مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال بیست و هفتم/شماره ۹۸/مهر ۱۳۸۸

بررسی اثر تزریق آنژیوتانسین II و کاپتوپریل به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس بر علایم محرومیت مرفین در موش‌های صحرایی

زهره عزیزاللهی*، دکتر حجت اله علائی**، دکتر محمود حسینی***، دکتر علی اصغر پیله‌وریان****

* کارشناس ارشد، دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران.

** استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

*** استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

**** استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۲۷

تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۱۹

چکیده

مقدمه: نظر به این که گیرنده‌های آنژیوتانسین در هسته‌ی لوکوس سرولئوس، یعنی مرکز مهم دخیل در بروز علائم محرومیت، به وفور یافت می‌شوند، در مطالعه‌ی حاضر اثر تزریق آنژیوتانسین II و کاپتوپریل به داخل این هسته بر علائم محرومیت از مرفین بررسی شد.

روش ها: موش‌های صحرایی نر به صورت تصادفی در ۴ گروه ۹ تایی شاهد سالم، شاهد وابسته، وابسته تحت درمان با آنژیوتانسین II و وابسته تحت درمان با کاپتوپریل تقسیم‌بندی شدند. کانول‌های فلزی در لوکوس سرولئوس کار گذاشته شد. پس از بهبودی، مرفین روزانه سه نوبت و به مدت چهار روز، به صورت داخل صفاتی تزریق شد. روز چهارم و قبل از تزریق صفاقی نالوکسان، آنژیوتانسین II، کاپتوپریل یا سالین به ترتیب به گروه‌های آنژیوتانسین II، کاپتوپریل و شاهد وابسته، در هسته‌ی لوکوس سرولئوس تزریق شد و علائم محرومیت از مرفین ثبت گردید.

یافته ها: در گروه مرفین افزایش معنی‌داری در رفتار واکنش سگ خیس (Wet dog)، پرش و دندان قروچه نسبت به گروه شاهد سالم دیده شد. در گروه آنژیوتانسین II، وقوع رفتار Wet dog در مقایسه با گروه شاهد وابسته افزایش ($P < ۰/۰۵$) و تعداد پرش کاهش یافت ($P < ۰/۰۵$). همچنین تزریق یک طرفه‌ی کاپتوپریل در لوکوس سرولئوس وقوع رفتار Wet dog را در مقایسه با گروه شاهد وابسته به طور معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) افزایش و رفتارهایی چون کشش شکم، خارش بدن و ناحیه‌ی ژنیتال، دندان قروچه و لرزش سر را کاهش داد ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه گیری: بر اساس یافته‌ها احتمال می‌رود گیرنده‌های آنژیوتانسین II در نورون‌های نورآدرنرژیک لوکوس سرولئوس در افزایش علایم سندرم قطع مصرف مرفین نقش داشته باشند.

واژگان کلیدی: آنژیوتانسین II، کاپتوپریل، مرفین، محرومیت، لوکوس سرولئوس

تعداد صفحات: ۱۰

تعداد جدول‌ها: ۱

تعداد نمودارها: –

تعداد منابع: ۳۱

آدرس نویسندهٔ مسئول: زهره عزیزاللهی، کارشناس ارشد، دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران.

E-mail: zazizolahy@yahoo.com

www.mui.ac.ir

مقدمه

مطالعات نشان داده است که مهمترین ناحیه‌ی مغز در ایجاد سندرم ترک مربوط به اپیوئیدها، هسته‌ی لوکوس سرولئوس (Locus coeruleus یا LC) می‌باشد. این هسته ناحیه‌ی کوچکی از مغز است که دارای ارتباطات فراوان با نقاط مختلف سیستم اعصاب مرکزی (Central Nervous System یا CNS) و محتوی سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف، به خصوص نورآدرنرژیک می‌باشد. LC دارای تراکم شدید و وسیعی از رسپتورهای اپیوئیدی به ویژه از نوع μ و k است (۲-۱). مطالعات الکتروفیزیولوژیک، بیوشیمیایی و رفتاری نیز نشان می‌دهند که نورون‌های نورآدرنرژیک LC نقش مهمی در وابستگی و بروز سندرم ترک اعتیاد ایفا می‌کند (۴-۲)، به طوری که افزایش سرعت تخلیه‌ی نورون‌های نورآدرنرژیک LC در طی سندرم ترک، مصرف مشاهده شده است (۷-۵). از طرف دیگر مشخص شده است که اگونیست رسپتورهای μ و δ هر دو در نورون‌های LC به صورت مشابهی فعالیت این نورون‌ها را مهار می‌کنند (۸). مصرف مکرر اپیوئیدها سبب کاهش عملکرد نورون‌های نورآدرنرژیک هسته‌ی لوکوس سرولئوس و در نتیجه کاهش ترشح نورآدرنالین و افزایش تعداد و قدرت اتصال گیرنده‌های نورآدرنالین می‌شود که با قطع ناگهانی مصرف مواد و ترشح مقادیر زیاد نورآدرنالین توسط هسته‌ی LC، این گیرنده‌ها به شدت تحریک شده، در نتیجه فرد تحت فعالیت بیش از حد نورآدرنالین قرار می‌گیرد و با علائم سندرم قطع مصرف مواجه می‌شود؛ این علائم ناخوشایند یک تجربه‌ی نفرت‌آور برای فرد ایجاد می‌کند و به همین دلیل نورآدرنالین در پیدایش وابستگی فیزیکی به اپیوئیدها نقش دارد (۳).

