

## اثر دزهای پایین ممانتین بر سطح سرمی میانجی‌های التهابی در رت‌های وابسته به متادون

بهاره مرتضوی<sup>۱</sup>، زویا طاهر گورابی<sup>۲</sup>، امید مهرپور<sup>۳</sup>، میترا مودی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** سوء مصرف اپیوئیدها، یکی از معضلات عمده و چالش‌برانگیز بهداشتی با طیف وسیعی از عوارض فیزیکی و روانی در سراسر دنیا شناخته می‌شود. هدف از انجام پژوهش حاضر، تعیین تأثیر دزهای پایین ممانتین بر سطح سرمی میانجی‌های التهابی در رت‌های وابسته به متادون بود.

**روش‌ها:** این مطالعه بر روی ۴۰ رت ویستار نر با وزن ۳۵۰-۳۰۰ گرم انجام شد. رت‌ها در چهار گروه ده‌تایی قرار گرفتند و در شروع و پایان تحقیق وزن شدند و قند خون ناشتای آن‌ها به وسیله‌ی گلوکومتر اندازه‌گیری گردید. در طی ۱۰ روز، گروه اول ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم متادون را به صورت داخل صفاقی دریافت نمود. در گروه‌های دوم و سوم به ترتیب هر بار ۳۰ دقیقه قبل از تزریق متادون، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین به صورت زیرجلدی تزریق شد و گروه آخر نیز نرمال سالین دریافت کرد. در پایان، رت‌ها کشته شدند و سطح سرمی (hs-CRP) High-sensitivity C-reactive protein، (NF-κB) Nuclear factor kappa B، (IL-6) Interleukin-6، (TNF-α) Tumor necrosis factor-α و پروفایل لیپیدی آنان مورد سنجش قرار گرفت.

**یافته‌ها:** اختلاف معنی‌داری بین چهار گروه در میانگین سطوح NF-κβ ( $P = ۰/۰۴۰$ ) و hs-CPR ( $P = ۰/۰۲۰$ ) وجود داشت. بررسی سطح پروفایل لیپیدی نیز تفاوت معنی‌داری را در میانگین سطوح (LDL) Low-density lipoprotein ( $P < ۰/۰۰۱$ )، (HDL) High-density lipoprotein ( $P = ۰/۰۴۴۰$ ) و تری‌گلیسرید (Triglycerides یا TG) ( $P = ۰/۰۳۰$ ) بین چهار گروه نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** وابستگی به متادون بر سطح میانجی‌های التهابی تأثیر می‌گذارد و ممانتین در دز پایین توانست سطح آن‌ها را کاهش دهد. بنابراین، ممانتین می‌تواند در رویکرد جامع ضد اعتیاد برای درمان بیماران وابسته به اپیوئید که تحت درمان نگهدارنده با متادون (Methadone maintenance treatment یا MMT) قرار دارند، مطرح گردد.

**واژگان کلیدی:** متادون، میانجی‌های التهابی، ممانتین، رت

**ارجاع:** مرتضوی بهاره، طاهر گورابی زویا، مهرپور امید، مودی میترا. اثر دزهای پایین ممانتین بر سطح سرمی میانجی‌های التهابی در رت‌های وابسته

به متادون. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۲۳): ۳۹۲-۳۹۹

ایران که در مسیر تجاری اپیوم واقع شده است نیز بالاترین میزان

مصرف اپیات را در سراسر دنیا دارد (۱).

بر اساس نتایج، تخمین زده می‌شود که ۲۳۰ میلیون نفر (یک نفر

از هر ۲۰ فرد بالغ) حداقل یک بار در سال یک داروی غیر مجاز را

مصرف می‌کنند و ۱/۷ بستری‌ها به ازای هر ۱۰۰ هزار نفر به منظور

درمان اختلالات مصرف دارو و الکل می‌باشد (۲). مطابق با آمارهای

رسمی، ۱/۳۵ میلیون سوء مصرف‌کننده‌ی دارو در ایران وجود دارد

(۳) و بر اساس آمار سازمان پزشکی قانونی ایران

### مقدمه

مصرف اپیوئیدها، یکی از معضلات عمده و چالش‌برانگیز بهداشتی با

طیف وسیعی از عوارض فیزیکی، روانی و روان‌پزشکی در سراسر

دنیا به شمار می‌رود (۱). این مواد، سومین گروه داروهای وسیع

مصرف شده بعد از محرک‌های نوع کانابیس و آفتامین می‌باشد. در

بین اپیوئیدها، اپیات‌ها مضرترین و چالش‌برانگیزترین مواد مصرف

شده توسط ۱۲ تا ۲۱ میلیون فرد در سراسر دنیا است. بالاترین میزان

مصرف اپیات‌ها در کشورهای آسیای جنوب غربی گزارش شده و

۱- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات مسمومیت‌ها و سوء مصرف مواد و گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات مسمومیت‌ها و سوء مصرف مواد و گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت و گروه آموزش بهداشت و ارتقای سلامت، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

Email: z.tahergorabi@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤؤل: زویا طاهر گورابی

اپوئیدها از جنبه‌ی دیگری هم بسیار مهم است و همان‌گونه که پیش‌تر نیز به آن اشاره شد، اعتیاد اغلب به صورت مزمن و طولانی مدت در افراد مشاهده می‌شود که خود می‌تواند با عوارض جانبی بسیار بیشتری همراه باشد (۱۰). بنابراین، مطالعه‌ی حاضر با هدف یافتن دز پایین و مؤثر ممانتین در کاهش وابستگی به متادون در برنامه‌های MMT طراحی و اجرا گردید. حتی یافتن پایین‌ترین دز می‌تواند مطلوب‌ترین حالت باشد که تحقیقات و بررسی‌های بیشتری را می‌طلبد.

