



Effect of nitric oxide on the attenuation of acquisition of morphine-induced conditioned place preference by the essential oil from *Cuminum cyminum* L. fruit in mice

Pegah Azizi, Mojtaba Kermani, Abbas Haghparast*

Neuroscience Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 6 Apr 2011

Accepted: 2 Sept 2011

Abstract

Introduction: Nitric oxide (NO) is a neuronal messenger molecule in the central nervous system, which is generated from L-arginine by nitric oxide synthase (NOS) and involves in many important opioid-induced effects. Our previous studies revealed that *Cuminum cyminum* interestingly reduces morphine sensitization, tolerance and dependency in male mice. Therefore, in the present study, the effect of intraperitoneal (ip) administration of different doses of cumin fruit essential oil (FEO) on the acquisition of morphine-induced conditioned place preference (CPP) in L-arginine treated mice was investigated.

Methods: In this study, the CPP paradigm was done on 231 adult male albino Wistar mice and conditioning scores and locomotor activity were recorded by the Ethovision software.

Results: The results showed that solely administration of different doses of cumin FEO (0.01, 0.1, 0.5, 1 and 2%; ip) or L-arginine (50, 100 and 200 mg/kg; ip) during CPP protocol could not induce CPP. Nonetheless, morphine-induced CPP was significantly decreased by two higher doses of cumin FEO (1% and 2%; $P < 0.05$), while it was increased by L-arginine (100 and 200 mg/kg) when they were injected before morphine (5 mg/kg) during the acquisition period ($P < 0.001$). Additionally, cumin FEO (0.01-2%) could interestingly attenuate the increasing effect of L-arginine (200 mg/kg) on morphine-induced CPP in a dose-dependent manner.

Conclusion: In conclusion, it could be suggested that some components of cumin FEO attenuate the excessive effect of L-arginine on morphine-induced CPP through inhibitory mechanisms on NO pathway. It seems that cumin FEO possibly acts as a NOS inhibitor.

Key words: *Cuminum cyminum*, Nitric oxide, Morphine, L-Arginine, Conditioned place preference, Acquisition, Mice

* Corresponding author e-mail: Haghparast@yahoo.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثر نیتریک اکساید بر کاهش اکتساب ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین توسط عصاره روغنی گیاه زیره سبز (*Cuminum Cyminum L.*)

در موش سوری

پگاه عزیزی، مجتبی کرمانی، عباس حق پرست*

مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

پذیرش: ۱۱ شهریور ۹۰

دریافت: ۱۷ فروردین ۹۰

چکیده

مقدمه: نیتریک اکساید (NO) میانجی عصبی است که با واسطه آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (NOS) از ال-آرژنین مشتق می شود. تحقیقات نشان داده که این ماده در اثرات وابسته به مورفین دخالت دارد. مطالعات پیشین ما نشان داد که گیاه زیره سبز منجر به کاهش حساسیت، تحمل و وابستگی به مورفین در موش سوری می شود. لذا در مطالعه حاضر سعی شد که اثر عصاره روغنی دانه زیره بر اکتساب ترجیح مکان شرطی (Conditioned Place Preference; CPP) القاء شده توسط مورفین در موشهای درمان شده با ال-آرژنین بررسی گردد.

روش ها: در این تحقیق، تعداد ۲۳۱ سر موش تحت آزمون CPP قرار گرفته و نمره های شرطی سازی و فعالیت حرکتی آنان توسط نرم افزار اتووین ثبت گردید.

یافته ها: نتایج نشان داد که تجویز داخل صفاقی دوزهای متفاوت عصاره روغنی دانه زیره (۰/۱، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۲٪) و یا ال-آرژنین (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) به تنهایی در طول دوره اکتساب (دوره سه روزه شرطی سازی) قادر به ایجاد CPP نمی باشند. با این وجود، تزریق دوزهای بالای زیره (۱٪ و ۲٪) قبل از مورفین (۵ mg/kg) طی دوره اکتساب بطور معنی داری ($P < 0/01$) CPP القاء شده بوسیله مورفین را کاهش دادند؛ در حالیکه تجویز ال-آرژنین (۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) پیش از مورفین توانست CPP القاء شده بوسیله مورفین را افزایش دهد ($P < 0/001$). علاوه بر این، تجویز عصاره روغنی دانه زیره (۰/۱-۲٪) پیش از ال-آرژنین (۲۰۰ mg/kg) توانست بطور وابسته به دوز منجر به تضعیف اثر تشدید کننده CPP مورفین توسط ال-آرژنین شود.

نتیجه گیری: بطور کلی می توان چنین پیشنهاد کرد که بعضی از ترکیبات موجود در عصاره روغنی دانه زیره قادر به تضعیف اثرات افزایش دهنده ال-آرژنین بر CPP ناشی از مورفین از طریق اعمال مکانیسم مهار بر مسیر NO هستند و بنظر می رسد عصاره روغنی دانه زیره به عنوان مهار کننده آنزیم NOS عمل می کند.