شواهد نشان می‌دهد که آنژیوتانسین II به دلیل نقش نوروترانسمیتری، با آزادسازی نوروترانسمیترهای مختلف نظیر نورآدرنالین، سروتونین و وازوپرسین تداخل عمل دارد (۱۰-۹). اثر ضد دردی وابسته به دوز آنژیوتانسین II با تزریق داخل بطنی (ICV) در درد شکمی القا شده به وسیله‌ی اسید استیک دیده شده است؛ تزریق داخل تکال و داخل ماده‌ی خاکستری دور قناتی هم اثر ضد دردی نشان داده است (۱۲-۱۱). اثرات ضد دردی که به فعال شدن سیستم اپیوئیدی نسبت داده شده است، با نالوکسان بر می‌گردد (۱۲). موش‌هایی که به صورت ژنتیکی فاقد گیرنده‌ی آنژیوتانسین II باشند، آستانه‌ی درد آنها پایین و سطح بتا اندورفین مغز آنها کم است، پیشنهاد شده است که آنژیوتانسین II در انتقال درد دخالت و با گیرنده‌های اوپیوئیدی تداخل دارد (۱۱) و اثر ضد دردی مسکن‌های اوپیوئیدی (۱۳) مانند مرفین (۱۱) را با آنتاگونیزه کردن (۱۳) کاهش می‌دهد (۱۳، ۱۱) و یا تقویت می‌کند (۱۳). در مطالعه‌ی دیگر، آنژیوتانسین II و CCK-8 به عنوان آنتی‌اپیوئیدهای قوی مغزی معرفی شده‌اند (۱۴). در مطالعه‌ی دیگر، تزریق داخل بطنی آنژیوتانسین II و CCK-8 اثر بی‌دردی مرفین را کاهش داد که به صورت وابسته به دوز بود و استفاده توأم آنها اثر یکدیگر را تقویت نمود (۱۴). نتایج تحقیقات پیشنهاد می‌کند که اثرات همودینامیک کاپتوپریل و دیگر بازدارنده‌های آنزیم Angiotensin Converting Enzyme (ACE) ممکن است به طور غیر مستقیم به وسیله‌ی سیستم آندوژن اپیوئیدی ایجاد شوند. کاهش فشار ایجاد شده توسط کاپتوپریل، به وسیله‌ی نالوکسان (آنتاگونیست اپیوئید) معکوس و مسدود می‌شود (۱۵). در مطالعات دیگر نشان داده شده است که کاپتوپریل، آب‌نوشی ناشی از مرفین را افزایش می‌دهد (۱۶)؛ پیشنهاد شده است که این پاسخ آب‌نوشی در اثر عمل متقابل بین مرفین و

www.mui.ac.ir

آنژیوتانسین در گردش و کاپتوپریل می‌باشد.

مطالعات انجام شده با استفاده از اتصال رادیولیگاندهای مهاری و آنتاگونیست انتخابی دو نوع گیرنده‌ی آنژیوتانسین نشان می‌دهد که لوکوس سرولئوس در رت‌ها، دارای مخلوطی از دو نوع گیرنده‌ی آنژیوتانسین II است و گیرنده‌های نوع AT1 در آن غالب می‌باشد. این گیرنده‌ها روی اجسام سلولی نورون‌های نورآدرنرژیک یا دندریت‌های آنها و انشعابات آکسونی متمرکز شده‌اند (۱۷).

