

Olanzapine antagonizes the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in male and female mice

**Parivash Hafez-Amini^{1,6}, Jamal Shams², Ali Shabahng-Saber-Tehrani², Ali Haeri-Rohani³,
Kazem Parivar¹, Vahab Babapour⁴ and Hedayat Sahraei⁵**

¹*Department of Animal Biology, Science and Research Campus, Islamic Azad University, Poonak, Tehran, IRAN.*

²*Neuroscience Research Center (NRC), Shaheed Beheshti University of Medical Sciences.*

³*Department of Biology, School of Science, Tehran University, Tehran, IRAN.*

⁴*Department of Physiology, School of Vetrinity, Tehran University, Tehran, IRAN.*

⁵*Department of Physiology and Biophysics, Behavioral Sciences Research Center (BSRC) and Military Health Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, IRAN*

⁶*Department of Vetrinity, School of Agriculture, Islamic Azad University, Rasht, IRAN*

Abstract

Introduction: Several investigations have indicated that dopamine D₂ receptors could influence morphine reward. The influence of olanzapine (a D₂ dopamine receptor antagonist) on the morphine-induced conditioned place preference (CPP) in male and female mice was investigated in the present study.

Methods: The effects of olanzapine on the acquisition and expression of morphine CPP in male and female N-MRI mice (W: 20-25 g) were investigated in the present study.

Resultd: Subcutaneous (s.c.) injection of morphine (1-10 mg/kg, three drug sessions) induced place preference both in male and female mice. Intraperitoneal (i.p.) administration of olanzapine (0.5-5 mg/kg) induced place aversion (CPA) in female mice but not in male mice. Administration of olanzapine (1, 2.5, 5 mg/kg, i.p.) reduced both the acquisition and expression of morphine-induced CPP in male and female mice. However, olanzapine (5 mg/kg, i.p.) caused more than 80% mortality in female but not male mice. The effects of olanzapine were reversed by L-arginine (20 mg/kg, i.p.) pre-administration.

Conlusion: We conclude that olanzapine reduced morphine effects via different mechanism/s.

Key words: Morphine; Olanzapine; Place preference; Nitric oxide; Mice.

* Corresponding Author Email: h.sahraei@bmsu.ac.ir

بررسی اثر اولانزاپین بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر و ماده

پریوش حافظ‌امینی^{۱*}، جمال شمس^۲، علی شباهنگ صابر تهرانی^۳، علی حائری روحانی^۴، کاظم پریور^۱، وهاب باباپور^۴، هدایت صحرائی^{۵*}
۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، پونک، تهران ۲- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب
۳- دانشگاه تهران، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی ۴- دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه فیزیولوژی
۵- دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم رفتاری و مرکز تحقیقات بهداشت نظامی
۶- دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی، رشت

دریافت: خرداد ۱۳۸۴ بازبینی: بهمن ۱۳۸۴ پذیرش: تیر ۱۳۸۵

چکیده

مقدمه: مطالعات متعدد نشان دهنده تاثیر گیرنده‌های دوپامینی بر خواص سرخوشی‌آور مورفین است. تاثیر اولانزاپین (یک آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی) بر ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر و ماده در مطالعه حاضر بررسی شد.
مواد و روش‌ها: در این تحقیق با استفاده از روش ترجیح مکان شرطی شده غیر-طرفدار، تاثیر اولانزاپین بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر و ماده نژاد N-MRI با میانگین وزنی ۲۵-۲۰ گرم مورد بررسی قرار گرفت.
یافته‌ها: تزریق زیرجلدی مورفین (۱-۱۰ mg/kg) ترجیح مکانی را در موش نر و ماده القا نمود. تجویز داخل‌صفاقی (i.p.) اولانزاپین (۱-۵ mg/kg) توانست تنفر مکانی را در موشهای ماده القا نماید. این اثر در موشهای نر دیده نشد. تجویز داخل‌صفاقی اولانزاپین (۵ و ۲/۵ و ۱ mg/kg) هم القا و هم بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را موشهای نر و ماده کاهش داد. تجویز اولانزاپین (۵ mg/kg i.p.) سبب مرگ بیش از ۰.۸٪ موش‌های ماده شد اما در موشهای نر این اثر دیده نشد. این پدیده با پیش‌تجویزی ال-آرژینین (پیشساز نیتریک اکساید) (۲۰ mg/kg i.p.) مهار شد.
نتیجه‌گیری: بنظر می‌رسد که اولانزاپین اثرات سرخوشی‌آور مورفین را در موشهای نر و ماده بخوبی مهار می‌کند اما در موشهای ماده اثرات جانبی آن شدیدتر است.

کلمات کلیدی: مورفین، اولانزاپین، ترجیح مکانی، نیتریک اکساید، موش کوچک آزمایشگاهی نر و ماده.

مقدمه

بزرگ آزمایشگاهی می‌شود [۳] که این افزایش در قسمت پوسته هسته آکومبانس بسیار چشمگیرتر است [۳].
از سوی دیگر، آزمایش‌های مربوط به نقش گیرنده‌های دوپامینی در عملکرد مورفین نتایجی را بدست داده‌اند که با نتایج فوق همخوانی دارند. اطلاعات مختلف نشان می‌دهد که زیرخانواده‌های گیرنده D_1 و D_2 دوپامین نقش مهمی را در پاداش مورفین دارند. در همین راستا، نشان داده شده است که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های D_1/D_2 دوپامین ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را در موشهای آزمایشگاهی بزرگ [۴] و موش‌های آزمایشگاهی کوچک [۵] کاهش می‌دهند. علاوه بر آن، مهار گیرنده‌های D_1 و D_2 دوپامینی در هسته آکومبانس توسط سولپیراید، خودتجویزی مورفین را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی [۶]

سوءاستفاده از اویپوئیدها در سطح وسیعی از دنیا شیوع دارد. مطالعات متعددی نشان داده است که اویپوئیدها بدلیل خواص سرخوشی‌آور آنها مورد سوء استفاده قرار می‌گیرند. نقل و انتقال عصبی دوپامین در سیستم مزولیمبیک که شامل هسته آکومبانس (Nac) و ناحیه تگم‌توم شکمی (VTA) است، ممکن است عامل اصلی در پاداش اویپوئیدی باشد [۱ و ۲]. در این ارتباط، شواهد قطعی وجود دارد که تجویز سیستمیک مورفین باعث افزایش رها شدن دوپامین در هسته آکومبانس در موشهای