از آن‌جایی که التهاب و نورودژنراسیون هر دو به عنوان مکانیزم‌های اعتیاد مطرح می‌شوند، ترکیبی که هر دو اثر ضد التهابی و محافظت‌کننده‌ی سیستم عصبی را داشته باشد، ممکن است در این زمینه مؤثر باشد (۱۱). در تحقیق حاضر، ممانتین که یک آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده‌ی NMDA برای درمان اختلال حافظه در بیماران مبتلا به آلزایمر می‌باشد، مورد استفاده قرار گرفت. نتایج پژوهشی نشان داد که ممانتین بر شاخص‌های دوپامینرژیک و انتقال دهنده‌های عصبی نورآدرنژیک و سروتونرژیک نیز تأثیر می‌گذارد (۱۲).

در مطالعه‌ی Chen و همکاران، تست ترجیح مکانی شرطی شده (Conditioned place preference یا CPP) بر روی رت‌های اسپراگ داوولی برای ارزیابی رفتار اعتیاد القا شده توسط دارو بررسی گردید. رت‌ها مورفین را به صورت داخل صفاقی یک بار در روز به مدت ۶ روز (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت کردند و سپس مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور ارزیابی اثر ممانتین، مقادیر صفر، ۰/۰۴، ۰/۲ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم از دارو را به صورت زیرجلدی ۳۰ دقیقه قبل از تزریق هر مورفین یک بار در روز به مدت ۶ روز دریافت کردند. نتایج نشان داد که دز پایین (۱-۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ممانتین به طور معنی‌داری ترجیح مکانی القا شده توسط مورفین مزمن را کاهش می‌دهد. پس از ۶ روز درمان با مورفین، سطح سرمی Interleukin-۶ (IL-۶) و IL-1β به طور معنی‌داری افزایش یافت و همچنین، افزایش معنی‌داری در mRNA IL-۶ و mRNA IL-1β هسته‌ی آکومبسنس و کورتکس پره‌فرونتال مدیال مشاهده گردید و سطح Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) به طور معنی‌داری در سرم و مغز کاهش یافت. پیش‌درمانی با دز پایین ممانتین به طور معنی‌داری افزایش القا شده بر اثر مورفین مزمن در سطح سیتوکین‌های سرم و مغز را کاهش داد (۱۳).

در تحقیق Chan و همکاران که بر روی گروه معتاد به هروئین (۳۴ نفر) و گروه شاهد سالم (۲۰ نفر) انجام شد، تولید سیتوکین‌های IL-۱۰، IL-۸، IL-۶، IL-1β و Tumor necrosis factor-α (TNF-α) با استفاده از روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) بررسی گردید. نتایج نشان داد که سطح IL-۸، IL-۶ و

(Iranian Legal Medicine Organization یا ILMO)، در سال ۲۰۱۳ روزانه ۸ نفر بر اثر مصرف دارو جان خود را از دست داده‌اند (۴). مسایل اجتماعی، پزشکی و اقتصادی ناشی از وابستگی به هروئین، بار سنگینی بر جامعه و خانواده تحمیل می‌کند و تلاش‌ها برای ترک معتادان به هروئین به دلیل میزان عود بالا و بروز علائم روانی شدید، اغلب با نتایج موفقیت‌آمیزی همراه نیست. بنابراین، جهت کنترل وابستگی به هروئین، درمان نگهدارنده با متادون (Methadone maintenance treatment یا MMT) از اواسط دهه‌ی ۱۹۶۰ درمان انتخابی در نظر گرفته شد. متادون یک آگونیست گیرنده‌ی اپوئید طولانی اثر سنتتیک می‌باشد (۵-۶). در ایران متادون از سال ۲۰۰۳ برای برنامه‌ی MMT و تسکین درد نیز به کار می‌رود. اگرچه جنبه‌های مثبت برنامه‌ی MMT مد نظر است، اما مطالعات اخیر جنبه‌های منفی آن از جمله مسمومیت‌های عمدی، سهوی و مرگ را در برخی موارد نشان داده‌اند (۷).

نتایج تحقیقات متعدد نشان داده است که ارتباطات دو سویه‌ای بین سیستم‌های عصبی، اندوکراین و ایمنی وجود دارد. سیستم عصبی مرکزی، سیستم ایمنی را به وسیله‌ی مسیرهای عصبی و نورواندوکراین تنظیم می‌نماید. سلول‌های ایمنی گیرنده‌ها را در انسان از محورهای مختلف به طور مستقیم از طریق سلول‌های ایمنی یا سیستم عصبی مرکزی با انتقال دهنده‌های متعدد تحریکی و مهارتی و مدیاتورهای بیوشیمیایی فعال می‌کند. در وضعیت استرس، اپوئیدها به درون بافت ملتهب آزاد می‌گردند و گیرنده‌های اپوئیدی محیطی را فعال می‌کنند که می‌تواند منجر به تسکین درد شود (۸).