با توجه به شواهد پیش‌گفته به نظر می‌رسد که سیستم رنین- آنژیوتانسین مغزی می‌تواند با سیستم اپیوئیدی تداخل عمل داشته باشد. در مطالعات متعدد بیوشیمیایی و فیزیولوژیک نقش هسته‌ی لوکوس سرولئوس در اعتیاد، با استفاده از علائم رفتاری و فیزیکی، مورد مطالعه قرار گرفته است. اگرچه گیرنده‌های آنژیوتانسین II به وفور در این هسته یافت می‌شوند ولی هنوز توافقی روی عملکرد آنژیوتانسین II در لوکوس سرولئوس ثبت نشده است. از این رو، در مطالعه‌ی حاضر نقش هسته‌ی LC در اعتیاد و سندرم ترک مصرف با استفاده از اثرات آنژیوتانسین II مورد بررسی قرار گرفت. به منظور کاهش میزان تولید آنژیوتانسین II در هسته‌ی LC و بررسی اثر آن از کاپتوپریل استفاده شد.

روش‌ها

حیوانات و گروه‌های مورد آزمایش

در این مطالعه، از موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar با وزن ۲۸۰-۲۲۰ گرم در شروع آزمایش، که در خانه‌ی حیوانات گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تکثیر و پرورش می‌یافت، استفاده گردید. حیوانات به تعداد ۵ سر در هر قفس در دمای ۲۵°C- ۲۲ نگهداری می‌شدند. ضمن این که همه‌ی حیوانات آزادانه به آب و غذای مخصوص (Pelleted Food) دسترسی داشتند. طول دوره‌ی روشنایی و تاریکی هر یک ۱۲ ساعت بود و به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل یک هفته از زمان استقرار حیوانات انجام می‌گردید. حیوانات به صورت تصادفی در ۴ گروه ۹ تایی گروه شاهد سالم (سالین)، گروه شاهد وابسته (مرفین)، گروه وابسته‌ی تحت درمان با آنژیوتانسین II (آنژیوتانسین) و گروه وابسته‌ی تحت درمان با کاپتوپریل (کاپتوپریل) تقسیم‌بندی شدند.

داروها: داروهای مورد استفاده شامل مرفین هیدروکراید (تماد، ایران)، نالوکسان هیدروکلراید، کاپتوپریل (داروپخش، ایران) و آنژیوتانسین II (سیگما، ایران) بود که در نرمال سالین حل می‌شد.

جراحی: تمام حیوانات با استفاده از کتامین mg/kg ۱۵۰ و رامپون mg/kg ۰/۱ بیهوش شده، پس از تأیید بیهوشی توسط عدم عقب کشیدن پا (withdrawal reflex) سر حیوان در دستگاه استرئوتاکس قرار داده شد. نقطه‌ی براگما به عنوان مرجع انتخاب و با استفاده از ابعاد به دست آمده از اطلس پاکسینوس (۶/۲- = v میلی‌متر از سطح جمجمه، ۱/۰۴+ = L میلی‌متر طرف راست خط وسط جمجمه، ۱۰/۰۴- = AP میلی‌متر از براگما) هسته‌ی لوکوس سرولئوس ردیابی شد و کانول راهنما (سر سوزن شماره‌ی ۲۲) در موقعیت این هسته قرار گرفت. برای فیکس نمودن کانول بر روی جمجمه از دو عدد پیچ عینک، به عنوان پایه، و سیمان دندان‌پزشکی استفاده شد. بهبود زخم جراحی در دوره‌ی ۵ تا ۷ روزه کامل شد (۱۸).

www.mui.ac.ir

ایجاد وابستگی نسبت به مرفین: ۷-۵ روز پس از جراحی و بهبودی حیوانات در ۳ گروه از حیوانات وابستگی ایجاد شد. برای ایجاد وابستگی به مورفین، موش‌های صحرایی طی ۴ روز متوالی و هر روز ۳ نوبت، به فاصله‌ی ۱۵۰ دقیقه، مرفین (تماد، ایران) به صورت زیر دریافت کردند (۱۹):

روز اول: ۹، ۱۶ و ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

روز دوم: ۲۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

روز سوم: ۵۰، ۵۰ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

روز چهارم: ۵۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

موش‌های صحرایی گروه سالین، به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۱ میلی‌لیتر سالین دریافت کردند.

۱۸۰ دقیقه بعد از آخرین تزریق مرفین، نالوکسان با دوز ۳ mg/kg به صورت صفاقی تزریق شد و علائم سندرم قطع مصرف بررسی گردید.