پست الکترونیک نویسنده:

h.sahraei@bmsu.ac.ir

دارای خراشیدگیهای بود که آن را از طرف مقابل متمایز می کرد (جهت خراشیدگیها در یک طرف عمود بر دریچه مرکزی و در طرف دیگر موازی با دریچه مرکزی بود). دوره آزمایش ترجیح مکان شرطی شده پنج روز و شامل مراحل زیر بود:

الف) مرحله پیش شرطی سازی

در اولین روز هر دوره (روز آشنائی)، پس از برداشتن دریچه گیوتینی، هر حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه قرار گرفته تا آزادانه در دستگاه گردش کرده و با محیط آن آشنا شود. زمان سپری شده در هر قسمت دستگاه در این روز ثبت می شد. نتایج نشان داد که در این دستگاه حیوانات تمایل ذاتی به هیچکدام از دو قسمت نشان نمی دهند و بنابراین از روش غیر طرفدار (Un-Biased) برای ادامه کار استفاده شد. در این روش نیمی از حیوانات در هر سری در یک قسمت شرطی شده و نیم دیگر در طرف مقابل (به این ترتیب طراحی بصورت متعادل (Cuonterbalance) بود).

ب) مرحله شرطی سازی

برای اینکه حیوان به مکان معینی شرطی شود، طی مدت سه روز بطور متناوب به آنها دارو تزریق می کردیم. به این ترتیب که در ساعت ۹ صبح روز دوم، پس از توزین حیوانات، مورفین (یا اولانزاپین) را بصورت زیر جلدی (یا داخل صفاقی) -به ترتیب) به هر حیوان تزریق و پس از بستن دریچه گیوتینی آنها را به مدت ۳۰ دقیقه در یکی از دو قسمت دستگاه قرار می دادیم. شش ساعت بعد (ساعت ۱۵ عصر)، پس از توزین مجدد به حیوانات سالیین تزریق می کردیم و آنها را به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت مخالف قرار می دادیم. در روز سوم زمان تزریق مورفین و سالیین بر عکس می شد (صبح سالیین و عصر مورفین). در روز چهارم زمان تزریقات مانند روز دوم بود.

ج) مرحله پس از شرطی سازی

در روز پنجم آزمایشات (آخرین روز هر دوره آزمایش)، ابتدا دریچه گیوتینی برداشته می شد و سپس هر حیوان در داخل دستگاه قرار می گرفت و برای مدت ۱۰ دقیقه اجازه حرکت آزادانه در هر دو قسمت دستگاه را داشت. مدت زمان توقف هر حیوان در هر قسمت دستگاه ثبت شده و زمان توقف در قسمت دریافت دارو (Drug-Paired) از زمان توقف حیوان در قسمت دریافت سالیین (Saline-Paired) کم شده و به عنوان نمره شرطی شدن (Conditioning Score) به عنوان نمادی از اثر دارو در القاء شرطی شدن در نظر گرفته می شد.

داروها

در این تحقیق، مورفین سولفات (تماد- ایران)، اولانزاپین (نوارتیس)، بازل، سوئیس) و ال-آرژینین (سیگما-آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت. مورفین در سالیین حل شده و با حجم ۱۰ ml/kg بصورت داخل زیر جلدی مورد استفاده قرار گرفت. اولانزاپین در یک قطره کوچک اسید کلریدریک حل شده و پس از رساندن pH به حد ۷/۰ (با استفاده از محلول

کاهش می دهد. همچنین، آنتاگونیستهای گیرندههای D_4/D_5 دوپامین فعالیت حرکتی ناشی از مورفین را در موشهای کوچک آزمایشگاهی مهار می کنند [۷ و ۸].

در سالهای اخیر از داروی اولانزاپین بعنوان یک داروی نورولپتیک آتیپیکال در درمان جنون استفاده می شود. این دارو بعنوان یک آنتاگونیست گیرنده D_4 دوپامینی شناخته شده است [۹]. همچنین از این دارو اثرات آنتی کولینرژیک و آنتی سروتونینرژیک نیز گزارش شده است [۱۰]. به عنوان مثال در مطالعات رادیولیگاند مشخص شده است که این دارو تمایل بسیار زیادی برای اتصال به گیرندههای سروتونینی نوع $5-HT_{2A/2C}$ دارد [۹]. همچنین، این دارو با تمایل زیادی به گیرندههای موسکارینی، هیستامینی نوع H_1 و دوپامینی نوع D_1 نیز متصل می شود [۱۰]. از نظر رفتاری نیز این دارو اثرات متعددی همانند کاهش فعالیت حرکتی، افزایش رفتارهای پر خاشگرانه و کاهش در تعرض [۱۱] را نشان می دهد که مربوط به توانایی آنتاگونیستی گیرنده D_4 دوپامینی آن است [۱۱].

اخیرا از این دارو در کاهش عوارض وابستگی به کوکائین [۱۲]، الکل [۱۳] و تباکو [۱۴] استفاده شده است. اما اثربخشی این دارو در عملکرد اوپوئیدها بخوبی مشخص نیست.

هدف اصلی از این مطالعه بررسی بیشتر نقش اولانزاپین در ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش کوچک آزمایشگاهی نر و ماده است. به این منظور، ما از روش ترجیح مکان شرطی شده غیر طرفدار بعنوان مدلی برای بررسی خواص پاداشی مورفین و ارزیابی اثرات اولانزاپین استفاده کردیم.