واژه های کلیدی: گیاه زیره سبز (*Cuminum Cyminum L.*)، نیتریک اکساید، مورفین، ال-آرژنین، ترجیح مکان شرطی، اکتساب، موش سوری

مقدمه

تحریک و نشاط گذرا برای فرد می گردد و از طرف دیگر بعد از اتمام این اثرات سبب جستجوی فرد برای یافتن مجدد ماده و وابستگی مداوم به آن می شود. تلاشها در مقابله با این پدیده در دو سو صورت می گیرد. اول جلوگیری از ایجاد گرایش به سمت سوءمصرف مواد افیونی و دوم در جهت کاستن وابستگی روانی-فیزیکی فرد معتاد به ماده مخدر. از طرفی وابستگی به مواد اوبیوئیدی تنها گریبانگیر افراد سوء مصرف کننده

اعتیاد پاسخ بدن به تکرار سوء مصرف مواد می باشد. این وابستگی از طرفی باعث تسکین و آرامش موقت و گاهی

Haghparast@yahoo.com

* نویسنده مسئول مکاتبات:

www.phypha.ir/ppj

وبگاه مجله:

استفاده در این موارد درمانی قرار گیرند. گیاه زیره به عنوان یکی از گیاهان بومی ایران موارد استفاده دارویی مختلفی دارد که از جمله آنها می‌توان به درمان دندان درد، صرع و اسهال اشاره کرد [۲۰]. مطالعات پیشین ما نشان داد که عصاره روغنی دانه زیره منجر به کاهش حساسیت [۷]، تحمل و وابستگی به مورفین [۶] در موش سوری می‌شود. از طرفی، عصاره روغنی دانه زیره سبز حاوی ترکیباتی نظیر لینولول و گلوکوپیرانوزیدها [۱۰] می‌باشد که در دانه های گیاه زیره سبز بومی ایران نیز یافت می‌شوند و می‌توانند بعنوان بازدارنده های آنزیم نیتریک اکساید سنتاز ایفای نقش نمایند [۲۰]. با توجه به اثرات مشاهده شده دانه زیره سبز در مطالعات پیشین ما و همچنین وجود مواد بازدارنده تولید NO در عصاره روغنی دانه زیره و نقش NO در فرایند پاداش، هدف اصلی این مطالعه بررسی نقش نیتریک اکساید در آثار مشاهده شده از روغن دانه گیاه زیره سبز در اکتساب ترجیح مکان شرطی (پدیده پاداش) ناشی از مورفین می‌باشد.

مواد و روش ها

در این آزمایش تعداد ۲۳۱ سر موش سوری نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم، مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای 1 ± 24 درجه سانتی گراد نگهداری می‌شدند. در همه گروه ها غذا و آب به حد کافی در دسترس بود. گیاه زیره سبز از یک عطاری معتبر در بازار تهیه شد. عصاره روغنی دانه زیره توسط آقای محمد کمالی نژاد (گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) تهیه شد. نمونه شاهد گیاه نیز در هرباریوم گروه فارماکولوژی با شماره C-1456 نگه داری شد. توئین ۸۰ (شرکت گربو، آلمان) توسط آب مقطر حل شد تا محلول ۰/۵٪ بدست آید و به عنوان حلال عصاره روغنی دانه زیره استفاده شد. سولفات مورفین از شرکت تماد (ایران) تهیه شده و در محلول سالیین حل شد. ال-آرژنین از شرکت سیگما (آلمان) تهیه شده و در محلول سالیین حل شد. تمامی داروها در حجم ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم به حیوانات تجویز شدند.

ترجیح مکان شرطی: جهت بررسی اثرات پاداشی مورفین از روش ترجیح مکان شرطی (CPP) استفاده شد [۲]. این روش

نمی‌باشد بلکه در مواردی به دلیل مسایل بالینی مانند زمان بهبودی پس از آسیبهای شدید فرد نیاز به مصرف داروهای با ماهیت مخدر نظیر مورفین پیدا می‌نماید. دستگاه پاداش مهمترین جزء درگیر در این پدیده می‌باشد. ترجیح مکان شرطی (Conditioned Place Preference; CPP) یکی از روشهای اصلی در بررسی اثرات داروهای تحریک کننده مسیر پاداش می‌باشد [۲].

هروئین، نیکوتین [۱۵-۱۶] و داروهای اویپوئیدی نظیر مورفین [۱۸] قادر به ایجاد ترجیح مکان شرطی می‌باشد. تحقیقات نشان داده که نیتریک اکساید (Nitric oxide; NO) یکی از اصلی ترین عوامل تاثیر گذار بر فرایند پاداش و نیز در ایجاد CPP می‌باشد. NO یک تعدیل کننده عصبی در سیستم عصبی مرکزی است که توسط آنزیم سازنده نیتریک اکساید (Nitric oxide synthase; NOS) از ال-آرژنین مشتق می‌شود. تحقیقات زیادی بیانگر دخالت NO در پدیده های القاء شده توسط اویپوئیدها نظیر مقاومت و وابستگی به مورفین می‌باشد. شواهد زیادی وجود دارد که بیانگر همکاری NO با سیستم های نوروترانسمیتری سیستم عصبی مرکزی از جمله سیستم گلوتاماترژیک و گیرنده (N-methyl-D- NMDA aspartate) جهت ایفای نقش خود می‌باشد. همچنین NO ارتباط نزدیکی با دوپامین دارد و تحقیقات انجام شده ارتباط دوطرفه بین ساخت NO و آزاد شدن دوپامین را نشان داده است [۳, ۹, ۱۱, ۱۳]. تحقیقات فارماکولوژیک نشان داده است که مهارکننده های آنزیم NOS نظیر (N^G- L-NAME (nitro-L-arginine methyl ester) باعث کاهش اکتساب و بیان ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین در موشهای صحرائی می‌شوند [۱۷] و بنظر می‌رسد که NO نقش مهمی در پدیده پاداش ناشی از مورفین ایفا می‌کند. با توجه به این اثرات استفاده از ترکیب دارویی که بتواند گرایش به سمت مصرف دوباره اویپوئیدها را کاهش داده ولی در عین حال بر عملکرد ضد دردی آن اثر چندانی نداشته باشد در این موارد می‌تواند کمک کننده باشد.