از آن‌جایی که اعتیاد یک اختلال مزمن و چند عاملی است و می‌تواند با تغییرات رفتاری و مولکولی بسیاری همراه باشد، درمان‌های فارماکولوژیک به عنوان قسمتی از رویکرد جامع درمانی معتادان جهت کاهش عوارض و مرگ و میر مرتبط با اپوئیدها ضروری است. درمان‌های معمول کنونی ممکن است پیامدها را اصلاح کنند، اما هنوز نرخ عود بالاست و دارو درمانی در همه‌ی معتادان مؤثر نیست. بنابراین، درمان‌های جدید تحت بررسی است. از جمله این درمان‌ها در سالیان اخیر می‌توان به ممانتین اشاره کرد که گیرنده‌های N-methyl-D-aspartate (NMDA) را آنتاگونیست می‌کند و برای وابستگی به اپوئیدها پیشنهاد شده است؛ البته مکانیزم کامل عملکرد آن هنوز شناخته شده نیست و به مطالعات بیشتری نیاز دارد (۹). در همین رابطه، یافتن دزی از ممانتین که در وابستگی به اپوئیدها مؤثر باشد و دز بالایی نباشد، بسیار حایز اهمیت است؛ چرا که استفاده از دز بالای ممانتین نه فقط عوارض جانبی را افزایش می‌دهد، بلکه بررسی دقیق جزئیات مکانیزم عمل دارو را با مشکل مواجه می‌سازد. علاوه بر این، یافتن دز پایین ممانتین در وابستگی به

رت انجام شد. رت‌ها در جعبه‌های شفاف و قابل رؤیت قرار داده شدند و از نظر بروز علائم محرومیت (ترک دارو) بررسی شدند. رفتارهای ناشی از کمبود متادون شامل اختلال بلع، حرکات سریع و غیر طبیعی فک و ساییدن دندان‌ها، لرزش سر و اندام‌ها، پرش، اسهال، افتادگی پلک، وضعیت‌های غیر طبیعی بدن و تحریک‌پذیری می‌باشد که بر اساس پروتکل محرومیت (ترک دارو) از نظر بروز علائم کمبود دریافت متادون کنترل شدند (۱۵).

در پایان مطالعه با رعایت اصول اخلاقی Helsinki، رت‌ها کشته شدند و خون قلب آن‌ها برای اندازه‌گیری سطح High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP)، IL-6، فاکتور رونویسی Nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B)، TNF- $\alpha$  و پروفایل لیپیدی شامل کلسترول تام (Total cholesterol یا TC)، High-density lipoprotein (HDL)، Low-density lipoprotein (LDL)، و تری‌گلیسرید (Triglycerides یا TG) جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و سرم‌های به دست آمده در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

سطح سرمی hs-CRP با استفاده از کیت (Rat hs-CRP) ELISA شرکت Hangzhou Eastbiopharm، ایتالیا، سطح سرمی IL-6 با استفاده از کیت (Rat IL-6) ELISA شرکت Hangzhou Eastbiopharm، ایتالیا، سطح سرمی NF- $\kappa$ B با استفاده از کیت (Rat NF- $\kappa$ B) ELISA شرکت Hangzhou Eastbiopharm، ایتالیا، و سطح TNF- $\alpha$  نیز با استفاده از کیت (Rat TNF- $\alpha$ ) ELISA شرکت Hangzhou Eastbiopharm، ایتالیا اندازه‌گیری گردید. سطح سرمی TC، LDL، HDL و TG نیز با استفاده از Auto analyzer Prestige 24i (ژاپن) اندازه‌گیری شد. فرضیه‌ی نرمال بودن متغیرهای کمی با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی Least significant difference (LSD) استفاده شد. در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.  $P < 0/050$  به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

طرح حاضر با کد اخلاق IR.bums.REC.1396.241 در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بیرجند مورد تأیید قرار گرفت.

### یافته‌ها

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میانگین سطح فاکتور رونویسی NF- $\kappa$ B و پروتئین hs-CRP بین چهار گروه مورد بررسی مشاهده گردید ( $P < 0/050$ ). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی LSD، این اختلاف در NF- $\kappa$ B بین گروه متادون با گروه

IL-1 $\beta$  به طور معنی‌داری در گروه بیماران MMT نسبت به گروه شاهد سالم بالاتر بود (به ترتیب  $P < 0/050$ ،  $P < 0/050$  و  $P < 0/010$ ). سطح TNF- $\alpha$  و IL-6 ارتباط معنی‌داری با دوز روزانه‌ی متادون تجویز شده داشت ( $r = 0/375$ ،  $P = 0/030$ ) و IL-1 $\beta$  به طور معنی‌داری با مدت زمان درمان MMT مرتبط بود ( $r = 0/453$ ،  $P < 0/010$ ) (۶).

از بین اپیوئیدها، مطالعات وابستگی بر روی مورفین با دز پایین انجام شده است، اما در مورد متادون تحقیقات بسیار اندکی وجود دارد. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف تعیین اثر دزهای پایین ممانتین بر سطح سرمی میانجی‌های التهابی در رت‌های وابسته به متادون انجام گردید.

### روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی بر روی ۴۰ رت ویستار نر با وزن ۳۵۰-۳۰۰ گرم که به چهار گروه تقسیم شدند، انجام شد. رت‌ها در مرکز طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند در شرایط مساعد استاندارد (دمای  $25 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵-۴۰ درصد، ۱۲ ساعت دوره‌ی روشنایی / تاریکی) نگهداری شدند. در طول دوره‌ی زمانی تحقیق، حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. سپس جهت آماده‌سازی و تطابق با شرایط محیط، یک هفته قبل از شروع مطالعه به محیط نگهداری حیوانات منتقل شدند و تغذیه با رژیم غذایی استاندارد برای آن‌ها انجام گردید. رت‌ها به طور تصادفی در چهار گروه ده‌تایی قرار گرفتند و با ترازوی استاندارد وزن شدند و قند خون ناشتای آن‌ها از قسمت دم به وسیله‌ی گلوکومتر اندازه‌گیری گردید. سپس در همه‌ی گروه‌ها مداخلات در طی ۱۰ روز صورت گرفت.