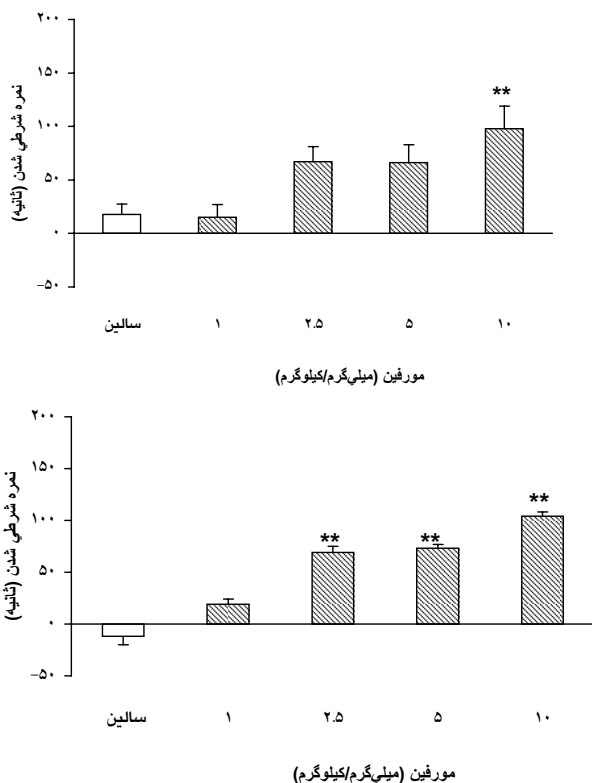
مواد و روشها

حیوانات

در این تحقیق از موشهای کوچک آزمایشگاهی نر و ماده از نژاد N-MRI تهیه شده از انستیتو پاستور ایران با میانگین وزنی ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفسهای ۱۰ تایی با دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای 24°C - 22°C با آب و غذای کافی نگهداری می شدند. حیوانات ماده جدا از حیوانات نر نگهداری می شدند و دستگاه مورد استفاده نیز برای هر جنس اختصاصی بود. در هر سری آزمایش ۷-۸ سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

روش القاء ترجیح مکان شرطی شده

برای انجام آزمایش ترجیح مکان شرطی شده از دستگاه چوبی مخصوصی استفاده شد که از دو قسمت مجزا تشکیل شده است [۱۵]. این دو قسمت دارای ابعاد مساوی $15 \times 15 \times 15$ سانتی متر (طول و عرض و ارتفاع) بوده و توسط یک دریچه گیوتینی مرکزی ارتباط آنها برقرار می شد. رنگ دیوارههای هر دو طرف سفید اما دیوارههای هر قسمت دارای تزئینات متمایز از طرف دیگر بود. کف هر قسمت نیز



شکل ۱- القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر (A) و ماده (B). $P < 0.05$, $P < 0.01$ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

۱۰ mg/kg مورفین بهترین جواب را القاء کرد، در قسمتهای بعدی آزمایش از این دوز استفاده گردید.

در مورد موشهای ماده نیز به همین ترتیب عمل شد و دوزهای مختلف مورفین (۱ و ۲/۵ و ۵ و ۱۰ mg/kg) به موشها تزریق شد و به دنبال آن تست ترجیح مکان شرطی شده انجام گردید. گروه کنترل در این قسمت آزمایش نیز سالین دریافت کردند. آزمایشها نشان دادند که تجویز مورفین در موشهای ماده نیز ترجیح مکان شرطی شده معنی‌داری را در دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم دارو القاء می‌کند. $[F(4, 33) = 6.81, P < 0.0001]$ ، شکل ۱B. در این آزمایش نیز دوز ۱۰ mg/kg مورفین بهترین پاسخ را القاء کرد.

القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط اولانزاپین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر و ماده

در دور دوم آزمایشها اثر اولانزاپین در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موشهای نر و ماده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که تجویز دوزهای مختلف اولانزاپین (۱ و ۲/۵ و ۵ و ۱۰ mg/kg) به همان روشی که برای مورفین ذکر شد، اثری بر زمان سپری شده در قسمت دریافت دارو در هر دو جنس نر و ماده ندارد $[F(3, 28) = 0.96, P > 0.05]$ (شکل ۲A برای موشهای نر) و $[F(3, 26) = 0.171, P > 0.05]$ (شکل ۲B برای موشهای ماده).

هیدروکسید سدیم (۰/۱ نرمال)، با سالین به حجم ۱۰ ml می‌رسید. این دارو بصورت داخل صفاقی مورد استفاده قرار می‌گرفت. گروههای کنترل در هر قسمت سالین (و یا سالین + اسیدکلریدریک خنثی شده) را بصورت زیر جلدی یا داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه بندی آزمایشی

در ابتدا به منظور تعیین دوز موثر مورفین در القاء ترجیح مکان شرطی شده، متحنی دوز- پاسخ مورفین بدست آمد. همین کار برای اولانزاپین هم انجام و در نتیجه دوزهای موثر هر دو دارو شناخته شدند.

بررسی اثر اولانزاپین بر کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین

در این مرحله دوزهای مختلف اولانزاپین (۱ و ۲/۵ و ۵ و ۱۰ mg/kg) به حیوانات تزریق شد. در روز تست حیوانات بدون هیچگونه تزریقی مورد آزمایش قرار گرفتند.

بررسی اثر اولانزاپین بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین

در ادامه مطالعه در چهار گروه از حیوانات در روزهای القاء شرطی شدن مورفین (۱۰ mg/kg) تزریق شد. در روز تست ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش به سه گروه از حیوانات اولانزاپین (۱ و ۲/۵ و ۵ و ۱۰ mg/kg) تزریق و حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه تست شدند.

تجزیه و تحلیل داده ها

اطلاعات بدست آمده بصورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد (SEM \pm Mean) نمره شرطی شدن بیان شدند. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات در قسمت دوز- پاسخ مورفین و اولانزاپین از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و در قسمت تداخل مورفین و اولانزاپین از آزمون آنالیز- واریانس دوطرفه و در قسمت مربوط به اثر ال-آرژینین از آنالیز- واریانس سه طرفه به همراه تست توکی استفاده شد. $P < 0.05$ مرز معنی دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

نتایج

القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر و ماده

در این آزمایش، موشهای نر به پنج گروه تقسیم شدند. یک گروه سالین (به روش ذکر شده در قسمت روشها) دریافت کرد و چهار گروه دیگر دوزهای مختلف مورفین (۱ و ۲/۵ و ۵ و ۱۰ mg/kg) را به منظور القاء ترجیح مکان شرطی شده دریافت کردند. تجویز مورفین سبب افزایش زمان سپری شده در قسمت دریافت مورفین نسبت به زمان سپری شده در قسمت دریافت سالین گردید (ترجیح مکان شرطی شده) $[F(4, 31) = 5.02, P < 0.01]$ (شکل ۱A). چون دوز