سابقه استفاده از داروهای گیاهی در درمان بیماریها در ایران به مدتها پیش از شکل گیری درمانهای جدید بر می‌گردد. ترکیبات گیاهی دارویی به علت اثرات جانبی کمتری که نسبت به داروهای صنعتی دارند، می‌توانند در اولویت

حرکتی حیوان مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی منحنی دوز-پاسخ عصاره روغنی دانه زیره بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین: به منظور ارزیابی اثر عصاره روغنی دانه زیره بر ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین، گروه‌های متفاوت حیوانات در روزهای شرطی سازی، ۴۵ دقیقه پیش از دریافت زیر جلدی دوز موثر مورفین در ترجیح مکان شرطی (بدست آمده از منحنی دوز-پاسخ مورفین)، دوزهای مختلف عصاره روغنی دانه زیره ۰/۱٪، ۰/۱٪، ۱٪ و ۲٪ در حجم ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم بصورت داخل صفاقی و یا سالیین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) و توئین ۸۰ (۵/۰٪؛ ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) دریافت کردند و در روز آزمون (روز پنجم)، نمره شرطی سازی و فعالیت حرکتی حیوان مورد ارزیابی قرار گرفت. در گروه شرطی سازی به سالیین، حیوانات در روزهای شرطی سازی بجای مورفین، سالیین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) بصورت زیر جلدی دریافت کردند و لذا اثر دوزهای مختلف عصاره روغنی دانه زیره (۰/۱-۲٪) به تنهایی بر ترجیح مکان شرطی نیز بررسی گردید.

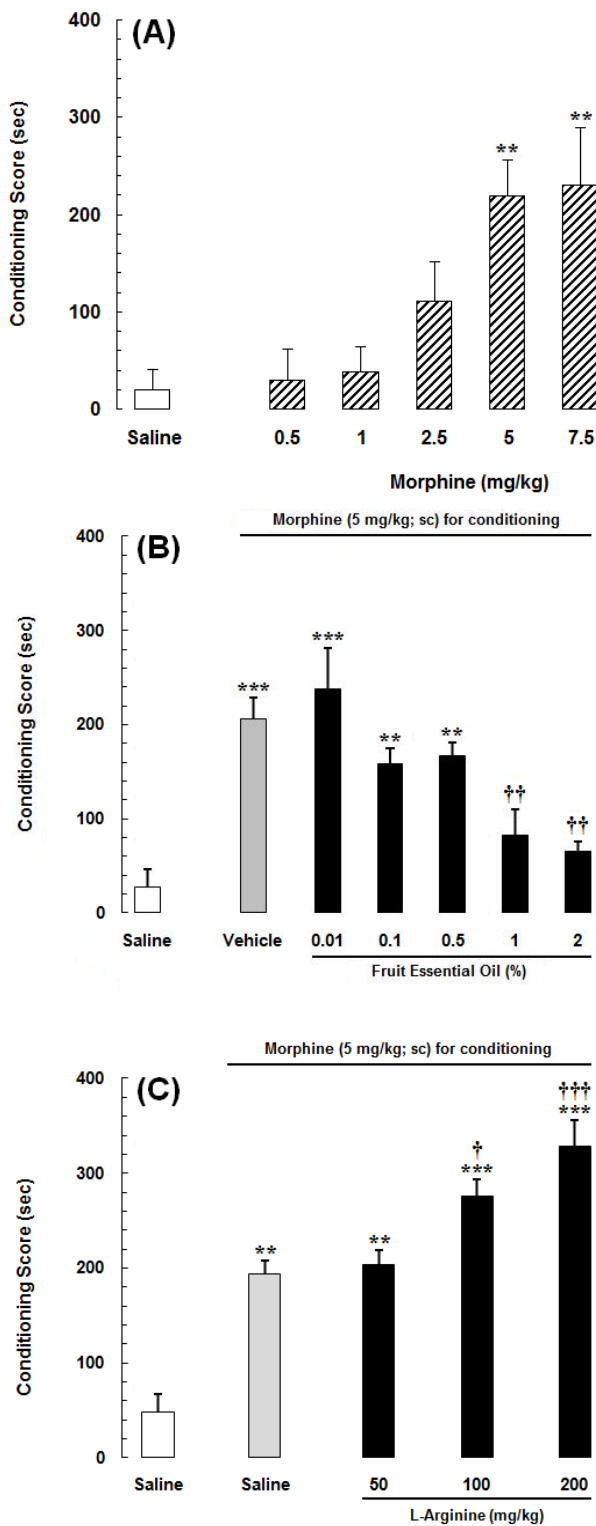
بررسی منحنی دوز-پاسخ ال-آرژنین به عنوان پیش ساز NO بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین: جهت بررسی اثر ال-آرژنین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین، ال-آرژنین با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم و یا سالیین به عنوان ناقل دارو (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) هر دو بصورت داخل صفاقی در روزهای شرطی سازی تزریق و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، مورفین با دوز موثر آن نیز تزریق شد. سپس در روز آزمون (روز پنجم)، نمره شرطی سازی و فعالیت حرکتی حیوان در طول ۱۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت. در گروه‌های شرطی سازی به سالیین، حیوانات در روزهای شرطی سازی پس از دریافت ال-آرژنین، سالیین (۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم) را بجای مورفین بصورت زیر جلدی دریافت کردند و لذا اثر دوزهای مختلف ال-آرژنین (۵۰-۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) به تنهایی بر ترجیح مکان شرطی نیز بررسی گردید.

