داخل صفاقی تزریق و حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه مورد آزمون رفتاری قرار گرفتند. گروه چهارم به عنوان گروه کنترل سالیین دریافت کردند.

بررسی اثر عصاره گیاه شقایق بر کسب و بیان تحمل حرکتی به مورفین

در مرحله کسب تحمل حرکتی، دوزهای مختلف عصاره (۲۵ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰) بصورت داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق زیرجلدی مورفین (۵۰ mg/kg) در روزهای القاء تحمل به حیوانات تزریق شد. در روز تست (روز چهارم)، حیوانات تنها مورفین (۵۰ میلی گرم/ کیلوگرم) را بصورت زیرجلدی دریافت و سپس مورد آزمون رفتاری قرار گرفتند.

در ادامه مطالعه در چهار گروه از حیوانات در روزهای القاء تحمل رفتاری، دو بار در روز مورفین (۵۰ mg/kg) بصورت زیرجلدی تزریق شد. در روز تست (روز چهارم)، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق مورفین (۵۰ میلی گرم/کیلوگرم/زیرجلدی)، به سه گروه از حیوانات عصاره (۲۵ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰) بصورت داخل صفاقی تزریق و حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه آزمون رفتاری قرار گرفتند. گروه چهارم به عنوان گروه کنترل سالیین دریافت کردند.

تجزیه و تحلیل داده ها

اطلاعات بدست آمده بصورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد (SEM \pm Mean) تعداد قطع خطوط در ۱۰ دقیقه بیان شدند. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و بدنبال آن تست توکی استفاده شد. $P < 0.05$ مرز معنی دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

نتایج

القاء فعالیت حرکتی توسط مورفین و عصاره گیاه شقایق در موشهای کوچک آزمایشگاهی

در قسمت اول این آزمایش، موشها به چهار گروه تقسیم شدند. یک گروه سالیین (به روش ذکر شده در قسمت روشها) دریافت کرد و سه گروه دیگر دوزهای مختلف مورفین (۵، ۲۰، ۵۰ و ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم/ زیرجلدی) را به منظور القاء فعالیت حرکتی دریافت کردند. تجویز زیرجلدی مورفین در دوز ۵۰ mg/kg سبب افزایش فعالیت حرکتی حیوانات شد [F(3,28)=10, P<0.0001]. چون دوز ۵۰ mg/kg

با استفاده از یک شماره انداز دستی انجام می شد. تعداد خطوط قطع شده در یک دوره زمانی معین، نمودی از میزان فعالیت حرکتی حیوان را بدست خواهد داد. در هنگام انجام آزمایشات برای عادت کردن حیوانات با محیط دستگاه، هر حیوان ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه به حال خود رها می شد تا به این محیط عادت کند و سپس فعالیت حرکتی حیوان اندازه گیری می شد.

داروها

در این تحقیق، مورفین سولفات (تماد- ایران) مورداستفاده قرار گرفت. مورفین در سالیین حل شده و با حجم ۱۰ ml/kg بصورت تجویز زیرجلدی مورد استفاده قرار گرفت. عصاره گیاه نیز پس از توزین در سالیین حل شده و بصورت تجویز داخل صفاقی مورد استفاده قرار گرفت. گروه های کنترل در هر قسمت سالیین را بصورت زیرجلدی یا داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه بندی دارویی

در ابتدا به منظور تعیین دوز موثر مورفین در القاء فعالیت حرکتی، منحنی دوز- پاسخ مورفین بدست آمد. همین کار برای عصاره نیز انجام شد و در نتیجه دوزهای موثر و بی اثر مورفین شناخته شدند (دوزهای بکار رفته از عصاره در این تحقیق بی اثر بودند). گروه های کنترل در این مرحله سالیین دریافت می کردند.