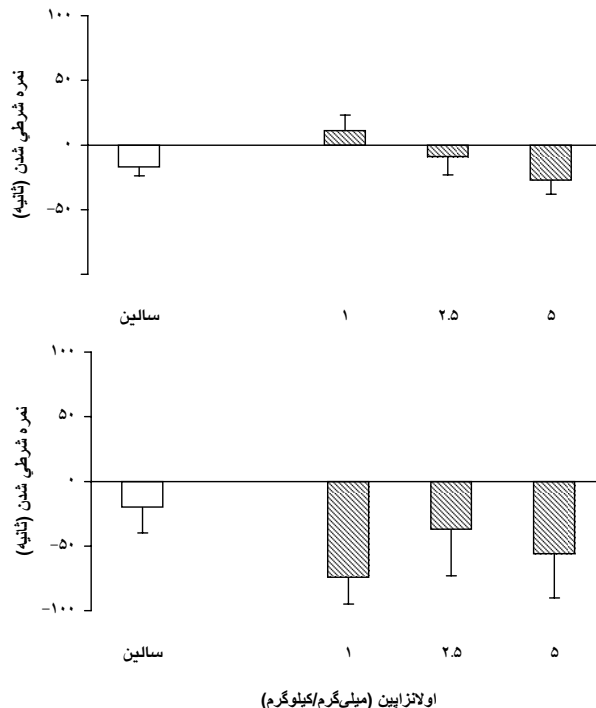
بررسی اثر اولانزاپین بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای آزمایشگاهی نر

در این سری از آزمایش‌ها نیز از چهار گروه حیوان استفاده شد. سه گروه از حیوانات در روزهای آموزش قبل از تجویز مورفین (10 mg/kg) یکی از سه دوز اولانزاپین (5 mg/kg و 2/5 و 1) را دریافت کردند. گروه چهارم سالیन دریافت کردند. نتایج نشان دادند که تجویز اولانزاپین اثر مورفین را در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد، آنالیز-واریانس دوطرفه حاکی از اثرات معنی‌دار اولانزاپین: $[F(3,26)=20.45, P<0.001]$ ، اثرات معنی‌دار مورفین: $[F(1,26)=8.829, P<0.004]$ ، و تعامل معنی‌دار بین اثرات مورفین و اولانزاپین: $[F(3,26)=14.7, P<0.0001]$ است. آنالیز بعدی با تست توکی حاکی از اثربخشی هر سه دوز اولانزاپین در مهار کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین است (شکل A 3).

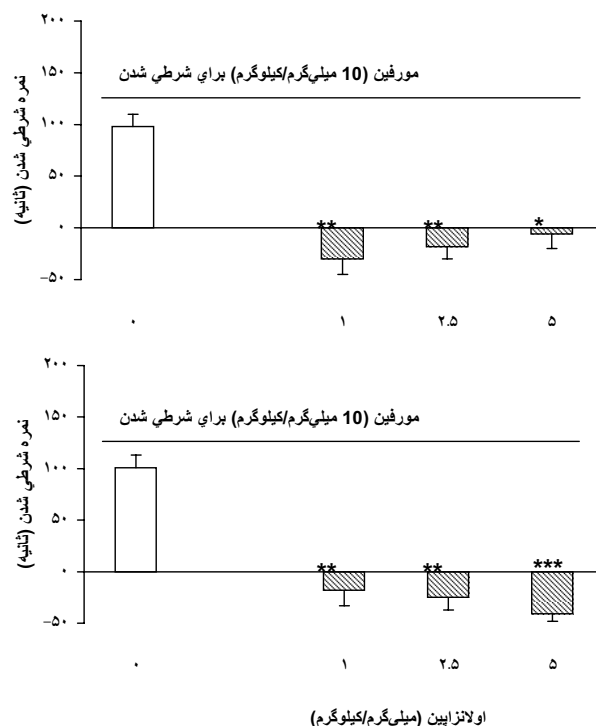
در قسمت بیان، ابتدا چهار گروه حیوان انتخاب شدند. همه گروهها در روزهای آموزش به روشی که در قسمت قبل ذکر شد مورفین (10 mg/kg) دریافت کردند. در روز تست، 30 دقیقه قبل از شروع آزمایش به سه گروه از حیوانات سه دوز اولانزاپین (5 mg/kg و 2/5 و 1) تزریق شد. گروه چهارم سالین دریافت کردند. آزمایش‌ها نشان دادند که تجویز اولانزاپین به این حیوانات بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را کاهش می‌دهد. آنالیز-واریانس دوطرفه حاکی از اثرات معنی‌دار اولانزاپین: $[F(3,27)=17.4, P<0.001]$ ، اثرات معنی‌دار مورفین: $[F(1,27)=4.33, P<0.01]$ ، و تعامل معنی‌دار بین مورفین و اولانزاپین $[F(3,27)=14.7, P<0.0001]$ است. آنالیز بعدی با تست توکی حاکی از اثربخشی هر سه دوز اولانزاپین در مهار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین است (شکل B 3).

بررسی اثر اولانزاپین بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای آزمایشگاهی ماده

در این سری از آزمایش‌ها نیز از چهار گروه حیوان استفاده شد. سه گروه از حیوانات در روزهای آموزش قبل از تجویز مورفین (10 mg/kg) یکی از سه دوز اولانزاپین (5 mg/kg و 2/5 و 1) را دریافت کردند. گروه چهارم سالین دریافت کردند. نتایج نشان دادند که تجویز اولانزاپین اثر مورفین را در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد آنالیز-واریانس دوطرفه حاکی از اثرات معنی‌دار اولانزاپین: $[F(2,21)=12.04, P<0.001]$ ، اثرات معنی‌دار مورفین: $[F(1,21)=3.43, P<0.01]$ ، و تعامل معنی‌دار بین اثرات مورفین و اولانزاپین $[F(2,21)=8.75, P<0.0001]$ است. آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد که اولانزاپین در دوزهای 1 و 2/5 میلی‌گرم/کیلوگرم توانست کسب ترجیح مکان شرطی شده را در موشهای ماده مهار کند (شکل A 4). در این دوره از آزمایشها در گروه دریافت