تزریق دارو در هسته‌ی لوکوس سرولئوس: در روز چهارم ۳۰ دقیقه قبل از تزریق نالوکسان، با استفاده از سرنگ هامیلتون ۱ µl آنژیوتانسین II (۱ نانومول) و ۱ µl کاپتوپریل (۳۰ میکروگرم) به ترتیب به گروه آنژیوتانسین و کاپتوپریل تزریق شد و در گروه‌های شاهد سالم و شاهد وابسته، به جای دارو ۱ µl نرمال سالین داخل هسته‌ی LC تزریق شد. تزریق دارو داخل هسته‌ی LC در مدت ۱ دقیقه و در حالی که حیوان هوشیار بود، صورت گرفت. به این صورت که سیم فولادی زنگ نزن به آرامی از داخل کانول راهنما خارج و یک عدد سر سوزن دندانپزشکی شماره‌ی ۲۷ که طول آن ۱ میلی‌متر بیشتر از کانول فلزی (۱۶ میلی‌متر) بود به عنوان کانول تزریق در داخل آن قرار داده شد و این سر سوزن از طریق لوله‌ی پلی‌اتیلن شماره‌ی ۱۰ به سرنگ هامیلتون ۱۰ µl وصل شد. برای ممانعت از پس زدن داروی تزریق شده، ۲ دقیقه بعد کانول تزریق خارج گردید و سیم فولادی سر جای خود قرار گرفت (۹).

ثبت علائم قطع مصرف: به منظور بروز علائم قطع مصرف (Withdrawal) ۱۸۰ دقیقه بعد از آخرین تزریق مرفین، نالوکسان با دوز ۳ mg\kg به صورت صفاتی تزریق گردید. بلافاصله بعد از تزریق نالوکسان، برای ثبت رفتارهای مربوط به قطع مصرف، حیوان درون محفظه‌ی شیشه‌ای به ابعاد ۵۰ × ۵۰ × ۷۰ سانتی‌متر قرار داده شد و علائم رفتاری ترک ناشی از تزریق نالوکسان به مدت ۳۰ دقیقه ثبت گردید. رفتارهای مطالعه شده بر اساس تعداد شامل پرش، ایستادن، واکنش سگ خیس، لرزش سر، خارش بدن، خارش ناحیه‌ی ژنیتال، دندان قروچه، کشش و انقباض شکم و متغیر مطالعه شده بر اساس درصد، میزان کاهش وزن بود (n = ۹).

تعیین محل تزریق دارو در هسته و بررسی بافت‌شناسی: پس از ثبت رفتار، حیوان با استفاده از یورتان بیهوش شد و به دنبال آن فرمالین ۱۰٪ داخل قلب تزریق و مغز حیوان خارج گردید و درون فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. سپس با استفاده از دستگاه میکروتوم، برش‌های بافتی به ضخامت ۵۰ میکرومتر تهیه و بعد از قرار گرفتن بر روی لام به رنگ‌آمیزی گردید. سپس این مقاطع بافتی در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت و با ردیابی نقاط نشان دهنده‌یاثر کانول در بافت و مطابقت آن با اطلس

www.mui.ac.ir

پاکسینوس محل دقیق کانول داخل هسته‌ی LC مشخص و در صورتی که خارج از هسته بود، نمونه حذف می‌شد (۹).

تجزیه وتحلیل آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 11.5; SPSS Inc., Chicago, IL) آنالیز و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه گردید. اختلاف میانگین دو گروه شاهد وابسته و شاهد سالم، همچنین اختلاف میانگین گروه‌های دارویی با گروه شاهد وابسته به ترتیب با استفاده از آزمون آماری t-test، آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی مورد بررسی قرار گرفت. اختلاف در سطح $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

نتایج مشاهدات (جدول ۱) نشان داد که پس از تزریق نالوکسان بروز علائم سندرم قطع مصرف مورد بررسی مانند wet dog، پرش، دندان قروچه و لرزش سر در گروه شاهد وابسته با اختلاف معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) نسبت به گروه دریافت کننده‌ی سالین بیشتر می‌باشد که بیانگر تأثیر مصرف مرفین بر ایجاد وابستگی فیزیکی و بروز علائم سندرم قطع مصرف در موش صحرایی می‌باشد و روش ما برای ایجاد وابستگی مناسب بوده است. همچنین جدول ۱ اثر تزریق یک‌طرفه‌ی آنژیوتانسین II به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس را بر میانگین بروز علائم سندرم قطع مصرف نشان می‌دهد؛ همان گونه که مشاهده می‌شود میانگین wet dog در گروه دریافت کننده‌ی آنژیوتانسین II ۲۲/۵ ± ۶۴/۱ بود که با اختلاف معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) نسبت به گروه شاهد وابسته (۰/۷۶ ± ۲/۳۳) بیشتر است. همچنین آنژیوتانسین II بروز رفتار پرش را به طور معنی‌دار کاهش داد ($P < ۰/۰۵$). آنژیوتانسین II نتوانست اثر معنی‌داری بر بروز رفتارهای دیگر داشته باشد. همچنین تزریق یک طرفه‌ی کاپتوپریل به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس سبب کاهش معنی‌داری در ایجاد علائم قطع مصرف همچون کشش و انقباض شکم، دندان قروچه، خارش بدن، خارش ناحیه‌ی ژنیتال و لرزش سر در مقایسه با گروه شاهد وابسته شد ($P < ۰/۰۵$). نیز تزریق یک طرفه‌ی کاپتوپریل به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس در مقایسه با گروه شاهد وابسته، بروز رفتارهایی مانند پرش و واکنش سگ خیس را افزایش داد که فقط در مورد آخر این افزایش معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$).