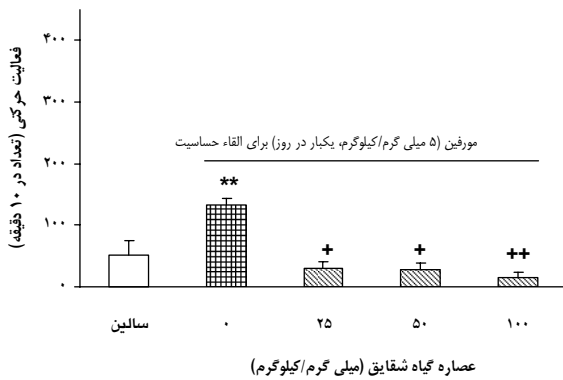
القاء حساسیت و تحمل رفتاری به مورفین

به منظور القاء حساسیت رفتاری به مورفین، ابتدا در سه روز متوالی و هر روز یکبار به حیوانات مورفین (۵ میلی گرم/کیلوگرم) به صورت زیرجلدی تزریق شد. سپس حیوانات به مدت ۵ روز در محل های نگهداری استراحت کردند. در روز نهم، وجود حساسیت رفتاری با تزریق دوز بی اثر مورفین (۵ میلی گرم/کیلوگرم) در حیوانات بررسی شد. اگر فعالیت حرکتی حیوان از میزان کنترل بصورت معنی داری زیادتر می شد، حساسیت حرکتی القاء شده بود.

برای القاء تحمل رفتاری، در سه روز متوالی و در هر روز دونوبت به حیوانات دوز ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم مورفین تزریق شد (۹ صبح و ۱۶ عصر). در روز چهارم وجود تحمل با تزریق دوز مؤثر مورفین (۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) بررسی شد. در این حالت، حیوانات به دوز مؤثر مورفین مانند سالیین پاسخ می دادند.

بررسی اثر عصاره گیاه شقایق بر کسب و بیان حساسیت حرکتی به مورفین

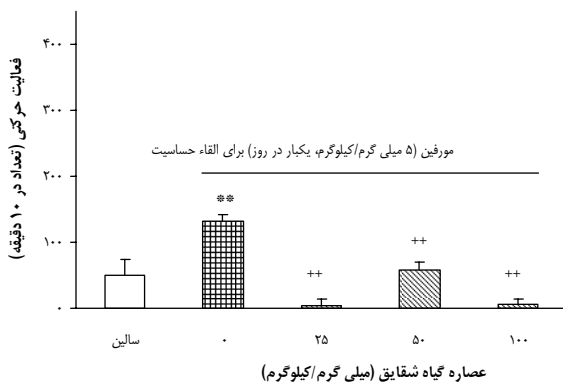
در مرحله کسب حساسیت، دوزهای مختلف عصاره (۲۵ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق زیرجلدی مورفین (۵ mg/kg) به حیوانات تزریق شد. در روز تست (روز نهم)، حیوانات تنها مورفین (۵ mg/kg) را بصورت زیرجلدی دریافت و سپس مورد آزمایش



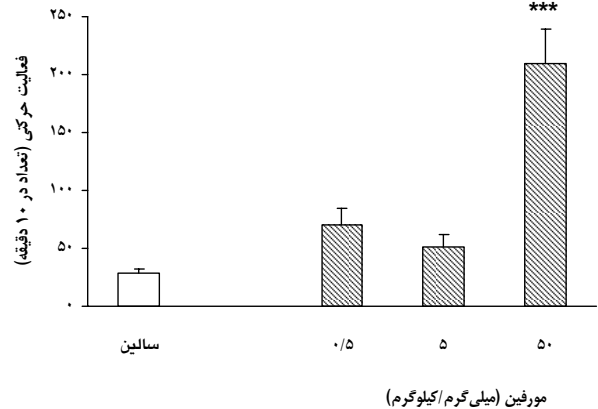
شکل ۳- اثر تجویز عصاره شقایق بر کسب (ایجاد) حساسیت رفتاری ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی. حیوانات ۳۰ دقیقه قبل از تجویز مورفین (۵ mg/kg)، عصاره گیاه شقایق (۱۰۰، ۵۰، ۲۵ mg/kg) را بصورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند و سپس پنج روز را بدون دریافت دارو سپری می‌کردند. گروه کنترل سالین دریافت می‌کرد. در روز تست (روز نهم)، حیوانات ابتدا مورفین (۵ mg/kg, s.c.) دریافت کرده و پس از ۵ دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج به صورت (SEM±Mean) تعداد حرکات در مورد ۸ سر حیوان است. $P < 0.01$ ** تفاوت از گروه شاهد (سالین) و $P < 0.01$ ++، $P < 0.05$ + تفاوت از گروه حساس شده است.