بررسی منحنی دوز-پاسخ عصاره روغنی دانه زیره بر اثرات ال-آرژنین در ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین: به منظور بررسی اثرات دوزهای متفاوت عصاره روغنی زیره بر اثرات ال-آرژنین در ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین،

شامل سه مرحله پیش آزمون (Pre-conditioning)، شرطی سازی (Conditioning) و آزمون (Post-conditioning) است. در این روش از یک جعبه با دو قسمت اصلی و یک قسمت خنثی (null) استفاده می شود که در یک بخش، مورفین با دوز موثر و در قسمت دیگر سالیین به حیوان تزریق می شود. حیوان در روز اول (دوره پیش آزمون) داخل جعبه در فضای خنثی (null) قرار گرفته و به مدت ۱۰ دقیقه بصورت آزادانه در هر سه قسمت حرکت می کند. مرحله شرطی سازی شامل ۶ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای می باشد (۳ جلسه سالیین و ۳ جلسه دارو) که در هر روز ۲ جلسه و با فاصله زمانی ۶ ساعت صورت می گیرد. در این مرحله نیمی از حیوانات صبح مورفین را بصورت زیر جلدی در جعبه شرطی سازی و در جعبه مخالف در عصر سالیین بصورت داخل صفاقی دریافت می کنند و تزریق نیمه گروه دوم معکوس نیمه اول می باشد. حیوانات پس از دریافت دارو به مدت ۳۰ دقیقه در داخل جعبه باقی می مانند و بدلیل بسته بودن درب بین جعبه‌ها قادر به خروج از هر جعبه نمی باشند. در مرحله پس از شرطی سازی که در روز پنجم می باشد، هر حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شده و حیوان قادر است بصورت آزادانه در داخل جعبه‌ها حرکت کند. در این مدت زمان سپری شده در هر قسمت توسط دوربین فیلمبرداری ضبط شده و توسط نرم افزار اتوویشن مورد آنالیز قرار گرفته می شود.

به منظور محاسبه نمره شرطی سازی به عنوان فاکتور ترجیح (تغییر ترجیح) مدت زمان حضور حیوان در قسمتی که مورفین دریافت می کند در روز آزمون را از زمان حضور حیوان در همان قسمت در روز پیش آزمون (Pre-test) کسر می کنیم. لازم بذکر است که با استفاده از نرم افزار اتوویشن، مسافت طی شده حیوان در طول دوره پیش آزمون (پیش از اعمال هر گونه شرطی سازی و یا تزریق داروهای مختلف) و آزمون (۱۰ دقیقه) جهت بررسی فعالیت حرکتی حیوان نیز ثبت می گردد.

طراحی آزمون‌ها: بررسی منحنی دوز-پاسخ مورفین در ترجیح مکان شرطی: جهت بررسی دوزهای متفاوت مورفین بر ترجیح مکان شرطی، گروه‌های متفاوت حیوانات در روزهای شرطی سازی (سه روز)، مورفین را با دوزهای ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم بصورت زیر جلدی دریافت کردند. سپس در روز آزمون (روز پنجم)، نمره شرطی سازی و فعالیت



شکل ۱- (A) اثر دوزهای متفاوت مورفین در ترجیح مکان شرطی و بررسی منحنی دوز-پاسخ (B) عصاره روغنی دانه زیره و (C) ال-آرژنین به عنوان پیش ساز NO بر اکتساب ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین. حیوانات دوزهای متفاوت (A) مورفین زیرجلدی، (B) عصاره روغنی دانه زیره (۰/۱-۲٪، داخل صفاقی)، سالین و یا ناقل دارو (توئین ۸۰، ۰/۵٪) را ۴۵ دقیقه قبل از دوز موثر مورفین و یا (C) دوزهای متفاوت ال-آرژنین (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) و سالین (۱۰ ml/kg) را ۱۵ دقیقه قبل از دوز موثر مورفین طی دوره ۳ روزه شرطی سازی (دوره اکتساب) دریافت کردند. هر نقطه بیانگر میانگین \pm میانگین خطای استاندارد برای ۶-۱۰ حیوان می باشد.

حیوانات در روزهای شرطی سازی عصاره روغنی دانه زیره را با دوزهای ۰/۱٪، ۰/۱٪، ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ در حجم ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم بصورت داخل صفاقی دریافت کردند و پس از ۳۰ دقیقه ال-آرژنین را با بیشترین دوز موثر آن تزریق شد و بعد از گذشت ۱۵ دقیقه، حیوانات دوز موثر مورفین را نیز دریافت کردند. سپس در روز تست CPP، روز آزمون (روز پنجم)، نمره شرطی سازی و فعالیت حرکتی حیوان در طول ۱۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز آماری: نتایج حاصله از آزمایشات این مطالعه به صورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد (Mean \pm SEM) بیان شده است. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس (ANOVA) یکطرفه و در صورت معنی داری، متعاقباً از پس آزمون نیومن-کولز (Newman-Keuls) جهت مقایسه چندگانه در گروههای مختلف و یا پس آزمون دانست (Dunnett) برای بررسی اختلاف سطح معنی داری با گروه کنترل استفاده شد. نمرات شرطی سازی و فعالیت حرکتی در تمامی گروه ها اعم از دست نخورده، سالین و گروه های آزمایشی توسط نرم افزار GraphPad Prism[®] 5.0 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و در تمامی موارد سطح معنی داری ۰/۰۵ (P -value ≤ 0.05) در نظر گرفته شد.