نتایج این تحقیق نشان داد که علائم سندرم ترک مصرف ایجاد شده توسط نالوکسان در گروه دریافت کننده‌ی سالین با گروه دریافت کننده مرفین با هم متفاوت بود که نشان دهنده‌ی این است که مرفین می‌تواند ایجاد وابستگی کند و همچنین تزریق یک طرفه‌ی آنژیوتانسین II و کاپتوپریل به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس علائم سندرم ترک مصرف ایجاد شده توسط نالوکسان را تغییر داده و کاپتوپریل میزان بروز بیشتر علائم ترک مصرف را به طور معنی‌داری کاهش داده است. احتمال می‌رود تزریق داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس آنژیوتانسین II در مطالعه‌ی ما به علت تجزیه‌ی سریع آنژیوتانسین II نتوانسته باشد تعداد بیشتر علائم سندرم ترک را به طور معنی‌داری افزایش دهد.

مصرف مزمن مرفین، موجب کاهش وزن حیوانات (۷ تا ۹ درصد) و افزایش میزان مرگ و میر (۱۰ درصد) گردید.

www.mui.ac.ir

جدول ۱. مقایسه‌ی تعداد علائم سندرم ترک مصرف ایجاد شده توسط نالوکسان در گروه‌های مورد مطالعه (n = ۹)

گروه / علائم قطع مصرف	شاهد سالم (سالین)	شاهد وابسته (مرفین)	آنژیوتانسین II	کاپتوپریل
انقباض شکم (Writhing posture)	۳/۸۹ ± ۳/۴۰	۵/۰۰ ± ۳/۰۰	۵/۱۱ ± ۲/۲۲	۰/۲۲ ± ۰/۲۲ #
واکنش سگ خیس (Wet-dog shake)	۰/۲۲ ± ۰/۱۴	۲/۳۳ ± ۰/۷۶ *	۵/۲۲ ± ۱/۶۴ #	۷/۰۰ ± ۳/۶۸ #
پرش (Jumping)	۰	۰/۸۹ ± ۰/۵۶ *	۰ #	۲/۱۱ ± ۱/۸۶
دندان قروچه (Teeth-chattering)	۷/۶۷ ± ۳/۱۹	۳۱/۳۳ ± ۹/۳۵ *	۴۱/۸۹ ± ۱۳/۶۹	۲۰/۴۴ ± ۵/۳۹ #
خارش بدن (Grooming)	۴/۰۰ ± ۱/۳۴	۰/۲۲ ± ۰/۱۴ *	۰/۵۶ ± ۰/۴۴	۰ #
خارش ناحیه‌ی ژنیتال (Genital grooming)	۱/۱۱ ± ۰/۴۸	۱/۱۱ ± ۰/۴۲	۱/۰۰ ± ۰/۵۲	۰/۴۴ ± ۰/۱۷ #
لرزش سر (Head shake)	۰/۱۱ ± ۰/۱۱	۲/۳۳ ± ۰/۹۴ *	۱/۰۰ ± ۰/۴۸	۰/۳۳ ± ۰/۲۳ #
ایستادن (Wall clamber)	۱۷/۰۰ ± ۳/۸۵	۱۱/۸۹ ± ۱/۸۵	۶/۴۴ ± ۱/۵۸	۴/۴۴ ± ۱/۶۳
درصد کاهش وزن (Weight loss)	۱/۹۸ ± ۰/۷۲	۴/۰۰ ± ۰/۸۸	۵/۵۲ ± ۱/۳۹	۳/۲۷ ± ۰/۶۸

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار میانگین نشان داده شده است.