گروه اول (گروه وابسته به متادون) پودر متادون (شرکت دارویی فاران شیمی، ایران) را به صورت روزانه و محلول در نرمال سالین به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به روش داخل صفاقی دریافت کردند (۱۴). در گروه دوم، هر بار ۳۰ دقیقه قبل از تزریق ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن متادون، ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین (شرکت Sigma، آمریکا) به صورت تزریق زیرجلدی انجام شد (۱۱). گروه سوم نیز هر بار ۳۰ دقیقه قبل از تزریق ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن متادون، ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین به صورت تزریق زیرجلدی دریافت نمودند. به رت‌های گروه چهارم (گروه شاهد) در طول ۱۰ روز به روش داخل صفاقی نرمال سالین تزریق گردید.

در گروه وابسته به متادون جهت اطمینان از ایجاد وابستگی پس از دوره‌ی ۱۰ روزه، ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق داخل صفاقی نالوکسان هیدروکلراید (شرکت دارویی کاسپین، ایران) که دز لازم برای ایجاد محرومیت (ترک دارو) می‌باشد، بر روی دو

جدول ۱. مقایسه‌ی میانگین سطح شاخص‌های التهابی در گروه‌های مورد بررسی

متغیر	گروه	متادون (گروه اول)	متادون + ۱ میلی گرم بر کیلوگرم ممانتین (گروه دوم)	متادون + ۲ میلی گرم بر کیلوگرم ممانتین (گروه سوم)	شاهد (گروه چهارم)	آزمون ANOVA	
						مقدار P	آماره‌ی F
TNF- $\alpha$ (پیکوگرم بر میلی لیتر)		124/15 $\pm$ 13/01	146/98 $\pm$ 12/01	113/5 $\pm$ 11/91	146/63 $\pm$ 19/54	1/12	0/350
IL-6 (پیکوگرم بر میلی لیتر)		138/19 $\pm$ 15/01	153/59 $\pm$ 19/61	119/40 $\pm$ 15/24	156/49 $\pm$ 21/79	0/73	0/530
NF-kB (پیکوگرم بر میلی لیتر)		3/53 $\pm$ 0/13	2/98 $\pm$ 0/12	2/41 $\pm$ 0/19	3/42 $\pm$ 0/41	3/15	#0/040
hs-CRP (پیکوگرم بر میلی لیتر)		253/24 $\pm$ 10/55	203/01 $\pm$ 16/91	176/83 $\pm$ 10/17	210/09 $\pm$ 16/73	3/74	§0/020

$P < 0/050^*$  سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار گزارش شده است.

<sup>#</sup> تفاوت بین گروه اول با گروه سوم ( $P = 0/010$ ) و گروه سوم با چهارم ( $P = 0/010$ ) وجود داشت.

<sup>§</sup> تفاوت بین گروه اول با گروه دوم ( $P = 0/020$ ) و گروه اول با گروه سوم ( $P = 0/003$ ) وجود داشت.

TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; IL-6: Interleukin-6; NF-kB: Nuclear factor kappa B; hs-CRP: High-sensitivity C-reactive protein

( $P = 0/030$ ). نتایج آزمون تعقیبی LSD حاکی از آن بود که سطح TG در گروه‌های ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (به ترتیب  $P = 0/040$  و  $P = 0/006$ ). تفاوت معنی‌داری در میانگین سطح HDL بین گروه‌ها وجود داشت ( $P = 0/040$ ). آزمون تعقیبی LSD نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین با گروه متادون مشاهده گردید ( $P = 0/009$ ), اما تفاوت معنی‌داری در میانگین سطح TC بین چهار گروه مورد بررسی وجود نداشت ( $P = 0/200$ ) (جدول ۲).

### بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در رت‌های درمان شده با دز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین زیرجلدی ۳۰ دقیقه قبل از هر تزریق متادون، سطح سرمی hs-CRP و NF-kB به طور معنی‌داری در رت‌های درمان شده با ممانتین نسبت به گروه شاهد و متادون به ترتیب کاهش یافت.

متادون + ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین ( $P = 0/010$ ) و گروه متادون + ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین با گروه شاهد ( $P = 0/010$ ) وجود داشت. همچنین، میانگین سطح hs-CRP در گروه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین ( $P = 0/020$ ) و گروه ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین ( $P = 0/003$ ) به طور معنی‌داری کمتر از گروه متادون بود، اما اختلاف معنی‌داری در میانگین سطح سرمی TNF- $\alpha$  و IL-6 بین چهار گروه مورد بررسی مشاهده نشد ( $P > 0/050$ ) (جدول ۱).