یافته ها

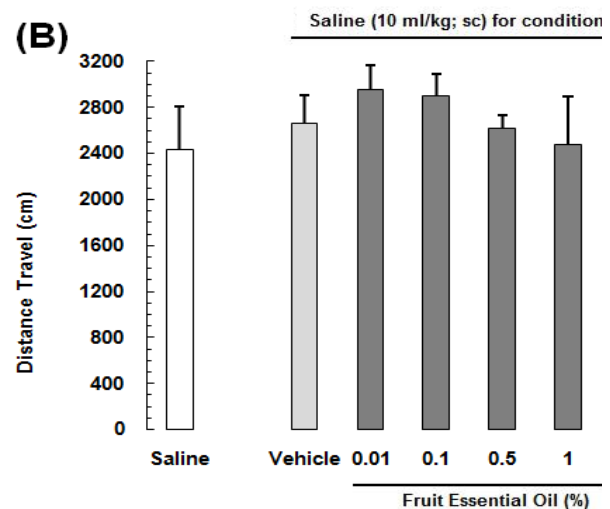
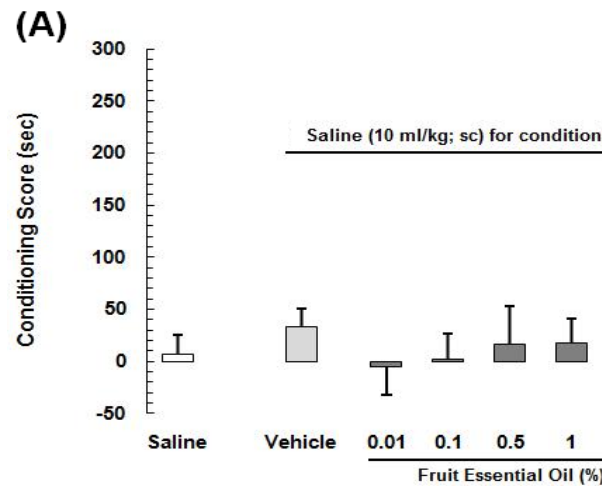
در مطالعه حاضر، یافته های بدست آمده از منحنی دوز-پاسخ مورفین در شکل 1-A نشان داد که تزریق دوزهای متفاوت مورفین (۰/۵، ۱، ۰/۵، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم) بصورت زیر جلدی موجب افزایش زمان حضور حیوان در قسمت شرطی جعبه در روز آزمون نسبت به زمان حضور در همین جعبه در روز پیش شرطی سازی (Pre-test) می شود [F(5,35)=6.496, P<0.0003]. این افزایش در نمره شرطی سازی حیوان، بصورت وابسته به دوز بود. همچنین نتایج حاصل از آزمون واریانس یکطرفه نشان داد که بین گروه های دریافت کننده مورفین اختلاف معنی داری در فعالیت حرکتی وجود ندارد [F(5,35)=0.1323, P=0.9837]. لازم بذکر است که با توجه به یافته های بدست آمده از منحنی دوز-پاسخ مورفین بر ترجیح مکان شرطی، از دوز موثر ۵ میلی گرم/کیلوگرم زیر

شده با مورفین می شود. آنالیز واریانس یکطرفه و پس آزمون نیومن-کولز نشان داد که نمره شرطی سازی در گروه هایی که عصاره روغنی زیره را با دوزهای ۱٪ و ۲٪ دریافت کرده اند، بصورت معنی داری ($P < 0.01$) در مقایسه با گروه حلال کاهش می یابد [$F(6,41) = 10.14, P < 0.0001$]. ضمناً هیچکدام از گروه های آزمایشی تفاوت معنی داری را در فعالیت حرکتی نسبت به گروه های کنترلی نشان ندادند [$F(6,41) = 0.4641, P = 0.83$].

در بخشی دیگر از آزمایشات، بررسی اثر ال-آرژنین بر اکتساب CPP القاء شده توسط مورفین، شکل 1-C نشان داد که در گروه های حیوانی که ال-آرژنین (۵۰-۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) را ۱۵ دقیقه قبل از تزریق مورفین (۵ میلی گرم/کیلوگرم، زیر جلدی) در دوره شرطی سازی (دوره اکتساب) دریافت می کردند، نمره شرطی سازی به صورت وابسته به دوز افزایش یافت. پس آزمون نیومن-کولز نشان داد که ال-آرژنین در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم منجر به افزایش ترجیح مکان شرطی نسبت به مورفین می شود [$F(4,41) = 23.27, P < 0.0001$]. لازم بذکر است که این پاسخ در دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم بیشترین است ($P < 0.001$).