* $P < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد سالم در آزمون آماری t-test

$P < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد وابسته در آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی

بحث

در این مطالعه اثر تزریق آنژیوتانسین II و کاپتوپریل بر علائم محرومیت از مرفین بررسی شد. نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد که مهار ACE مغزی به وسیله‌ی تزریق ۳۰ میکروگرم کاپتوپریل به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس به طور معنی‌داری تعدادی علائم سندرم ترک مصرف را کاهش داد و تزریق ۱ نانومول آنژیوتانسین II در هسته‌ی لوکوس سرولئوس توانست این کاهش را تعدیل کرده، برخی علائم را افزایش دهد. این نتایج با یافته‌های حاصل از مطالعات قبلی انجام شده در این آزمایشگاه مطابقت دارد که تزریق درون بطن مغزی کاپتوپریل بعضی از علائم سندرم محرومیت از مرفین را کاهش و تزریق داخل بطن مغزی آنژیوتانسین II بعضی از علائم را افزایش داده بود (۲۰). در مطالعات گذشته، کاپتوپریل خودتزریقی مرفین و نیز ترجیح مکانی القا شده به وسیله‌ی آن را کاهش داد در حالی که آنژیوتانسین II وقتی به صورت داخل بطن مغزی تزریق شد، اثری در این زمینه نشان نداد؛ این آثار به کوتاه اثر بودن آنژیوتانسین II منتسبت گردید و احتمال داده شد که این ماده قبل از رسیدن به محل اثر از بین رفته باشد (۲۱-۲۰). با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر، علاوه بر تأیید نتایج مطالعات قبلی

www.mui.ac.ir

می‌توان احتمال داد که هسته‌ی لوکوس سرولئوس یکی از محل‌های احتمالی برای اثر آنژیوتانسین II و تداخل با سیستم اوپیوئیدی باشد. مطالعات دیگران نیز می‌تواند مؤید این فرضیه باشد؛ چرا که گیرنده‌های آنژیوتانسین II در این هسته به وفور یافت می‌شوند (۲۲)؛ به خصوص که این گیرنده‌ها بیشتر روی نورون‌های آدرنرژیک واقع شده‌اند (۱۷). نکته‌ی دیگر این که هسته‌ی لوکوس سرولئوس و به خصوص نورون‌های آدرنرژیک موجود در این هسته (۲۳) در بروز علائم سندرم محرومیت از مرفین نقش بسیار زیادی دارند.

به نظر می‌رسد مکانیسم احتمالی در مطالعه‌ی ما این است که تزریق آنژیوتانسین II به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس با اثر روی ترشح و باز جذب نورآدرنالین باعث افزایش علائم سندرم ترک مصرف شده و کاپتوپریل با کاهش تولید آنژیوتانسین II عکس آن عمل نموده باشد. البته با این استدلال احتمال می‌رود تزریق داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس آنژیوتانسین II در مطالعه‌ی ما به علت تجزیه‌ی سریع آنژیوتانسین II نتوانست تعداد بیشتر علائم سندرم ترک را به طور معنی‌دار افزایش دهد.

نقش آنژیوتانسین II و مشتقات آن در شناخت (Cognition)، یادگیری و حافظه نشان داده شده است (۲۵-۲۴، ۱۱). تزریق داخل بطنی (ICV)، داخل تکال (Intratecal) و داخل ماده‌ی خاکستری دور قناتی (PAG) آنژیوتانسین II اثر ضد درد نشان داده (۱۲-۱۱) و این اثرات به فعال شدن سیستم اوپیوئیدی نسبت داده شده است که با تزریق نالوکسان بر می‌گردد (۱۲). نشان داده شده است که آنژیوتانسین II اثر ضد دردهای اوپیوئیدی مانند مرفین (۱۳، ۱۱) را با آنتاگونیزه کردن کاهش می‌دهد (۱۳، ۱۱) و یا تقویت می‌کند (۱۳) و در مطالعه‌ی دیگری آنژیوتانسین II به عنوان آنتی‌اوپیوئید قوی معرفی شده است (۱۴). همه‌ی این مطالعات و نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات قبلی ما، تداخل آنزیوتانسین با سیستم اوپیوئیدی را نشان می‌دهد.