شکل ۲- تاثیر تجویز اولانزاپین در روزهای شرطی شدن در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر (A) و ماده (B). $P<0.05$ * نسبت به گروه کنترل می‌باشد. $P<0.01$ **



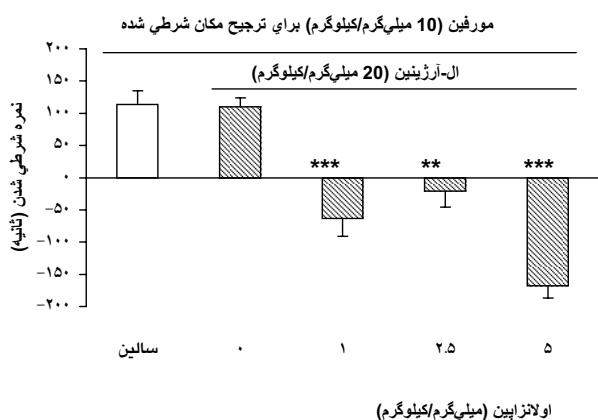
شکل ۳- تاثیر اولانزاپین بر کسب (A) و بیان (B) ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای آزمایشگاهی کوچک نر. در قسمت کسب، حیوانات در روزهای شرطی‌سازی 20 دقیقه قبل از دریافت مورفین، دوزهای مختلف اولانزاپین را دریافت کردند و در روز تست، بدون دریافت داروی تست شدند. در قسمت بیان، حیوانات در روزهای شرطی‌سازی تنها دوز مؤثر مورفین را دریافت کردند. در روز تست، 20 دقیقه قبل از شروع آزمایش‌ها، حیوانات دوزهای مختلف اولانزاپین را دریافت کردند. $P<0.05$ * نسبت به گروه کنترل می‌باشد. $P<0.01$ **

بررسی اثر ال-آرژینین بر مهار ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین توسط اولانزاپین در موشهای آزمایشگاهی ماده

چون حیوانات ماده حساسیت زیادی را به دوز بالای اولانزاپین در حضور مورفین نشان دادند، در این قسمت از تحقیق، اثر پیش‌درمانی حیوانات با ال-آرژینین (پیش‌ساز نیتریک اکساید) بر میزان مرگ‌ومیر و نیز ترجیح مکان شرطی شده بررسی شد. آزمایش نشان داد که هیچیک از حیوانات در این آزمایش از بین نرفتند. از سوی دیگر، ال-آرژینین اثری بر ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین و یا کاهش اثر مورفین در حضور دوزهای مختلف اولانزاپین ندارد آنالیز-واریانس سه طرفه حاکی از اثر معنی‌دار اولانزاپین: $[F(3, 28) = 11.21, P < 0.001]$ ، اثر معنی‌دار مورفین $[F(1, 34) = 4.52, P < 0.01]$ ، بی‌اثری ال-آرژینین $[F(1, 34) = 0.875, P > 0.05]$ و تداخل اثر مورفین، اولانزاپین و ال-آرژینین $[F(4, 41) = 0.745, P > 0.05]$ است (شکل ۵).

بحث

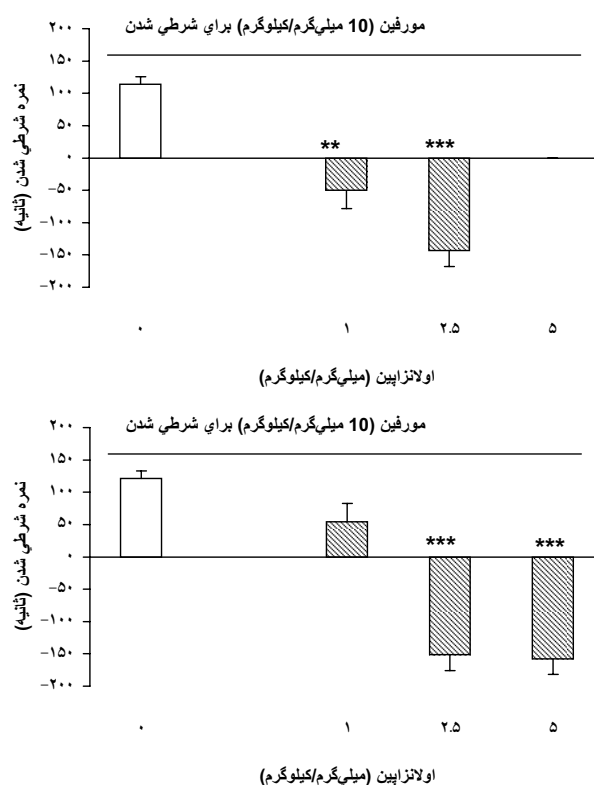
نتایج مطالعات اخیر یافته‌های گذشته در مورد ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر [۵] و ماده [۱۵] را تأیید می‌کند. اطلاعات ما نشان داد که اولانزاپین به تنهایی سبب تنفر مکانی شده و همچنین اثرات تحریکی مورفین در کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده مهار می‌کند. از سوی دیگر، تجویز اولانزاپین به همراه مورفین اثر کشنده‌ای را در موشهای ماده داشت به نحوی که بیش از ۸۰ درصد حیوانات در روز دوم تزریق مورفین و اولانزاپین از بین رفتند. پیش‌درمانی این حیوانات با ال-آرژینین که به عنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید شناخته شده است [۱۶]، باعث کاهش مرگ و میر در آنها شد. این پیش‌درمانی تأثیری بر اثربخشی اولانزاپین در مهار کسب ترجیح مکان



شکل ۵- تأثیر پیش‌درمانی حیوانات با ال-آرژینین بر عملکرد اولانزاپین در مهار کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی ماده. حیوانات در روزهای شرطی‌سازی ۲۰ دقیقه قبل از دریافت اولانزاپین، ال-آرژینین با دوز ۲۰ mg/kg را دریافت کردند. سپس دوزهای مختلف اولانزاپین به آنها تجویز شد. در نهایت ۲۰ دقیقه پس از تجویز اولانزاپین، این حیوانات مورفین دریافت کردند. در این دسته، هیچیک از حیوانات از بین نرفت. $P < 0.05$ * نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

کننده دوز ۵ mg/kg اولانزاپین، ۷ سر از ۸ سر موش در پایان روز دوم شرطی‌سازی مردند و به همین دلیل در این گروه دوز ۵ mg/kg در شکل دیده نمی‌شود.