ناشی از مورفین، از چهار گروه حیوان استفاده شد. سه گروه از حیوانات در روزهای القاء حساسیت، قبل از دریافت مورفین (۵ mg/kg) یکی از سه دوز عصاره (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) را دریافت کردند. گروه چهارم سالین دریافت کردند. در روز تست (روز نهم)، حیوانات تنها دوز بی‌اثر مورفین (۵ mg/kg) را دریافت کردند. نتایج نشان دادند که تجویز عصاره اثر مورفین را در القاء حساسیت رفتاری بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد [F(3,28)=21.97, P<0.0001] (شکل ۳).

به منظور بررسی اثر عصاره گیاه شقایق بر بیان حساسیت رفتاری ناشی از مورفین، ابتدا چهار گروه حیوان انتخاب شدند. همه گروه‌ها در روزهای القاء حساسیت، مورفین (۵ mg/kg) دریافت کردند. در روز تست



شکل ۴- اثر تجویز عصاره گیاه شقایق بر بیان حساسیت ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی. حیوانات در روزهای القاء حساسیت مورفین (۵ mg/kg) را بصورت زیر جلدی دریافت می‌کردند. در روز تست، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون هر حیوان ابتدا دوزهای مختلف عصاره گیاه شقایق (۱۰۰، ۵۰، ۲۵ mg/kg) را بصورت داخل صفاقی دریافت می‌کرد و ۵ دقیقه پس از دریافت مورفین (۵ mg/kg, s.c.) به مدت ۱۰ دقیقه مورد مطالعه قرار می‌گرفت. نتایج به صورت (SEM±Mean) تعداد حرکات در مورد ۸ سر حیوان است. $P < 0.01$ ** تفاوت از گروه شاهد و $P < 0.01$ ++ تفاوت از گروه حساس شده است.



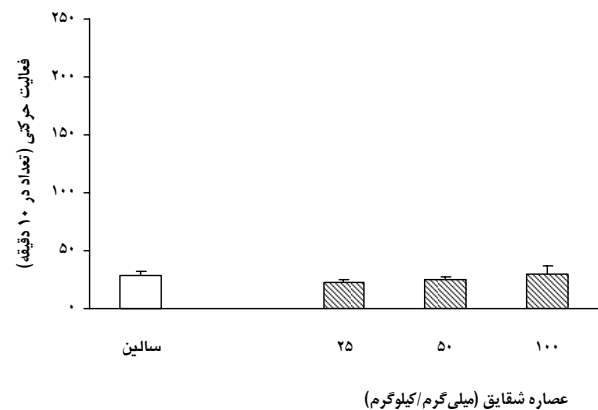
شکل ۱- اثر مورفین در القاء فعالیت حرکتی در موشهای کوچک آزمایشگاهی. تزریق مورفین به حیوانات باعث افزایش معنی‌دار تعداد حرکات در حیوانات می‌شود. تجویز سالین اثری را در القاء فعالیت حرکتی ندارد. این نتیجه در مورد دوز ۵۰ mg/kg مورفین قویتر بود. نتایج به صورت (EM±Mean) نمره تعداد حرکات (خطوط قطع شده) در مورد ۸ سر حیوان است. $P < 0.001$ *** تفاوت از گروه شاهد است.

مورفین بهترین جواب را القاء کرد، در قسمتهای بعدی آزمایش از این دوز به عنوان دوز مؤثر مورفین استفاده گردید. همچنین، دوز ۵ mg/kg مورفین نیز به عنوان دوز بی‌اثر در قسمتها بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).

در دور دوم آزمایش‌ها اثر عصاره گل شقایق در القاء فعالیت حرکتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که تجویز دوزهای مختلف عصاره گل شقایق (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) بصورت داخل صفاقی، اثری بر میزان فعالیت حرکتی حیوانات ندارد [F(3,28)=1.2, P>0.05] (شکل ۲).

بررسی اثر عصاره گیاه شقایق بر کسب و بیان حساسیت حرکتی ناشی از مورفین

به منظور بررسی اثر عصاره گیاه شقایق بر کسب حساسیت رفتاری



شکل ۲- اثر عصاره گیاه شقایق در القاء فعالیت حرکتی در موشهای کوچک آزمایشگاهی. همچنانکه در شکل پیداست، تزریق دوزهای مختلف عصاره به حیوانات باعث تغییر معنی‌داری در فعالیت حرکتی آنها نشده است. نتایج به صورت (SEM±Mean) تعداد حرکات در مورد ۸ سر حیوان است.