شواهد متعددی نشان می‌دهد که کاپتوپریل (مهار کننده‌ی آنزیم مبدل آنژیوتانسین I به آنژیوتانسین II یا ACE) در مغز سبب کاهش تجزیه‌ی اوپیوئیدهای اندوژن و افزایش سطح مغزی آنها می‌شود (۲۶)، به طوری که درمان بیماران دارای فشار خون بالا با کاپتوپریل سبب ایجاد احساس سرخوشی در این بیماران به دلیل افزایش اوپیوئیدهای اندوژن در مغز می‌شود (۲۷). اثرات ضد درد (۲۸)، تقویت اثرات ضد درد مرفین (۲۸) و ضد افسردگی مهارکننده‌های ACE نیز در مدل‌های حیوانی نشان داده شده است که این اثرات به وسیله‌ی تزریق نالوکسان تا حدود زیادی کاهش می‌یابد (۳۰-۲۹). افزایش فعالیت ACE در مغز به دنبال تزریق مرفین نیز نشان داده شده است (۳۱). این مطالعات نیز تداخل سیستم رنین-آنژیوتانسین با سیستم اوپیوئیدی را نشان می‌دهند؛ اگر چه نتایج در بعضی از موارد ضد و نقیض هستند و نیاز به مطالعات بیشتر دارند.

References

1. Wang HL, Zhao Y, Xiang XH, Wang HS, Wu WR. Blockade of ionotropic glutamatergic transmission in the ventral tegmental area attenuates the physical signs of morphine withdrawal in rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2004; 28(7): 1079-87.
2. Vandergriff J, Rasmussen K. The selective mGlu2/3 receptor agonist LY354740 attenuates

www.mui.ac.ir

morphine-withdrawal-induced activation of locus coeruleus neurons and behavioral signs of morphine withdrawal. Neuropharmacology 1999; 38(2): 217-22.
3. 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(5): 407-12.
4. Selley DE, Nestler EJ, Breivogel CS, Childers SR. Opioid receptor-coupled G-proteins in rat locus coeruleus membranes: decrease in activity after chronic morphine treatment. Brain Res 1997; 746(1-2): 10-8.
5. Zhu H, Rockhold RW, Ho IK. The role of glutamate in physical dependence on opioids. Jpn J Pharmacol 1998; 76(1): 1-14.
6. Rasmussen K, Aghajanian GK. Withdrawal-induced activation of locus coeruleus neurons in opiate-dependent rats: attenuation by lesions of the nucleus paragigantocellularis. Brain Res 1989; 505(2): 346-50.
7. Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. Brain Res Brain Res Rev 2003; 42(1): 33-84.
8. Singewald N, Philippu A. Release of neurotransmitters in the locus coeruleus. Prog Neurobiol 1998; 56(2): 237-67.
9. Hosseini M, Sharifi MR, Alaei HA, Shafei MN. The effect of Angiotensin II and captopril on expression of morphine withdrawal signs in rat. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2007; 6(3): 85-191.
10. Alaei HA, Hosseini M, Sarkaki A, Vahdati-Mashhadian N, Naderi A. Effects of angiotensin II and captopril on morphine self-administration and withdrawal signs in rats. Int J Pharmacol 2008; 4(1): 11-19.
11. Tchekalarova J, Pechlivanova D, Kambourova T, Matsoukas J, Georgiev V. The effects of sarmesin, an Angiotensin II analogue on seizure susceptibility, memory retention and nociception. Regul Pept 2003; 111(1-3): 191-7.
12. Prado WA, Pelegrini-da-Silva A, Martins AR. Microinjection of renin-angiotensin system peptides in discrete sites within the rat periaqueductal gray matter elicits antinociception. Brain Res 2003; 972(1-2): 207-15.
13. Adams ML, Brase DA, Welch SP, Dewey WL. The role of endogenous peptides in the action of opioid analgesics. Ann Emerg Med 1986; 15(9): 1030-5.
14. Han NL, Luo F, Bian ZP, Han JS. Synergistic effect of cholecystokinin octapeptide and angiotensin II in reversal of morphine induced analgesia in rats. Pain 2000; 85(3): 465-9.
15. Varon J, Duncan SR. Naloxone reversal of hypotension due to captopril overdose. Ann Emerg Med 1991; 20(10): 1125-7.
16. Lal J, Atkinson J. Involvement of the renin-angiotensin system in the dipsogenic effect of morphine. Arch Int Pharmacodyn Ther 1985; 278(2): 273-91.
17. Speth RC, Grove KL, Rowe BP. Angiotensin II and the locus coeruleus. Prog Brain Res 1991; 88: 217-26.
18. Paxinos G. Rat brain in stereotaxic coordinates. 1st ed. New York: Academic Press; 1998.
19. Pinelli A, Trivulzio S, Spezia R. Effects of tizanidine administration on precipitated opioid withdrawal signs in rats. Drug Alcohol Depend 1998; 50(1): 81-8.
20. Alaei HA, Hosseini M. Angiotensin converting enzyme inhibitor captopril modifies conditioned place preference induced by morphine and morphine withdrawal signs in rats. pathophys 2007; 14(1): 55-60.
21. Hosseini M, Sharifi MR, Alaei H, Shafei MN, Karimooy HA. Effects of angiotensin II and captopril on rewarding properties of morphine. Indian J Exp Biol 2007; 45(9): 770-7.
22. Lenkei Z, Palkovits M, Corvol P, Llorens-Cortes C. Distribution of angiotensin II type-2 receptor (AT2) mRNA expression in the adult rat brain. J Comp Neurol 1996; 373(3): 322-39.
23. 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(5): 407-12.
24. de Souza FA, Sanchis-Segura C, Fukada SY, de Bortoli VC, Zangrossi H, Jr., de Oliveira AM. Intracerebroventricular effects of angiotensin II on a step-through passive avoidance task in rats. Neurobiol Learn Mem 2004; 81(1): 100-3.
25. Winnicka MM, Wisniewski K. Disruption of temporo-entorhinal connections abolishes the facilitatory effect of angiotensins on memory in rats. Pharmacol Res 1999; 40(1): 53-9.
26. Jenkins TA, Mendelsohn FA, Chai SY. Angiotensin-converting enzyme modulates dopamine turnover in the striatum. J Neurochem 1997; 68(3): 1304-11.
27. Kaada B, Woie L. Effects of an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor on plasma endorphin level. Gen Pharmacol 1990; 21(5): 693-5.
28. Takai S, Song K, Tanaka T, Okunishi H, Miyazaki M. Antinociceptive effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and an