در قسمت بیان نیز چهار گروه حیوان انتخاب شدند. همه گروهها در روزهای آموزش به روشی که در قسمت قبل ذکر شد مورفین (۱۰ mg/kg) دریافت کردند. در روز تست، ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش به سه گروه از حیوانات سه دوز اولانزاپین (۵ mg/kg و ۲/۵ و ۱) تزریق شد. گروه چهارم سالین دریافت کردند. آزمایش‌ها نشان دادند که تجویز اولانزاپین به حیوانات ماده نیز بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را کاهش می‌دهد آنالیز-واریانس دوطرفه حاکی از اثرات معنی‌دار اولانزاپین: $[F(3, 28) = 17.52, P < 0.001]$ ، اثرات معنی‌دار مورفین: $[F(1, 28) = 6.25, P < 0.01]$ و تعامل معنی‌دار مورفین و اولانزاپین $[F(3, 28) = 11.34, P < 0.001]$ است. آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد که اولانزاپین در هر سه دوز مورد استفاده توانسته است که بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را در موشهای ماده مهار کند (شکل B ۴).



شکل ۴- تأثیر اولانزاپین بر کسب (A) و بیان (B) ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای آزمایشگاهی کوچک ماده. در قسمت کسب، حیوانات در روزهای شرطی‌سازی ۲۰ دقیقه قبل از دریافت مورفین، دوزهای مختلف اولانزاپین را دریافت کردند و در روز تست، بدون دریافت داروی تست شدند. چون گروه دریافت‌کننده دوز ۵ mg/kg اولانزاپین در دومین روز شرطی‌سازی همگی مردند، این منحنی فاقد دوز فوق می‌باشد. در قسمت بیان، حیوانات در روزهای شرطی‌سازی تنها دوز مؤثر مورفین را دریافت کردند. در روز تست، ۲۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش‌ها، حیوانات دوزهای مختلف اولانزاپین را دریافت کردند. $P < 0.05$ * نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

شرطی شده ناشی از مورفین نداشت.

مطالعات گذشته نشان داده است که مورفین می‌تواند آزداسازی دوپامین در سیستم دوپامینی مزوآکومبانس - که مسئول اثر تقویتی مثبت این دارو می‌باشد - را القا کند [۳]. علاوه بر آن، اطلاعات نشان می‌دهند که سیستم های نوروترانسمیتری دیگری از قبیل گلوتامات [۷۱]، نیتریک اکساید [۱۸]، سروتونین [۱۹ و ۲۰] و آلفا-آدرنژیک [۱۵] نیز نقش بسزایی در القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین دارند. همچنین، تحقیقات نشان داده‌اند که جنسیت [۲۱] نیز در پاسخ به مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی اهمیت دارد. اما در تحقیق حاضر این موضوع مشاهده نشد.

در بخش دیگری از این تحقیق، تجویز اولانزاپین زمان سپری شده در بخش دریافت دارو را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی کاهش داد اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود. اطلاعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد مهار گیرنده‌های دوپامینی ممکن است تفر مکانی را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی [۵] و یا در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی [۲۲ و ۲۳] القاء نماید. نتایج ما با این اطلاعات مطابقت کامل ندارد بنابراین، اولانزاپین که اخیراً بعنوان آنتاگونیست گیرنده D_2 دوپامینی در نظر گرفته شده نیز مانند سایر آنتاگونیستهای این گیرنده‌ها، تفر مکانی را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر و ماده القاء نمی‌نماید. به هر حال اولانزاپین اثرات آنتاگونیستی بر گیرنده‌های D_1 دوپامینی، موسکارینی استیل کولین و گیرنده‌های سروتونینژیک [۱۰] نیز دارد که ممکن است در اثرات اولانزاپین در مطالعه حاضر دخیل باشند.

در قسمت بعدی این آزمایش‌ها مشخص شد که تجویز اولانزاپین قبل از تجویز مورفین در روزهای آموزش، کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر و ماده کاهش می‌دهد. در توجیه این نتایج باید گفت که چندین آزمایش نشان داده‌اند که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های D_2 دوپامین می‌توانند کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را در موش‌های کوچک [۵] و بزرگ [۴] آزمایشگاهی مهار کند. این تحقیقات با داروهائی انجام شده‌اند که بر هر دو زیرخانواده گیرنده‌های دوپامینی D_1 و D_2 اثر داشته‌اند و اطلاعات دیگر نشان داده‌اند که احتمالاً گیرنده‌های D_1 در این زمینه مهمتر هستند. از سوی دیگر، تحقیقاتی که با استفاده از داروی کلوزاپین انجام گرفته، نشان می‌دهد که این دارو نیز توانائی مهار اثرات مورفین را دارد [۵]. نویسندگان مقاله از این دارو به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های D_2 دوپامینی نام برده‌اند. بنابراین، ممکن است که اولانزاپین با مهار گیرنده‌های D_2 دوپامینی باعث مهار کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین شده باشد. هرچند در تحقیقات قبلی نشان داده شده است که سولپیراید به عنوان یک آنتاگونیست گیرنده‌های D_2/D_1 دوپامینی قادر به مهار خود-تجویزی مورفین به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی و نیز هسته آکومبانس می‌باشد، این مسئله در مورد روش ترجیح مکان شرطی شده با تریدهای زیادی روبرو است. یکی از مهمترین دلایل در این زمینه، تفاوت ماهوی روش‌های خود-تجویزی که یک روش شرطی‌سازی فعال و ترجیح مکان شرطی شده که یک روش شرطی‌سازی پاولوفی است و

مکانیسم‌های دیگری که در این دو روش درگیر هستند می‌باشد. به هر حال، مکانیسم‌های سروتونینژیک و کولینرژیک برای اولانزاپین [۱۰] و مورفین [۱۹] در پاسخ‌های مشاهده شده در مطالعه حاضر نیز ممکن است دخیل باشند. همچنین، چنانکه گفته شد، یک مکانیسم وابسته به نیتریک اکساید نیز در این پدیده ممکن است دخالت داشته باشد. لازم به توضیح است که آزمایش‌های قبلی نشان داده‌اند که مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از کسب ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی جلوگیری می‌کند [۱۸]. بنابراین، تمام این مکانیسم‌ها در مهار اثرات مورفین توسط اولانزاپین ممکن است نقش داشته باشند.