بررسی سطح پروفایل لیپیدی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میانگین سطح LDL بین چهار گروه مورد بررسی وجود داشت ( $P \leq 0/001$ ). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی LSD سطح LDL در هر دو دز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین ( $P \leq 0/001$ ) و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین ( $P = 0/030$ ) و گروه متادون ( $P \leq 0/001$ ) نسبت به گروه شاهد بالاتر بود. همچنین، سطح LDL در گروه ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین نسبت به گروه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین به طور معنی‌داری کمتر بود ( $P = 0/030$ ). اختلاف معنی‌داری در میانگین سطح TG بین چهار گروه مورد بررسی مشاهده گردید.

جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین سطح پروفایل لیپیدی در گروه‌های مورد بررسی

متغیر	گروه	متادون (گروه اول)	متادون + ۱ میلی گرم بر کیلوگرم ممانتین (گروه دوم)	متادون + ۲ میلی گرم بر کیلوگرم ممانتین (گروه سوم)	شاهد (گروه چهارم)	آزمون ANOVA	
						مقدار P	آماره‌ی F
LDL (میلی‌مول بر لیتر)		5/14 $\pm$ 0/41	5/00 $\pm$ 0/44	3/71 $\pm$ 0/52	2/50 $\pm$ 0/22	10/83	# $\leq$ 0/001
TG (میلی‌مول بر لیتر)		40/28 $\pm$ 3/83	40/22 $\pm$ 5/12	45/85 $\pm$ 4/79	29/30 $\pm$ 1/95	3/23	§0/030
HDL (میلی‌مول بر لیتر)		41/57 $\pm$ 0/71	35/44 $\pm$ 1/11	37/14 $\pm$ 2/41	39/50 $\pm$ 1/44	3/06	€0/040
TC (میلی‌مول بر لیتر)		65/57 $\pm$ 1/92	56/66 $\pm$ 2/53	61/85 $\pm$ 6/01	64/70 $\pm$ 3/02	1/36	0/270

$P < 0/050^*$  سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار گزارش شده است.

<sup>#</sup> تفاوت بین گروه اول با گروه چهارم ( $P = 0/001$ ), گروه دوم با چهارم ( $P = 0/001$ ) و گروه سوم با گروه چهارم ( $P = 0/030$ ) وجود داشت.

<sup>€</sup> تفاوت بین گروه دوم با گروه چهارم ( $P = 0/040$ ) و گروه سوم با گروه چهارم ( $P = 0/006$ ) وجود داشت.

<sup>§</sup> تفاوت بین گروه اول با گروه دوم ( $P = 0/009$ ) وجود داشت.

LDL: Low-density lipoprotein; TG: Triglycerides; HDL: High-density lipoprotein; TC: Total cholesterol

کاهش دز متادون لازم در بیماران وابسته به اپیوئید مؤثر باشد. این یافته با نتایج پژوهشی در تایوان که بر روی افراد وابسته به اپیوئید که پیش‌تر تحت درمان با MMT نبودند و بعد تحت درمان با آن قرار گرفتند (۲۳)، مطابقت داشت. در مطالعه‌ی مذکور، بیماران به طور تصادفی به دو گروه دارونما شامل ۷۵ نفر (متادون + کپسول دارونما روزانه) و ممانتین شامل ۵۳ نفر (متادون + ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کپسول روزانه‌ی آهسته رهش ممانتین) قرار گرفتند و به مدت ۱۲ هفته تحت درمان بودند. پس از ۱۲ هفته، گروهی که ممانتین دریافت کرده بودند، دز متادون کمتری نسبت به گروه دارونما نیاز داشتند و سطح  $TNF-\alpha$  پایین‌تر و  $\beta$ -Transforming growth factor (TGF- $\beta$ ) بالاتری را نشان دادند (۲۳). بنابراین، دز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین با مکانیسم ضد التهابی، ممکن است در اثرات ضد اعتیادی برای متادون در بررسی حاضر نیز نقش داشته باشد. لازم به ذکر است که سه رت در طول درمان با ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین مردند که ممکن است به دلیل اثر ضد اعتیاد ممانتین و کاهش ندادن دز متادون توسط محقق در ادامه‌ی درمان باشد.

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، سطح LDL در گروه متادون نسبت به گروه شاهد بالاتر و در گروه ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین نسبت به کنترل شاهد بود. میزان TG نیز در گروه ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین بیشتر از گروه شاهد گزارش شد. همچنین، سطح HDL در گروه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین پایین‌تر از گروه شاهد بود. پژوهشی بر روی بیماران مبتلا به اختلال دو قطبی که به طور تصادفی در دو گروه تحت درمان با والپروات + ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین (۶۲ نفر) و گروه دارونما به صورت والپروات + دارونما (۷۱ نفر) قرار گرفتند، به مدت ۱۲ هفته انجام شد. اضافه کردن ممانتین به والپروات در اختلال دو قطبی، سطح HDL-C را افزایش داد (۲۴) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مشابهت نداشت و تحقیق همسویی یافت نشد.

از آنجایی که التهاب به عنوان یکی از مکانیسم‌های اعتیاد مطرح می‌باشد، تغییرات لیپوپروتئین‌ها، آدیپوکین‌ها، اسیدهای چرب آزاد و همچنین، CRP که در پاسخ سیستمیک به التهاب تولید می‌شود، با عوامل التهابی در ارتباط می‌باشد (۱۸).