www.mui.ac.ir

angiotensin II receptor antagonist in mice. Life Sci 1996; 59(21): L331-L336.
29. Giardina WJ, Ebert DM. Positive effects of captopril in the behavioral despair swim test. Biol Psychiatry 1989; 25(6): 697-702.
30. Martin P, Massol J, Puech AJ. Captopril as an antidepressant? Effects on the learned helplessness paradigm in rats. Biol Psychiatry 1990; 27(9): 968-74.
31. Koyuncuoglu H, Gungor M, Enginar N, Hatipoglu I, Hizal A. Brain asparaginase, ACE activity and plasma cortisol level in morphine dependent rats: effect of aspartic acid and naloxone. Pharmacol Biochem Behav 1986; 25(5): 953-7.

www.mui.ac.ir

Orginal Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 27, No 98, October 2009

Received: 17.11.2008
Accepted: 9.5.2009

Comparing the Effect of Microinjection of Angiotensin II and Captopril to the Locus Coeruleus on Morphine Withdrawal Signs in Rat

Zohreh Azizolahi MSc[*], Hojatollah Alaei PhD[**], Mahmoud Hosseini PhD[***], Ali Asghar Pilehvarian PhD[****]

[*]MSc, Isfahan Payam-e-Noor University, Isfahan, Iran.
[**] Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Siences, Isfahan, Iran.
[***] Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Siences, Mashhad, Iran.
[****] Assistant Professor of Biology, Isfahan Payam-e-Noor University, Isfahan, Iran.

Abstract

Background: Locus coeruleus is one of important involved sites in morphine withdrawal signs, contains high densities of Angiotensin II receptor binding sites. In this study the effect of microinjection of Angiotensin II and captopril to the Locus coeruleus on morphine withdrawal signs was evaluated.

Methods: Male wistar rats were anesthetized and stainless style cannula implanted in the locus coeruleus and allowed to recover from surgery. Morphine was injected 3 times in each day for 4 days to induce morphine dependence. The animals divided into 3 groups; control group received saline and case groups received Angiotensin II (1 nanomole) or captopril (30 µg) before naloxone injection. After naloxone injection, morphine withdrawal signs were assessed and compared between groups.

Findings: In Angiotensin group, some of withdrawal signs such as wet dog shakes was significantly higher than saline group ($P < 0.05$). Expression of some of withdrawal signs such as jumping in Angiotensin group was decreased more than saline group ($P < 0.01$). Also, in captopril group some of withdrawal signs such as wet dog shakes was significantly higher than those of saline group ($P < 0.05$. Expression of some of withdrawal signs such as writhing posture, teeth chattering, grooming, genital grooming and head shakes were decreased in captopril group more than saline group ($P < 0.05$).

Conclusion: We suggest that Angiotensin II have some roles in opioid withdrawal through locus coeruleus nucleous which contains considerable receptors for it.

Key words: **Angiotensin II, Morphine, Captopril, Withdrawal, Locus coeruleus, Rat.**

Page count: 10
Tables: 1
Figures: -
References: 31

Address of Correspondence: Zohreh Azizolahi MSc, Isfahan Payam-e-Noor University, Isfahan, Iran.
E-mail: zazizolahy@yahoo.com

www.mui.ac.ir