داروی اولانزاپین دارای اثر آنتاگونیستی بر گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک [۱۰] و همچنین گیرنده‌های H_1 هیستامینی نیز می‌باشد [۱۰]. از سوی دیگر، نقش گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک [۱۵] و هیستامینی [۲۸] در مهار کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی و نیز موش‌های بزرگ آزمایشگاهی مشخص شده است. بنابراین، یک احتمال دیگر آن است که اولانزاپین با مهار این گیرنده‌ها باعث مهار کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در این آزمایش شده باشد.

از سوی دیگر، یکی از نتایج مهم این آزمایش‌ها، وجود تفاوت‌های جنسی در عملکرد اولانزاپین بود. این نتایج نشان داد که موش‌های کوچک آزمایشگاهی ماده نسبت به اولانزاپین از موش‌های نر حساس‌تر می‌باشند. این حساسیت بیشتر در موارد انسانی نیز گزارش شده است. بعنوان مثال، دیده شده است که مصرف اولانزاپین باعث بروز نوتروپنیا بدون کاهش میزان کلی گویچه‌های سفید در خانمها می‌شود [۲۴] که می‌تواند به آگرانولوسیتوز کشنده منجر شود. این مسئله شاید در تحقیق حاضر نیز مؤثر بوده و از بین رفتن موش‌های ماده به همین دلیل بوده است. البته در تحقیق حاضر میزان گویچه‌های سفید خون موش‌های ماده اندازه‌گیری نشده است، اما این احتمال به هر حال وجود دارد. نتایج بدست آمده در قسمت دیگر تحقیق نیز این فرضیه را بیشتر تقویت می‌کند. پیش‌درمانی حیوانات با ال-آرژینین که بعنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید مطرح است، باعث بهبود وضعیت موش‌ها گردید و از مرگ و میر آنها جلوگیری کرد. با توجه به اثر نیتریک اکساید در سیستم ایمنی [۲۵] و نقش مورفین در تضعیف این سیستم و با توجه به آنچه که در مورد اولانزاپین گفته شد، به نظر می‌رسد که یک مکانیسم وابسته به نیتریک اکساید در عملکرد اولانزاپین نقش دارد که بایستی به دقت بررسی شود و چون این دارو در حال حاضر در درمان برخی بیماری‌های عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۶]، بهتر است که در هنگام استفاده از این دارو، مورد فوق مد نظر باشد. لازم به توضیح است که تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که داروی کلوزاپین که از لحاظ ساختمانی شباهت زیادی به اولانزاپین دارد، توانائی مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز را دارد [۲۷]. بنابراین، مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز توسط اولانزاپین، احتمالاً یکی از عوارض این دارو می‌تواند محسوب شود که در جنس ماده بیشتر از جنس نر خود را نشان می‌دهد. بایستی در نظر داشت که مورفین نیز در جنس ماده بهتر از جنس نر اثر

منابع

- [1] Robinson TE, Berridge C, Addiction. *Annu Rev Psychol* 54 (2003) 25-53.
- [2] De Vries TJ, Shippenberg TS, Neural systems underlying opiate addiction. *J Neurosci* 22 (2002) 3321-25.
- [3] Pontieri FE, Tanda G, Di Chiara G, Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the shell as compared with the core of the rat nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci USA* 92 (1995) 12304-08.
- [4] Laviolette SR, Nader K, van der Kooy D, Motivational state determines the functional role of the mesolimbic dopamine system in the mediation of opiate reward processes. *Behav Brain Res* 129 (2002) 17-29.
- [5] Manzanedo C, Aguilar MA, Rodriguez-Arias M, Minarro J, Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behavioral Brain Research* 121 (2001) 189-197.
- [6] David V, Durkin TP, Cazala P, Differential effects of the dopamine D2/D3 receptor antagonist sulpiride on self-administration of morphine into the ventral tegmental area or the nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 160 (2002) 307-317.
- [7] Serrano A, Aguilar MA, Manzanedo C, Rodriguez-Arias M, Minarro J, Effects of DA D1 and D2 antagonists on the sensitization to the motor effects of morphine in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 26 (2002) 1263-1271.
- [8] Cook CD, Beardsley PM, The modulatory actions of dopamine D2/3 agonists and antagonists on the locomotor-activating effects of morphine and caffeine in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 75 (2003) 363-371.
- [9] Bymaster FP, Calligaro DO, Falcone JF, Marsh RD, Moore NA, Tye NC, Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. *Neuropsychopharmacology* 14 (1996) 87-96.
- [10] Bymaster FP, Nelson DL, DeLapp NW, Falcone JF,

می‌کند که برخی از محققین این امر را به توانائی هورمون تستوسترون در تحریک متابولیسم مورفین در جنس نر نسبت می‌دهند [۲۱]. به این ترتیب، به نظر می‌رسد که نوعی تجمع عوارض داروهای اولانزاپین و مورفین در ایجاد تلفات زیاد در موشهای ماده‌ای که بطور همزمان اولانزاپین و مورفین را دریافت کرده بودند، بوجود آمده است. این عوارض احتمالاً از طریق مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز بوده است.