گزارش شده است که MMT سطح هورمون‌های مشتق از بافت چربی (آدیپوکین‌ها) را تغییر می‌دهد. آدیپونکتین یک پروتئین اختصاصی مشتق از بافت چربی با اثرات ضد التهابی و ضد آتروژنیک می‌باشد (۲۵). پژوهش‌های مقطعی پیشین نشان داده است که غلظت آدیپونکتین در گردش خون، همبستگی منفی با سطح TG سرم و همبستگی مثبتی با غلظت HDL دارد و سطوح پایین آدیپونکتین با سطوح بالای LDL و TG در ارتباط است (۲۶). همچنین، نتایج

اپیوئیدها منجر به بروز پاسخ‌های التهابی و استرس اکسیداتیو می‌شوند. تغییرات میانجی‌های پیش‌التهابی ممکن است با پاتوفیزیولوژی وابستگی به اپیوئید در ارتباط باشد. شواهدی از مطالعات حیوانی و انسانی در شرایط آزمایشگاهی و یا در بدن نشان می‌دهد که سوء مصرف اپیوئید ممکن است اثرات مغایر تنظیمی بر روی پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی داشته باشد (۱۷-۱۶).

CRP یک پروتئین پتایمریک حلقوی است که سطح آن در پاسخ به التهاب در پلاسما خون افزایش می‌یابد. یک پروتئین فاز حاد که به دنبال ترشح IL-6 توسط ماکروفاژها و سلول‌های T افزایش می‌یابد و ارتباط آن با بیماری‌های روان‌پزشکی (۱۸) و در پژوهش حاضر با اعتیاد نیز تأیید شده است. در تحقیق Chang و همکاران که بر روی ۱۹۱ بیمار مبتلا به اختلال دو قطبی انجام شد، بیماران به مدت ۱۲ هفته درمان والپروات + دارونما و والپروات + ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین را دریافت نمودند. در گروه با CRP بالا، بیماران گروه والپروات + ممانتین کاهش معنی‌دار سطح CRP را در مقایسه با گروه والپروات + دارونما نشان دادند (۱۹) که با نتایج بررسی حاضر همخوانی داشت و پژوهش ناهمسوئی یافت نشد.

NF- $\kappa$ B یک فاکتور رونویسی با نقش‌های متفاوت در سلول‌های پستانداران می‌باشد. اگرچه بیشتر در تنظیم فرایند التهاب و ایمنی معرفی شده، اما ژن‌های هدف زیادی برای آن شناخته شده است که می‌تواند بر رفتارهای پیچیده‌ای مانند حافظه و یادگیری، اعتیاد و افسردگی تأثیر بگذارد. فعالیت NF- $\kappa$ B با سوء مصرف داروهای القای می‌شود و یک مدیاتور سلول‌های اصلی نوروآدپتاسیون (تطابق عصبی) می‌باشد که به دنبال مواجهه‌ی طولانی مدت با داروهای القای می‌گردد. NF- $\kappa$ B بیان سیتوکین‌ها و مدیاتورهای التهابی و همچنین، بیان اپیوئیدها، گیرنده‌های اپیوئیدی و دیگر نوروپپتیدها که در مکانیسم سوء مصرف مواد و اعتیاد شرکت می‌کنند را افزایش می‌دهد (۲۱-۲۰). ممانتین در مطالعه‌ی حاضر توانست با دز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح NF- $\kappa$ B را کاهش دهد که می‌تواند با اثرات ضد اعتیادی برای متادون در ارتباط باشد.

در این زمینه می‌توان اضافه کرد که از لحاظ کلینیکی، بیمارانی که سوء مصرف اپیوئید دارند ممکن است MMT را برای سال‌ها ادامه دهند که خود می‌تواند منجر به تحمل متادون گردد. علاوه بر این، متادون نوروتوکسیک می‌باشد و مصرف مزمن آن ممکن است به انتقال دهنده‌های دوپامین جسم مخطط آسیب برساند و عملکرد شناختی را مختل نماید. بنابراین، مصرف طولانی مدت متادون و MMT ممکن است با سوء عملکرد مغز و اختلال ساختاری آن همراه باشد. پس این مسئله به کنترل و توجه بیشتری نیاز دارد (۲۲). ممانتین با اثر ضد التهابی که در تحقیق حاضر نشان داد، ممکن است بتواند در

درباره‌ی تمایل شدید به مصرف مواد (Craving) مرتبط است (۳۰). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که دو دز ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممانتین یک یا هر دو سطح شاخص‌های التهابی hs-CRP و NF-κB را در رت‌های وابسته به متادون کاهش داد. با توجه به این که التهاب و نورودژنراسیون هر دو به عنوان مکانیزم‌های اعتیاد مطرح می‌شوند، ترکیبی که در دزهای پایین بتواند هر دو اثر ضد التهابی و محافظت‌کننده‌ی سیستم عصبی را داشته باشد، ممکن است در این زمینه مؤثر باشد. بنابراین، اثرات ضد التهابی ممانتین که در بررسی حاضر نشان داده شد و اثرات محافظت‌کننده‌ی سیستم عصبی آن که در پژوهش‌های پیشین و در درمان آلزایمر مشخص شده بود، ممکن است بتواند به عنوان یک مکانیزم ضد اعتیاد (Anti-addictive) برای وابستگی به متادون مطرح گردد.

### تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری حرفه‌ای با شماره‌ی ۴۵۵۳۸۳، مصوب دانشگاه علوم پزشکی بیرجند می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند به جهت همکاری و حمایت مالی در انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند.