همچنین آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که هیچکدام از گروه ها تفاوت معنی داری در میزان فعالیت حرکتی در روز آزمون نداشتند [$F(4,41) = 0.5495, P = 0.7005$]. همچنین نتایج بدست آمده از گروه های حیوانی که ال-آرژنین را به تنهایی دریافت کرده اند نشان داد که تزریق دوزهای متفاوت آن (۵۰-۲۰۰) در روزهای شرطی سازی (دوره اکتساب) هیچگونه تاثیری بر نمره شرطی سازی CPP [$F(3,22) = 0.4166, P = 0.7431$] و فعالیت حرکتی حیوانات [$F(3,22) = 0.4256, P = 0.7369$] در روز آزمون ندارند.

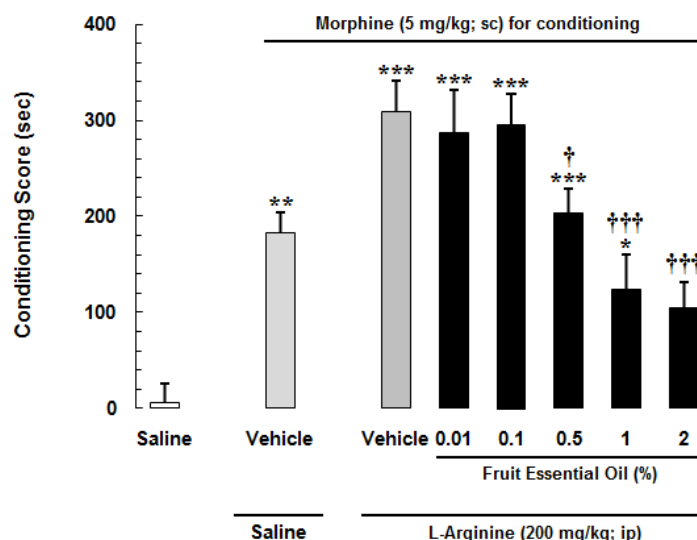
بررسی اثر تجویز عصاره روغنی دانه زیره به تنهایی بر ترجیح مکان شرطی: آزمون آنالیز واریانس یافته ها در این بخش از آزمایشات نشان داد (شکل 2-A) که تزریق داخل صفاقی دوزهای متفاوت عصاره روغنی دانه زیره (۰/۱-۲٪) به تنهایی و یا توئین ۸۰ (۰/۵٪) به عنوان ناقل دارو قادر به ایجاد ترجیح مکان شرطی در حیوانات نمی باشد [$F(6,41) = 0.2294, P = 0.9643$]. لازم بذکر است که



شکل ۲- بررسی اثر عصاره روغنی دانه زیره به تنهایی در ترجیح مکان شرطی (A) و بر فعالیت حرکتی (B) موش سوری. در این آزمایش، حیوانات عصاره روغنی دانه زیره (۰/۱-۲٪)، سالین و یا ناقل دارو (توئین ۸۰، ۰/۵٪) را در طول دوره شرطی سازی (دوره اکتساب) بصورت داخل صفاقی دریافت کردند و نمره شرطی سازی و فعالیت حرکتی حیوان مورد ارزیابی قرار گرفت. هر نقطه بیانگر میانگین \pm میانگین خطای استاندارد برای ۹-۶ حیوان می باشد.

جلدی مورفین در آزمایشات بعدی این مطالعه استفاده شد.

بررسی اثر تجویز عصاره روغنی دانه زیره و ال-آرژنین بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین: بررسی عصاره روغنی دانه زیره بر اکتساب CPP القاء شده توسط مورفین در شکل 1-B نشان می دهد که تجویز دوزهای متفاوت این عصاره (۰/۱-۲٪، ۰/۱-۰/۵٪، ۰/۱-۱٪، ۰/۱-۲٪) ۴۵ دقیقه قبل از تزریق مورفین (۵ میلی گرم/کیلوگرم، زیر جلدی) بصورت وابسته به دوز منجر به کاهش نمره شرطی سازی در موشهای درمان



شکل ۳- اثر عصاره روغنی دانه زیره بر اکتساب ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین در موشهای درمان شده با ال-آرژنین. حیوانات عصاره روغنی دانه زیره (۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۲٪) و یا ناقل دارو (توئین ۸۰، ۰/۵٪) را ۳۰ دقیقه قبل از تجویز دوز موثر ال-آرژنین دریافت کردند. لازم بذکر است که حیوانات ال-آرژنین را ۱۵ دقیقه قبل از تجویز زیر جلدی مورفین طی دوره شرطی سازی (دوره اکتساب) دریافت می کردند. در دیگر گروه های کنترلی، حیوانات توئین ۸۰ (۰/۵٪) و سالیین (۱۰ ml/kg) را به ترتیب بجای عصاره روغنی دانه زیره و ال-آرژنین طی دوره سه روزه شرطی سازی دریافت کردند. هر نقطه بیانگر میانگین \pm میانگین خطای استاندارد برای ۵-۶ حیوان می باشد. $P < 0.001$ ***، $P < 0.01$ **، $P < 0.05$ * اختلاف از گروه کنترل سالیین، $P < 0.05$ † اختلاف از گروه کنترل ناقل دارو (Vehicle)

ال-آرژنین بر روی CPP القاء شده توسط مورفین را بطور کامل بردارد ($P < 0.001$).