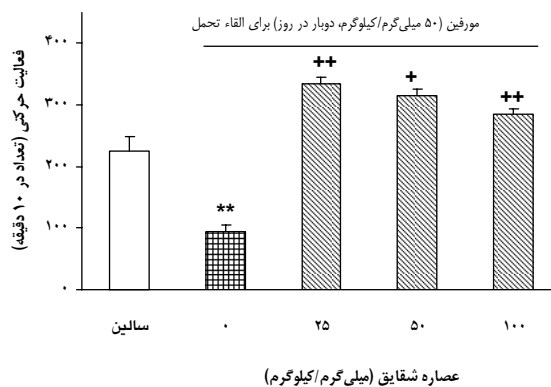
روزهای القاء تحمل، قبل از دریافت مورفین (۵۰ mg/kg) یکی از سه دوز عصاره (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) را دریافت کردند. گروه چهارم سالین دریافت کردند. در روز تست (روز چهارم)، حیوانات تنها دوز مؤثر مورفین (۵۰ mg/kg) را دریافت کردند. نتایج نشان دادند که تجویز عصاره، اثر مورفین را در القاء تحمل رفتاری بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد [F(3,28)=10.45, P<0.0001] (شکل ۵).

به منظور بررسی اثر عصاره گیاه شقایق بر بیان تحمل رفتاری ناشی از مورفین، ابتدا چهار گروه حیوان انتخاب شدند. همه گروه‌ها در روزهای القاء تحمل، مورفین (۵۰ mg/kg) را در دو نوبت دریافت کردند. در روز تست (روز چهارم)، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق دوز مؤثر مورفین (۵۰ mg/kg)، به سه گروه از حیوانات سه دوز از عصاره (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) تزریق شد. گروه چهارم سالین دریافت کردند. آزمایش‌ها نشان دادند که تجویز عصاره بیان تحمل حرکتی ناشی از مورفین را تقویت می‌کند [F(3,28)=25.12, P<0.001] (شکل ۶).

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز مورفین به حیوانات سبب القاء فعالیت حرکتی شدید در آنها شد. این نتیجه با نتایج قبلی همخوانی داشته و نشان می‌دهد که تجویز دوزهای بالای مورفین بصورت حاد سبب افزایش رفتار حرکتی در حیوانات می‌شود [۱۷]. مدارهای نورونی دوپامینرژیک مسیر مزولیمبیک را مهمترین محل اثر مورفین در این زمینه می‌دانند [۳۱]. به این ترتیب که مورفین با مهار اثرات مهاری نورونهای گابائریژیک بر روی نورونهای دوپامینی موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی، سبب افزایش رها شدن دوپامین از این نورونها در منطقه ختم آنها یعنی هسته آکومبانس شده و دو اثر اصلی خود یعنی القاء فعالیت حرکتی و سرخوشی را موجب شده است [۳ و ۲]. البته احتمال اینکه سایر مدارهای نورونی و همچنین سایر سیستمهای نوروترانسمیتری در این پدیده شرکت داشته باشند را هم نباید از نظر دور داشت [۵]. از سوی دیگر، تجویز عصاره گیاه شقایق به حیوانات هیچگونه اثری بر افزایش و یا کاهش فعالیت حرکتی حیوانات نداشت. تاکنون نیز در زمینه اثر عصاره این گیاه بر تغییر فعالیت رفتاری در حیوانات یا انسان گزارش نشده است. با توجه به اینکه این عصاره دارای خواص شبیه به مورفین است [۱۰ و ۱۱]، و همچنین اثرات ضد دوپامینی و ضد کولینرژیک از این عصاره دیده شده است [۱۸ و ۱۹]، انتظار این بود که تغییری در رفتار حیوانات در اثر تجویز عصاره مشاهده شود ولی این امر بوقوع نیوست. عدم توانایی عصاره در القاء اثرات حرکتی از یک نظر نیز می‌تواند مفید باشد و آن اینکه اگر این عصاره اثری بر کار مورفین داشته باشد، به دلیل تاثیر اولیه عصاره در تغییر فعالیت حرکتی حیوانات نمی‌باشد.