مطالعه‌ی Silver و همکاران نشان داد که لپتین کلیرانس HDL کلسترول را تنظیم می‌کند (۲۷). تغییرات سطح لپتین در افراد وابسته، می‌تواند بر روی سطح لیپیدهای سرم تأثیر بگذارد. بنابراین، می‌توان کاهش سطح HDL و افزایش سطح LDL و TG در تحقیق حاضر را به تغییرات سطح آدیپونکتین و لپتین نسبت داد که با تجویز ممانتین در گروه‌های مورد بررسی، همان افزایش سطح LDL و TG و کاهش سطح HDL مشاهده می‌شود و تأثیری در تغییر پروفایل لیپیدی نداشته است که شاید این عدم تأثیر را بتوان به دزهای مصرفی ممانتین نسبت داد.

نتایج پژوهش‌های قبلی حاکی از آن است که لیپیدها اعمال مرتبط با سوء مصرف مواد دارند و پیشنهاد شده است که می‌تواند به عنوان نشانگر بالقوه‌ی رفتارهای سایکولوژیک مرتبط با سوء مصرف مواد باشند. از جمله اعمالی که در ارتباط با سوء مصرف مواد به لیپیدها نسبت می‌دهند می‌توان به عمل نورومدولاتوری در پلاستیسیته سیناپسی، نقش در تغییرات فنوتیپی اختلال در ساختار غشا و اثر بر سطح سروتونین در گردش خون و تغییرات سطح اسیدهای چرب (۲۸-۲۹) اشاره کرد. مطالعه‌ای به تازگی بر روی ۷۰ مصرف‌کننده‌ی هروئین که تحت درمان MMT قرار داشتند، انجام شد و به این نتیجه دست یافت که سطح TC و LDL با فراشناخت

### References

1. Shekarchizadeh H, Ekhtiari H, Khami MR, Virtanen JI. Patterns of pre-treatment drug abuse, drug treatment history and characteristics of addicts in methadone maintenance treatment in Iran. *Harm Reduct J* 2012; 9: 18.
2. World Health Organization. Management of substance abuse: Forum on alcohol, drugs and addictive behaviour [Online]. [cited 2017 Jun 6]; Available from: URL: [https://www.who.int/substance\\_abuse/en/](https://www.who.int/substance_abuse/en/)
3. Shamsalinia A, Norouzi K, Fallahi-Khoshknab M, Farhoudian A, Ghaffari F. Experiences of substance abusers from methadone maintenance therapy. *Med J Islam Repub Iran* 2017; 31: 45.
4. Mokri A, Norouzi A. Protocol on management of opioid dependence with methadone. 3rd ed. Tehran, Iran: The Office for Prevention and Treatment of Substance Abuse, Psycho-Social Health and Addiction Office; 2014. [In Persian].
5. Mokri A, Schottenfeld R. Drug abuse and HIV transmission in Iran responding to the public health challenges. In: Celentano DD, Beyrer C, editors. *Public health aspects of HIV/AIDS in low and middle income countries: Epidemiology, prevention and care*. New York, NY: Springer; 2009. p. 583-99.
6. Chan YY, Yang SN, Lin JC, Chang JL, Lin JG, Lo WY. Inflammatory response in heroin addicts undergoing methadone maintenance treatment. *Psychiatry Res* 2015; 226(1): 230-4.
7. Ministry of Health and Medical Education. Statistics of methadone production. Tehran, Iran: Ministry of Health and Medical Education; 2013. [In Persian].
8. Sacerdote P. Opioids and the immune system. *Palliat Med* 2006; 20(Suppl 1): S9-15.
9. Blanco-Gandia M, Montagud-Romero S, Rodriguez-Arias M. Present and future pharmacological treatments for opioid addiction. In: *Morphine*. IntechOpen; 2019.
10. Chang YH, Chen SL, Lee SY, Chen PS, Wang TY, Lee IH, et al. Low-dose add-on memantine treatment may improve cognitive performance and self-reported health conditions in opioid-dependent patients undergoing methadone-maintenance-therapy. *Sci Rep* 2015; 5: 9708.
11. Meijerink H, Indrati A, Utami F, Soedarmo S, Alisjahbana B, Netea MG, et al. Heroin use is associated with suppressed pro-inflammatory cytokine response after LPS exposure in HIV-infected individuals. *PLoS One* 2015; 10(4): e0122822.
12. Babic S, Ondrejckova M, Bakos J, Racekova E, Jezova D. Cell proliferation in the hippocampus and in the heart is modified by exposure to repeated stress and treatment with memantine. *J Psychiatr Res* 2012; 46(4): 526-32.
13. Chen SL, Tao PL, Chu CH, Chen SH, Wu HE, Tseng