بحث

تحقیق انجام شده نشان داد که مورفین بصورت وابسته به دوز قادر به ایجاد ترجیح مکان شرطی در موش سوری می باشد. این یافته با مطالعات قبل انجام شده هم راستا می باشد [۲]. در ادامه تحقیق فوق نشان داد که عصاره روغنی دانه زیره زمانی که به تنهایی تجویز می شود قادر به ایجاد ترجیح مکان شرطی نمی باشد اما زمانی که قبل از دوز موثر مورفین تجویز می شود قادر به جلوگیری از ترجیح القاء شده توسط مورفین می باشد. در ادامه تحقیقات نشان داد ال-آرژنین به تنهایی قادر به ایجاد ترجیح مکان شرطی در حیوانات نمی باشد اما زمانی که قبل از مورفین تزریق می شود قادر به ایجاد اثر افزایشی در ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین می باشد. یافته اصلی این کار تحقیقاتی در واقع این بود که عصاره روغنی دانه زیره قادر است جلوی اثر افزایشی ال-آرژنین در ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین را بصورت وابسته به دوز بگیرد. همانطور که ذکر شد تجویز ال-آرژنین و عصاره روغنی دانه زیره به تنهایی قادر به ایجاد

اطلاعات مربوط به گروه هایی که دانه زیره را با دوزهای ۴٪ و ۸٪ دریافت کرده اند بدلیل وجود اثرات جانبی شدید حرکتی و همچنین میزان مرگ و میر بالا در آنالیز آماری قرار نگرفتند. در ارتباط با اثر عصاره روغنی دانه زیره به تنهایی بر فعالیت حرکتی نتایج نشان داد (شکل 2-B) که دوزهای متفاوت عصاره روغنی دانه زیره (۰/۱-۲٪) تغییری در فعالیت حرکتی حیوان نسبت به گروههای کنترلی ایجاد نمی کنند [F(6,41)=0.776, P=0.5930]. بررسی اثر تجویز عصاره روغنی دانه زیره به همراه ال-آرژنین بر اکتساب ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین: در این سری از این آزمایشات، آنالیز واریانس یکطرفه و متعاقب آن پس آزمون نیومن-کولز نشان داد که دوزهای بالای عصاره روغنی دانه زیره (۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪؛ شکل ۳) می تواند بصورت وابسته به دوز موجب کاهش اثر افزایشی ال-آرژنین بر ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین شود [F(7,45)=12.61, P<0.0001]. همانطور که در شکل مشخص است، مورفین در حیواناتی که عصاره روغنی دانه زیره با دوزهای ۰/۵٪ و ۱٪ را به همراه ال-آرژنین دریافت کرده اند قادر به ایجاد ترجیح مکان شرطی شد ولی این میزان نسبت به گروه ال-آرژنین (۲۰۰ mg/kg) به تنهایی کمتر بود. همچنین آزمون آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که عصاره روغنی دانه زیره با دوز ۲٪ قادر است اثر افزایش دهنده

پیش ساز NO تشدید شده است. در این راستا بنظر میرسد که عصاره روغنی دانه زیره احتمالا به عنوان مهارکننده NOS عمل می کند. همانطور که قبلا ذکر شد بعضی از ترکیبات دانه گیاه زیره نظیر linalool و β -d-glucopyranoside قادر به مهار NOS در تعداد زیادی از بافتها و ارگانها می باشند [۱۴، ۱۹]. با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر و همچنین نتایج مطالعات ذکر شده می توان نتیجه گیری کرد که β -d-glucopyranoside و لینولول مشتق شده از گیاه زیره و احتمالا سایر ترکیبات داخل دانه گیاه زیره منجر به تضعیف اثر افزایشی ال-آرژنین بر روی ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین با واسطه مکانیسم های مهاری بر روی NOS می شوند. با این وجود، عصاره روغنی دانه زیره نتوانست بطور کامل اثر افزایشی ال-آرژنین بر CPP القاء شده توسط مورفین را از بین ببرد. بنابراین محتمل است که عصاره روغنی دانه زیره توسط تغییر در مکانیسم های وابسته به دیگر میانجی ها و تعدیل کننده های عصبی، ترجیح مکان شرطی القاء شده توسط مورفین را تحت تاثیر قرار می دهد ولی جهت تکمیل این فرضیه تحقیقات آینده لازم می باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از اعتبارات مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (۸۹۲/ع/الف) به انجام رسید که بدینوسیله از حمایت های مادی و معنوی آن مرکز سپاسگزاری می شود.

References

- [1] Capone F, Adriani W, Shumilina M, Izykenova G, Granstrem O, Dambinova O, Laviola O, Autoantibodies against opioid or glutamate receptors are associated with changes in morphine reward and physical dependence in mice. *Psychopharmacol* (Berl) 97 (2008) 548-535.
- [2] Carr G, Fibiger H, Phillips A, Conditioned place preference as a measure of drug reward. *The neuropharmacological basis of reward* (1989) 264-319.
- [3] Garthwaite J, Southam E, Anderton M, A kainate receptor linked to nitric oxide synthesis from arginine. *J Neurochem* 53 (1989) 1952-1954.
- [4] Gholami A, Haeri-Rohani A, Sahraie H, Zarrindast M, Nitric oxide mediation of morphine-induced place preference in the nucleus accumbens of rat. *Eur J Pharmacol* 449 (2002) 269-277.
- [5] Gholami A, Zarrindast M, Sahraei H, Haeri-Rohani A, Nitric oxide within the ventral tegmental area is involved in mediating morphine reward. *Eur J Pharmacol* 458 (2003) 119-128.
- [6] Haghparast A, Shams J, Khatibi A, Alizadeh A, Kamalinejad M, Effects of the fruit essential oil of *Cuminum cyminum* Linn. (Apiaceae) on acquisition and expression of morphine tolerance and dependence in mice. *Neurosci Lett* 440 (2008) 134-139.