تجویز اولانزاپین در روز تست و قبل از شروع آزمون توانست از بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر و ماده جلوگیری کند. قبل از هر چیز بایستی یادآوری کرد که اولانزاپین فعالیت حرکتی حیوانات را در آزمایشهای قبلی بطور معنی داری کاهش داده است (حفاظت‌آمینی و همکاران، مجله پزشکی کوثر: زیر چاپ). ممکن است که در آزمایش حاضر نیز همین مسئله وجود داشته باشد. نتایج بدست آمده در این تحقیق کاملاً غیر وابسته به دوز بود. بنابراین، ممکن است که اثر اولانزاپین نه بر خواص پاداشی القاء شده توسط مورفین بلکه بر مکانیسمهایی است که فعالیت حرکتی حیوان را تحت کنترل دارند. در این زمینه، استفاده از دوزهایی از اولانزاپین که اثر خاصی بر فعالیت حرکتی نداشته باشند، می‌تواند مفید باشد. تاکنون در مطالعات مختلف، اثر داروهای آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی بر بیان ترجیح مکان شرطی شده انجام نگرفته است و تنها چند مطالعه محدود در کشور در این زمینه به انجام رسیده است. نتیجه این مطالعات حاکی است که داروی هالوپریدول که به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های D_2 دوپامینی مطرح است، قادر به کاهش بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی نر می‌باشد [۲۹]. این تحقیق همچنین نشان می‌دهد که این دارو حداقل قسمتی از اثر خود را از طریق نیتریک اکساید انجام می‌دهد [۲۹]. که ممکن است در مورد اولانزاپین هم صادق باشد. هرچند که تحقیقات بیشتری در این زمینه لازم است. در یک نتیجه‌گیری کلی، می‌توان چنین بیان کرد که اولانزاپین از اثر مورفین در کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده در موشهای کوچک آزمایشگاهی جلوگیری کرد و این اثر ممکن است با مهار مسیره‌های مختلف نوروترانسمیتری انجام شده باشد. به همین دلیل، استفاده از این دارو در کنترل وابستگی به مورفین (در یک نگاه کلی، اویپوئیدها) به دلیل تنوع مکانهای اثر، مفید، و به همین دلیل، ارزش شناسائی مکانیسم یا مکانیسمهای درگیر را دارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله قسمتی از نتایج حاصل از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و مرکز تحقیقات علوم رفتاری، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) است. بدینوسیله از زحمات بی‌شائبه این عزیزان قدردانی می‌شود. محققان بر خود لازم می‌دانند تا از زحمات جناب آقای غفاری مسئول محترم حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی کمال تشکر را داشته باشند.

- rewarding properties of d-amphetamine, morphine and diazepam revealed by conditioned place preference in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 30 (1988) 853-858.
- [20] Carboni E, Acquas E, Di Chiara G, 5HT₃ receptor antagonists block morphine- and nicotine- but not amphetamine-induced reward. *Psychopharmacology* 97 (1989) 175-178.
- [21] Cicero TJ, Ennis T, Ogden J, Meyer ER, Gender differences in the reinforcing properties of morphine. *Pharmacol Biochem Behav* 65 (2000) 91-96.
- [22] Mackey WB, van der Kooy D, Neuroleptics block the positive reinforcing effects of amphetamine but not morphine as measured by place conditioning. *Pharmacol Biochem Behav* 22 (1985) 101-105.
- [23] Shippenberg TS, Hertz A, Motivational effects of opioids: influence of D-1 versus D-2 receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 151 (1988) 233-242.
- [24] Duggal HS, Gates C, Pathak PC, Olanzapine-induced neutropenia: mechanism and treatment. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 24 (2004) 234-235.
- [25] Stefano GB, Fricchione GL, Goumon Y, Esch T, Pain, immunity, opiate and opioid compounds and health. *Med Sci Monit* 11 (2005) MS47-MS53.
- [26] Volvka J, Czobor P, Nolan K, Sheitman B, Lindenmayer J, Citrome L, McEvoy JP, Cooper TB, Lieberman JA, Overt aggression and psychotic symptoms in patients with schizophrenia treated with clozapine, olanzapine, risperidone, or haloperidol. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 24 (2004) 225-228.
- [27] Hu J, Lee J, El-Fakahany EE, Inhibition of neuronal nitric oxide synthase by antipsychotic drugs. *Psychopharmacology* 114 (1994) 161-166.
- [28] Suzuki T, Takamori K, Misawa M, Onodera K, Effects of histaminergic system on the morphine-induced conditioned place preference in mice. *Brain Research* 675 (1995) 195-202.
- [29] صحرائی هدایت، قشونی حسن، هالوپریدول سبب کاهش ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش سوری نر می‌شود: دخالت احتمالی نیتریک اکساید. *مجله پزشکی کوثر* ۲ (۱۳۷۶) ۲۶۵ تا ۲۷۰.
- Eckols K, Truex LL, Antagonism by olanzapine of dopamine D₁, serotonin₂, muscarinic, histamine H₁ and α 1-adrenergic receptors in vitro. *Schizophrenia Research* 37 (1999) 107-122.
- [11] Moy SIS, Fernandes A, Qian Y, Rotella DJ, Kostrewa RM, Breese GR, Effects of acute and chronic olanzapine treatment on phencyclidine-induced behavioral sensitization in rats with neonatal dopamine loss. *Pharmacol Biochem Behav* 78 (2004) 47-56.
- [12] Kampman KM, Pettinati H, Lynch KG, Sparkman T, O'Brien CP, A pilot trial of olanzapine for the treatment of cocaine dependence. *Drug and Alcohol Dependence* 70 (2003) 265-273.
- [13] Hutchison KE, Swift R, Rohsenow DJ, Monti PM, Davidson D, Almeida A, Olanzapine reduces urge to drink after drinking cues and a priming dose of alcohol. *Psychopharmacology* 155 (2001) 27-34.
- [14] Hutchison KN, Rutter M, Niaura R, Swift RM, Pickworth WB, Sobik L, Olanzapine attenuates cue-elicited craving for tobacco. *Psychopharmacology* 175 (2004) 407-413.
- [15] Sahraei H, Ghazzaghi H, Zarrindast MR, Ghoshooni H, Sepehri H, Haeri-Rohani A, The role of alpha-adrenoceptor mechanism(s) in morphine-induced conditioned place preference in female mice. *Pharmacol Biochem Behav* 78 (2004) 135-141.
- [16] Wiesinger H, Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Prog Neurobiol* 64 (2001) 365-391.
- [17] Do Couto BR, Aguilar MA, Manzanedo C, Rodriguez-Arias M, Minarro J, Effects of NMDA receptor antagonists (MK-801 and memantine) on the acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 28 (2004) 1035-1043.
- [18] Zarrindast MR, 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.
- [19] Nomikos GG, Spyraiki C, Effects of retanserine on the