در ادامه آزمایشات، اثر تجویز عصاره بر القاء و بیان حساسیت رفتاری به مورفین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تجویز متوالی مورفین همانطور که قبلاً نیز گزارش شده بود [۱۷]، سبب القاء حساسیت

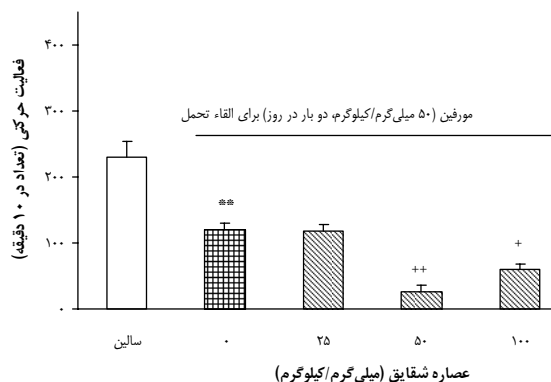


شکل ۵- اثر تجویز عصاره گیاه شقایق بر کسب (ایجاد) تحمل رفتاری ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی. حیوانات ۳۰ دقیقه قبل از تجویز مورفین در روزهای القاء تحمل، عصاره گیاه شقایق (۲۵، ۵۰، ۱۰۰) را بصورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند. گروه کنترل سالین دریافت می‌کرد. در روز تست (روز چهارم)، حیوانات مورفین دریافت کرده (۵۰ mg/kg, s.c.) و ۵ دقیقه بعد به مدت ۱۰ دقیقه مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج به صورت (SEM±Mean) تعداد حرکات در مورد ۸ سر حیوان است. $P<0.01$ ** تفاوت از گروه شاهد (سالین) و $P<0.01$ ++ تفاوت از گروه تحمل یافته است.

(روز نهم)، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق دوز بی‌اثر مورفین (۵ mg/kg) به سه گروه از حیوانات سه دوز از عصاره (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) تزریق شد. گروه چهارم سالین دریافت کردند. آزمایش‌ها نشان دادند که تجویز عصاره بیان حساسیت حرکتی ناشی از مورفین را کاهش می‌دهد [F(3,28)=28.21, P<0.001] (شکل ۴).

بررسی اثر عصاره گیاه شقایق بر کسب و بیان تحمل حرکتی ناشی از مورفین

به منظور بررسی اثر عصاره گیاه شقایق بر کسب تحمل رفتاری ناشی از مورفین، از چهار گروه حیوان استفاده شد. سه گروه از حیوانات در



شکل ۶- اثر تجویز عصاره گیاه شقایق بر بیان تحمل ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی. حیوانات در روزهای القاء تحمل مورفین (۵۰ mg/kg) را بصورت زیر جلدی دوبار در روز دریافت می‌کردند. در روز تست، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون هر حیوان ابتدا دوزهای مختلف عصاره گیاه شقایق (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ mg/kg, i.p.) را دریافت می‌کرد و پس از دریافت مورفین (۵۰ mg/kg, s.c.) و گذشت ۵ دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه مورد مطالعه قرار می‌گرفت. نتایج به صورت (SEM±Mean) تعداد حرکات در مورد ۸ سر حیوان است. $P<0.01$ ** تفاوت از گروه شاهد و $P<0.05$ +، $P<0.01$ ++ تفاوت از گروه تحمل یافته است.

گیرنده‌های اوبیوئیدی، مهار مکانیسم‌های درون سلولی (پروتئین‌های G) که توسط این گیرنده‌ها فعال می‌شوند، فسفوریلاسیون پروتئین‌هایی که در توالی فعالیت بعد از گیرنده قرار دارند، و فرار سلول‌های هدف از تحریک بسیار شدید اوبیوئیدی [۹] می‌باشد. از نظر آناتومیکی هم مهمترین محل بروز تحمل حرکتی به اوبیوئیدها را در هسته آکومبانس و ناحیه تگمنتوم شکمی می‌دانند [۵].