- LF, et al. Low-dose memantine attenuated morphine addictive behavior through its anti-inflammation and neurotrophic effects in rats. *J Neuroimmune Pharmacol* 2012; 7(2): 444-53.
14. Pacesova D, Novotny J, Bendova Z. The effect of chronic morphine or methadone exposure and withdrawal on clock gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus and AA-NAT activity in the pineal gland. *Physiol Res* 2016; 65(3): 517-25.
  15. Pierce TL, Hope W, Raper C. The induction and quantitation of methadone dependence in the rat. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1996; 36(3): 137-46.
  16. Angelucci F, Ricci V, Pomponi M, Conte G, Mathe AA, Attilio TP, et al. Chronic heroin and cocaine abuse is associated with decreased serum concentrations of the nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. *J Psychopharmacol* 2007; 21(8): 820-5.
  17. Ghazavi A, Mosayebi G, Solhi H, Rafiei M, Moazzeni SM. Serum markers of inflammation and oxidative stress in chronic opium (Taryak) smokers. *Immunol Lett* 2013; 153(1-2): 22-6.
  18. Ahmed AS, Elgharabawy RM, Al-Najjar AH. Ameliorating effect of anti-Alzheimer's drugs on the bidirectional association between type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Exp Biol Med (Maywood)* 2017; 242(13): 1335-44.
  19. Chang HH, Chen PS, Wang TY, Lee SY, Chen SL, Huang SY, et al. Effect of memantine on C-reactive protein and lipid profiles in bipolar disorder. *J Affect Disord* 2017; 221: 151-7.
  20. Nennig SE, Schank JR. The Role of NFkB in Drug Addiction: Beyond Inflammation. *Alcohol Alcohol* 2017; 52(2): 172-9.
  21. Russo SJ, Wilkinson MB, Mazei-Robison MS, Dietz DM, Maze I, Krishnan V, et al. Nuclear factor kappa B signaling regulates neuronal morphology and cocaine reward. *J Neurosci* 2009; 29(11): 3529-37.
  22. Shi J, Zhao LY, Copersino ML, Fang YX, Chen Y, Tian J, et al. PET imaging of dopamine transporter and drug craving during methadone maintenance treatment and after prolonged abstinence in heroin users. *Eur J Pharmacol* 2008; 579(1-3): 160-6.
  23. Lee SY, Chen SL, Chang YH, Chen PS, Huang SY, Tzeng NS, et al. Low-dose memantine attenuated methadone dose in opioid-dependent patients: a 12-week double-blind randomized controlled trial. *Sci Rep* 2015; 5: 10140.
  24. Lee SY, Chen SL, Chang YH, Chen PS, Huang SY, Tzeng NS, et al. Add-on memantine to valproate treatment increased HDL-C in bipolar II disorder. *J Psychiatr Res* 2013; 47(10): 1343-8.
  25. Yoon SJ, Lee HS, Lee SW, Yun JE, Kim SY, Cho ER, et al. The association between adiponectin and diabetes in the Korean population. *Metabolism* 2008; 57(6): 853-7.
  26. Ryo M, Nakamura T, Kihara S, Kumada M, Shibazaki S, Takahashi M, et al. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ J* 2004; 68(11): 975-81.
  27. Silver DL, Jiang XC, Tall AR. Increased high density lipoprotein (HDL), defective hepatic catabolism of ApoA-I and ApoA-II, and decreased ApoA-I mRNA in ob/ob mice. Possible role of leptin in stimulation of HDL turnover. *J Biol Chem* 1999; 274(7): 4140-6.
  28. Hillard CJ. Lipids and drugs of abuse. *Life Sci* 2005; 77(14): 1531-42.
  29. Buydens-Branch, Branche M. Association between low plasma levels of cholesterol and relapse in cocaine addicts. *Psychosom Med* 2003; 65(1): 86-91.
  30. Lin SH, Yang YK, Lee SY, Hsieh PC, Chen PS, Lu RB, et al. Association between cholesterol plasma levels and craving among heroin users. *J Addict Med* 2012; 6(4): 287-91.

## The Effect of Low Doses of Memantine on Serum Levels of Inflammatory Mediators in Methadone-Dependent Rats

Bahareh Mortazavi<sup>1</sup>, Zoya Tahergorabi<sup>2</sup>, Omid Mehrpour<sup>3</sup>, Mitra Moodi<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Opioid abuse is a major and challenging public health problem with a broad range of physical, mental, and psychiatric consequences worldwide. This study was designed to evaluate the effect of low doses of memantine on serum levels of inflammatory mediators in methadone-dependent rats.

**Methods:** This study was performed on 40 male wistar rats weighing 300-350 grams in four groups (n = 10). The rats were weighed at the beginning and the end of the study, and fasting blood glucose was measured by glucometer. Within 10 days, one group received intraperitoneal methadone 5 mg/kg, two groups received memantine 30 minutes before methadone injection subcutaneously 1 and 2 mg/kg, respectively, and the last group received normal saline. At the end, rats were sacrificed, and serum levels of high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6), and lipid profiles were measured.

**Findings:** There was a significant difference between the four groups in the mean level of NF $\kappa$ B (P = 0.040) and hsCPR (P = 0.020). There was a significant difference between lipid profiles in mean levels of low-density lipoprotein (LDL) (P < 0.001), high-density lipoprotein (HDL) (P = 0.040), and triglyceride (P = 0.030).

**Conclusion:** Our results showed that dependence on methadone affects the level of inflammatory mediators, and memantine could reduce these levels. Therefore, memantine can be considered as a new anti-addiction approach in the treatment of opioid-dependent patients who are on methadone maintenance treatment (MMT).

**Keywords:** Methadone, Inflammation mediators, Memantine, Rat

**Citation:** Mortazavi B, Tahergorabi Z, Mehrpour O, Moodi M. **The Effect of Low Doses of Memantine on Serum Levels of Inflammatory mediators in Methadone-Dependent Rats.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(523): 392-9.

1- Student Medicine, Student Research Committee, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

2- Associate Professor, Medical Toxicology and Drug Abuse Research Center (MTDRC) AND Department of Physiology, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

3- Associate Professor, Medical Toxicology and Drug Abuse Research Center (MTDRC) AND Department of Internal Medicine, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

4- Associate Professor, Social Determinants of Health Research Center AND Department of Health Education and Promotion, School of Health, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

**Corresponding Author:** Zoya Tahergorabi, Email: z.tahergorabi@yahoo.com