ترجیح مکان نمی باشند. از این رو بنظر می رسد که قابلیت آنها در تغییر القاء ترجیح مکان شرطی مرتبط با مکانیسم القاء ترجیح توسط مورفین باشد.

رفتارهای وابسته به فرایند پاداش بصورت مشخصی وابسته به سیستم های نوروترانسمیتری مغز می باشد. به بیان دیگر، تعداد زیادی از تحقیقات انجام شده نشان دهنده نقش تغییرات کوتاه مدت و بلند مدت در سیستم های نوروترانسمیتری برای ماهیت پاداش آفرین مواد اویپوئیدی نظیر مورفین می باشد. بنظر می رسد در میان میانجی ها و تعدیل کننده های عصبی، GABA، گلوتامات و NO از اصلی ترین آنها در فرایند پاداش القاء شده توسط مواد اویپوئیدی می باشند [۱، ۵، ۸]. در سالهای اخیر تلاشهای زیادی برای مشخص ساختن نقش NO در فرایند القاء CPP توسط مورفین انجام شده است [۲، ۴، ۹، ۱۲، ۲۱]. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که تجویز ال-آرژنین به عنوان پیش ساز NO به تنهایی قادر به ایجاد ترجیح مکان شرطی نمی باشد درحالیکه وقتی قبل از مورفین تجویز شود منجر به تشدید CPP القاء شده توسط مورفین می شود، یافته های فوق با نتایج تحقیقات پیشین [۴] همراستا است. به علاوه شواهد زیادی وجود دارد که نشان می دهد تجویز L-NAME به عنوان مهارکننده NOS منجر به کاهش اثرات پاداش آفرین مورفین می شود [۴، ۱۲]. نتایج این مطالعه آشکارا نشان می دهد که عصاره روغنی دانه زیره منجر به مهار تولید NO در اکتساب CPP القاء شده توسط مورفین در شرایطی می شود که این ترجیح توسط ال-آرژنین به عنوان

- [7] Haghparast A, Zarringhalam J, Khatibi A, Dianati E, Shams J, The Fruit Essential oil of *Cuminum cyminum* L. Reduced the Acquisition but not Expression of Ineffective dose of Morphine-Induced Conditioned Place Preference in Morphine- Sensitized Mice. *J Med Plants* 8 (2009) 70-82.
- [8] Heinmiller A, Ting-A-Kee A, Vargas-Perez H, Yeh A, vander D, Tegmental pedunculopontine glutamate and GABA-B synapses mediate morphine reward. *Behav neurosci* 123 (2009) 145.
- [9] Hong JT, Kim HC, Kim H.S, Lee YM, Oh KW, The role of nitric oxide on glutaminergic modulation of dopaminergic activation. *Pharmacol Res* 52 (2005) 298-301.
- [10] Jalali-Heravi M, Zekavat B, Sereshti H, Use of gas chromatography-mass spectrometry combined with resolution methods to characterize the essential oil components of Iranian cumin and caraway. *J Chromatogr A* 1143 (2007) 215-226.
- [11] Kiss J.P, Vizi E.S, Nitric oxide: a novel link between synaptic and nonsynaptic transmission. *Trends Neurosci* 24 (2001) 211-215.
- [12] Kivastik T, Rutkauskaitė J, Zharkovsky A, Nitric oxide synthesis inhibition attenuates morphine-induced place preference. *Pharmacol Biochem Behav* 53 (1996) 1013-1015.
- [13] Ohno M, Arai I, Watanabe S, N-methyl-D-aspartate stimulates dopamine release through nitric oxide formation in the nucleus accumbens of rats. *Brain Res* 699 (1995) 332-335.
- [14] Peana AT, Marzocco S, Popolo A, Pinto A, (-)-Linalool inhibits in vitro NO formation: Probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. *Life Sci* 78 (2006) 719-723.
- [15] Risinger F, Oakes R, Nicotine-induced conditioned place preference and conditioned place aversion in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 51 (1995) 457-461.
- [16] Rizos Z, Ovari J, Leri F, Reconditioning of heroin place preference requires the basolateral amygdala. *Pharmacol Biochem Behav* 82 (2005) 300-305.
- [17] Sahraei H, Zarei F, Eidi A, Oryan S, Shams J, Khoshbaten A, Zarrindast MR, The role of nitric oxide within the nucleus accumbens on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in morphine sensitized rats. *Eur J Pharmacol* 556 (2007) 99-106.
- [18] Shippenberg TS, Heidbreder C, Lefevour A, Sensitization to the conditioned rewarding effects of morphine: pharmacology and temporal characteristics. *Eur J Pharmacol* 299 (1996) 33-39.
- [19] Xu LL, Zou K, Wang JZ, Wu J, Zhou Y, Dan FJ, Yang J, New polyhydroxylated furostanol saponins with inhibitory action against NO production from *Tupistra chinensis* rhizomes. *Molecules* 12 (2007) 2029-2037.
- [20] Zargari A, Medical Plants. *Tehran University* 1(1994).
- [21] Zarrindast M, Karami M, Sepehri H, Sahraei H, Influence of nitric oxide on morphine-induced conditioned place preference in the rat central amygdala. *Eur J Pharmacol* 453 (2002) 81-89.