در آزمایش‌های انجام شده، تجویز عصاره گیاه شقایق توانست کسب تحمل حرکتی به مورفین را از بین ببرد (حیوانات در مقابل دوز مؤثر مورفین از خود واکنش نشان دادند) اما بیان تحمل حرکتی به مورفین توسط عصاره تقویت شد. این پاسخها در حالی بود که خود عصاره به تنهایی اثری را نشان نداده بود. این اثر عصاره نیز غیر وابسته به دوز بود. در مورد مکانیسم یا مکانیسم‌هایی که توسط عصاره در حیوان فعال شده و نتایج بدست آمده باید گفت، در اینجا نیز همان احتمالاتی که در بخش حساسیت گفته شد، صادق هستند. عصاره گیاه شقایق دارای خواص ضد دوپامینی است. در تحقیقات قبلی، آنتاگونیست‌های سیستم دوپامینی سبب مهار تحمل به اثرات ضد درد مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی شده‌اند [۱۲]. همچنین، مهارگرهای سیستم کولینرژیک نیز توانسته‌اند که تحمل به مورفین را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی مهار کنند [۱۳]. این تحقیق نیز در همخوانی با نتایج ما می‌باشد. از سوی دیگر، عصاره دارای خواص ضعیف اوبیوئیدی است و ممکن است این تصور وجود داشته باشد که بایستی تقویتی در اثرات مورفین در القاء تحمل حرکتی دیده می‌شد. در توجیه این عدم همخوانی باید گفت که اثرات عصاره غیر وابسته به دوز است یعنی احتمالاً مکانیسم‌های نوروترانسمیتری متعددی به هنگام تجویز عصاره در داخل بدن حیوانات به کار می‌افتد که برآیند اثر آنها چیزی است که مشاهده می‌شود، به همین دلیل، ممکن است اثر خالص یکی از اجزاء عصاره توسط اثرات سایر اجزاء پوشیده شده و بروز نیابد. از سوی دیگر، تجویز حاد عصاره در روز تست باعث افزایش اثر مورفین در القاء تحمل حرکتی شد. با توجه به اینکه مکانیسم‌های متفاوتی در هنگام کسب و بیان تحمل رخ می‌دهند، اثر متفاوت عصاره در هنگام کسب و بیان تحمل حرکتی به مورفین، امری واضح است. در همین راستا، تحقیق قبلی نشان می‌دهد که تجویز حاد عصاره پرش ناشی از تجویز نالوکسان را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی وابسته به مورفین تقویت می‌کند [۱۵]. همچنین، تجویز حاد عصاره شقایق به موشها اثری بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین ندارد [۲۰]. نتایج تحقیق نخست در راستای نتایج حاضر است و نشان می‌دهد که تجویز حاد عصاره گیاه شقایق احتمالاً برخی از اثرات مورفین را نه تنها تضعیف نمی‌کند، بلکه تقویت نیز می‌نماید. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و مکانیسم‌هایی که توسط عصاره فعال می‌شوند، به نظر می‌رسد که تجویز حاد عصاره گیاه شقایق بر فعال شدن مکانیسم‌هایی که توسط مورفین در موش‌های تحمل یافته به مورفین فعال می‌شوند، اثر گذاشته و آنها را تقویت می‌کند. به این ترتیب، بایستی اظهار کرد که مهار گیرنده‌های دوپامینی و کولینرژیک و در کنار آن تحریک گیرنده‌های اوبیوئیدی می‌تواند بیان

به این دارو شد به نحوی که تجویز دوز بی‌اثر مورفین به این حیوانات رفتار حرکتی بسیار قوی را در آنها برانگیخت. حساسیت به مورفین امری کاملاً شناخته شده در بین محققان است و از عوامل اصلی بازگشت فرد به اعتیاد پس از ترک محسوب می‌شود [۵]. این حساسیت هم در رفتار حرکتی [۱۷] و هم در رفتارهای مربوط به وابستگی روانی [۵ و ۴] مشاهده می‌شود. مسیر دوپامینی مزو کورتیکولیمبیک به عنوان اصلی‌ترین محل بروز حساسیت به انواع داروهای مخدر شناخته شده است [۵ و ۴]. محققان بخصوص بر نقش محوری ناحیه تگمنتوم شکمی در این زمینه توافق نظر دارند (برای مرور رجوع شود به: ۵ و ۶). تحقیقات ما نشان دادند که تجویز عصاره شقایق چه بصورت حاد و در روز تست و چه بصورت مزمن و در روزهای القاء حساسیت، قادر به مهار اثرات حساسیت‌زای مورفین است. معنای این جملات آن است که جزء یا اجزائی از عصاره گیاه شقایق با مکانیسم‌های متفاوتی که در هنگام القاء و یا بیان حساسیت به مورفین فعال می‌شوند، تداخل کرده و حداقل بخشی (اگر نگوئیم همه) از آنها را از کار می‌اندازند. عصاره گیاه شقایق دارای اثرات ضد دوپامینی [۱۸] و ضد کولینرژیک [۱۹] است. مشاهدات قبلی نقش سیستم‌های دوپامینی و کولینرژیک را در مهار اثرات حرکتی مورفین نشان داده است [۵]. بنابراین، ممکن است مهار حساسیت حرکتی ناشی از مورفین توسط عصاره گیاه شقایق چندان تعجب‌آور نباشد. از سوی دیگر، عصاره گیاه شقایق دارای اثرات ضعیف اوبیوئیدی است [۱۰]. بنابراین ممکن است تصور شود که این اثرات شاید بتوانند با اثرات مورفین جمع شوند و ما اثر قویتری را از تزریق همزمان این دو دارو نسبت به مورفین مشاهده کنیم (همانند مورد القاء پرش در موش‌های وابسته به مورفین در آزمایش‌های قبلی [۱۵]). در هر حال این اثر در مورد حساسیت حرکتی دیده نشد و علت آن احتمالاً به تفاوت مکانیسم‌های هر کدام از این دو پدیده مربوط می‌شود. تاثیر عصاره گیاه شقایق بر کسب و بیان حساسیت حرکتی ناشی از مورفین یک اثر غیر وابسته به دوز بود. این امر به معنای آن است که عصاره گیاه شقایق مکانیسم‌های متعددی را در بدن فعال می‌کند و این مکانیسم‌های مختلف، عامل بروز اثر یکسان عصاره در هنگام بررسی کسب و بیان حساسیت حرکتی ناشی از مورفین هستند. اینکه عصاره در چه ناحیه‌ای از مغز (و یا قسمت‌های محیطی-احتمالاً) اثر کرده و با کدام سیستم نوروترانسمیتری تداخل داشته است، بدرستی روشن نیست اما، می‌توان احتمال این را مطرح کرد که محل اثر عصاره احتمالاً مکان‌هایی در مغز است که با بروز رفتارهای حرکتی و حساسیت حرکتی به مورفین درگیر هستند. از مهمترین این مکانها بایستی به هسته آکومبانس و تگمنتوم شکمی اشاره کرد.

تجویز مورفین با دوز بالا و در سه روز پیاپی سبب القاء تحمل به این دارو شد. به نحوی که تجویز دوز مؤثر مورفین به این حیوانات هیچگونه افزایش را در فعالیت حرکتی القاء نکرد. این نتیجه نیز با نتایج قبلی همخوانی دارد و نشان می‌دهد که تجویز مورفین بصورت متوالی و مزمن باعث بروز تحمل به اثرات این دارو می‌شود [۹]. این تحمل به دلایل زیادی بوجود می‌آید که مهمترین آنها عبارت از: کاهش تعداد

- methods and terms, *Trends Pharmacol Sci* 13 (1992) 170-176.
- [8] Williams J.T., Christie M.J., Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence, *Physiol Rev* 81(2001) 299-343.
- [9] Law, P.Y. and Loh, H.H. Regulation of opioid receptor activities, *J Pharmacol Exp Ther* 286 (1999) 607-624.
- [۱۰] زرگری، علی. گیاهان داروئی، چاپ ششم. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران (۱۳۷۵)، ۱۰۲-۹۱.
- [11] Kalva, Y.N. and Sanyar, G., Alkaloids from Turkish *Papaver rhoeas* L, *Planta Medica*, 55 (1989) 488.
- [12] Slavik, J., Slavikov, L., Bochorakova, J., Alkaloids from *Papaver rhoeas* ver. *Chelidonioides* O. Kuntze, *P. confine* Jord and *P. dubium*, *Collection of Czechoslovak Chemical Communication* 54 (1989) 1112-18.
- [13] Valnet, J. Phytotherapie. Sixth ed. Maloine, Paris, France, (1992).
- [14] Rey, J.P., Levesque, J., Kposset, J.P., Rolot, F. Analytical studies of isorhoeadine and rhoegenine in petal extracts of *Papaver rhoeas* L. using high-performance liquid chromatography, *J Chromatography* 596 (1992) 276-280.
- [15] Pourmotabbed, A., Rostamian, B., Manouchehri, G., Pirzadeh-Jahromi, G., Sahraei, H., Ghoshooni, H., Zardooz, H., Kamalnegad, M. Effects of *Papaver rhoeas* extract on the expression and development of morphine-dependence in mice, *Ethnopharmacology* 95 (2004) 431-435.
- [16] Miquel, M., Aguilar, M.A., Aragon, C.M.G. Ascorbic acid antagonizes ethanol-induced locomotor activity in the open-field, *Pharmacol Biochem Behav* 62 (1999) 361-266.
- [17] Zarrindast, M.R. Gholami, A., Sahraei, H., Haeri-Rohani, A. Role of nitric oxide in the acquisition and expression of apomorphine- or morphine-induced locomotor sensitization, *Eur J Pharmacol* 482 (2003) 205-213.
- [18] Matysik, G., Benesz, M. Thin-layer chromatography and densitometry of anthocyanins in the petals of red poppy during development of the flowers, *Chromatographia* 32 (1991) 19-22.

تحميل حرکتی به مورفین را مهار کند. این امر بایستی در سایر جنبه‌های عملکرد مورفین مانند درد بررسی شود.

آنچه که در این تحقیق اهمیت دارد این است که به نظر می‌رسد که جزء یا اجزائی در عصاره گیاه شقایق وجود دارند که به راحتی با مکانیسم‌های فعال شده توسط مورفین تداخل کرده و بروز حساسیت و تحمل به مورفین را کاهش می‌دهند. اینکه این عصاره از چه طریقی این کار را انجام می‌دهد و یا کدام منطقه از مغز را بیشتر تحت تاثیر قرار می‌دهد، امری است که بایستی در آزمایشات بعدی مورد بررسی قرار گیرد. در هر حال، آزمایش‌های فعلی در مورد اثرات حرکتی و نیز نتایج قبلی در مورد وابستگی فیزیکی [۱۵] و ترجیح مکان شرطی شده [۲۰]، بیانگر اثر عصاره گیاه شقایق بر عملکردهای مختلف مورفین در موش کوچک آزمایشگاهی است که با توجه به کم خطر بودن این عصاره [۱۰]، احتمال کاربرد آن در موارد انسانی (درمان اعتیاد) را نباید از نظر دور داشت.

تقدیر و تشکر

نویسندگان از سرکار خانم راضیه صحرایی که در امر جمع‌آوری نمونه‌ها کمک شایانی نمودند، قدردانی می‌کنند. همچنین، نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از زحمات سرکار خانم مولود افشار هاشم‌خانی که ما را در تهیه این مقاله یاری کردند، کمال تشکر را داشته باشند. این کار با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد که بدینوسیله از حمایت مرکز مذکور قدردانی می‌شود.

منابع

- [1] Nestler, E.J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction, *Nat Rev Neurosci* 2 (2001) 119-128.
- [2] Koob, G.F. Drug of abuse : anatomy, pharmacology, and function of reward pathways, *Trends Pharmacol Sci* 13 (1992) 177-184.
- [3] De Vries, T.J. and Shippenberg, T.S. Neural systems underlying opiate addiction, *J Neurosci* 22 (2002) 3321-25.
- [4] Cami, J. and Farre, M. Drug addiction, *New Engl J Med* 349 (2003) 975-86.
- [5] Robinson, T.E. and Berridge, K.C. *Addiction, Annu Rev Psychol* 54 (2003) 25-53.
- [6] Nestler E.J. Molecular mechanisms of opiate and cocaine addiction, *Curr Opin Neurobiol* 7 (1997) 713-19.
- [7] Stolerman I. Drugs of abuse: behavioral principles,

Monzavi, Z., Salaimi, S.h., Kamalinejad, M. Effects of *Papaver rhoeas* extract on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in mice, *J Ethnopharmacol* (2005) In Press.

- [19] Soulimani, R., Younos, C., Jarmouni-Idrissi, S., Bousta, D., Khalouki, F., Laila, A. Behavioral and pharmacotoxicological study of *Papaver rhoeas* L. in mice, *J Ethnopharmacol* 74 (2001) 265-274.
- [20] Sahraei, H., Fatemi, S.M., Pashaei-Rad, S., Faghieh-

متن کامل این مقاله از طریق وب سایت مجله قابل دسترسی است www.phypha.ir/ppj