

نقش نواحی قشر جلوی پیشانی و تگمنتوم شکمی بر علائم سندرم ترک در موش‌های صحرایی نر معتاد به مرفین

عسل کراماتیان^۱، حجت‌اله علایی^۲، اکرم عیدی^۳، مریم راداحمدی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: از عوامل مشکل‌ساز در درمان اعتیاد، پدیده‌ی عود علائم ترک در فرد معتاد می‌باشد. نواحی شکل‌دهنده‌ی مسیر پاداشی مغز مانند قشر جلوی پیشانی و ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی در ایجاد وابستگی و علائم ترک دخیل می‌باشند. این مطالعه، جهت بررسی ارتباط این نواحی در بروز و تخفیف علائم ترک، تحریک و تخریب الکتریکی ناحیه‌ی قشر جلوی پیشانی (Medial prefrontal cortex یا mPFC) و همچنین، بلوکه کردن گیرنده‌های گلوتاماتی در ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی (Ventral tegmental area یا VTA) انجام گردید.

روش‌ها: در یک مطالعه‌ی تجربی، از ۴۲ سر موش صحرایی نر با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم در شش گروه هفت‌تایی شامل گروه‌های شاهد، مرفین، دریافت‌کننده‌ی تحریک و تخریب الکتریکی در ناحیه‌ی mPFC و گروه‌های دریافت‌کننده‌ی میکرواینجکشن آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتاماتدر ناحیه‌ی VTA استفاده گردید. تمامی گروه‌ها، (غیر از گروه شاهد)، مرفین درون صفاقی را به مدت نه روز طبق شیوه‌نامه دریافت کردند. سپس، در روز دهم نشانگان ترک در حیوانات بررسی گردید.

یافته‌ها: تحریک الکتریکی ناحیه‌ی mPFC، سبب افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) رفتارهای چرخش و خاراندن و کشش بدن ($P < 0.01$) نسبت به گروه مرفین گردید. در حالی که تخریب این ناحیه و همچنین، میکرواینجکشن آنتاگونیست‌های گلوتاماتی در VTA، منجر به کاهش معنی‌دار کلیه‌ی علائم سندرم ترک مرفین در موش‌های صحرایی شد.

نتیجه‌گیری: تحریک الکتریکی ناحیه‌ی mPFC علائم سندرم ترک در موش‌های صحرایی معتاد را افزایش داد که به احتمال قوی، از طریق افزایش انتقالات گلوتاماترژیک به ناحیه‌ی VTA و تقویت مسیر پاداشی میسر گردیده بود. در صورتی که احتمال می‌رود تخریب این ناحیه و بلوکه کردن گیرنده‌های گلوتاماتی، با تضعیف ارسال‌ات گلوتاماترژیک، منجر به کاهش وابستگی به مرفین گردیده است.

واژگان کلیدی: قشر جلوی پیشانی؛ ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی؛ سندرم ترک

ارجاع: کراماتیان عسل، علایی حجت‌اله، عیدی اکرم، راداحمدی مریم. نقش نواحی قشر جلوی پیشانی و تگمنتوم شکمی بر علائم سندرم ترک در موش‌های صحرایی نر معتاد به مرفین. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۹۴): ۷۴۴-۷۳۶.

منجر به تغییرات ماندگار عملکرد سیناپس‌ها در مواجهه با داروهای اپیوئیدی به وقوع می‌پیوندد. از این رو، منجر به آسیب‌پذیری بیشتر فرد معتاد در غیاب مصرف مخدر می‌گردد (۱)؛ به گونه‌ای که سبب ظهور سندرم ترک همراه با علائم جسمانی و روانی آزار دهنده همچون تهوع و استفراغ، دردهای مفصلی و عضلانی، ریزش اشک، تعریق، بی‌خوابی، تحریک‌پذیری، اضطراب، استرس و افسردگی می‌گردد (۲).

مقدمه

اعتیاد همواره به عنوان یکی از بزرگ‌ترین معضلات جامعه می‌باشد؛ به گونه‌ای که عوارض مصرف مخدرها به شکلی مزمن و عودکننده برای سال‌های متمادی در فرد معتاد باقی می‌ماند. مطالعات نشان دادند مصرف مخدرها مانند مرفین با برانگیختن مکانیسم‌های سازشی در مغز، منجر به تغییراتی در سیستم‌های نوروترانسمیتری در نواحی مختلف مغزی می‌گردد و در نهایت،

۱- دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حجت‌اله علایی؛ استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

به صورت الگوی دز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در سه روز اول، دز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در سه روز دوم و دز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در سه روز سوم دریافت کردند.

- گروه مرفین- تحریک (جراحی + مرفین + تحریک الکتریکی): حیوانات تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند و سپس، مرفین را مطابق الگوی گروه مرفین دریافت کردند و پس از هر بار دریافت مرفین، تحریک الکتریکی ناحیه‌ی mPFC دریافت کردند.

- گروه مرفین- تخریب (جراحی + مرفین + تخریب الکتریکی): حیوانات تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند و سپس، ناحیه‌ی mPFC تخریب گردید و در ادامه، مرفین را مطابق الگوی گروه مرفین دریافت کردند.

- گروه مرفین- CNQX [جراحی + مرفین + CNQX یا آنتاگونیست α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)]: حیوانات تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند و روزانه پس از دریافت مرفین طبق الگوی گروه مرفین، میکرواینجکشن VTA در (CNQX) 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-Dione انجام گردید.

- گروه مرفین- AP5 [جراحی + مرفین + AP5 یا آنتاگونیست (NMDA) N-Methyl-D-aspartic acid]: حیوانات تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند و روزانه پس از دریافت مرفین طبق الگوی گروه مرفین، میکرواینجکشن VTA در (AP5) DL-2-amino-5-phosphonopentanoic acid انجام گردید.

- گروه مرفین- DMSO (جراحی + مرفین + Dimethyl sulfoxide) یا (DMSO): حیوانات تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند و روزانه پس از دریافت مرفین طبق الگوی گروه مرفین، میکرواینجکشن DMSO در VTA انجام گردید.

- گروه مرفین- سالین (جراحی + مرفین + سالین): حیوانات تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند و روزانه پس از دریافت مرفین طبق الگوی گروه مرفین، میکرواینجکشن سالین در VTA انجام گردید.

داروها: طی آزمایش داروهای متفاوت استفاده گردید. مرفین هیدروکلراید (شرکت تماد ایران)، دزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت درون صفاقی و کتامین- زایلانزین (Merck, Germany) با دز ۵۰ و ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم در محلول نرمال سالین حل گردیدند و به شکل درون صفاقی به موش‌های صحرائی تزریق شد. دزهای ۰/۵ میکرولیتر و ۲/۵ میکروگرم (Sigma, USA) CNQX در

بنابراین، یافتن راهی برای کاهش علائم سندرم ترک در فرد معتاد کمک شایانی در جهت ترک اعتیاد و جلوگیری از عود آن خواهد داشت. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که در شکل‌گیری چرخه‌ی پاداش و اعتیاد ارتباط ویژه‌ای بین نواحی و هسته‌های مختلف مغز وجود دارد؛ به گونه‌ای که تحریک و تخریب قشر جلوی پیشانی میانی (Medial prefrontal cortex یا mPFC) در Rat‌های معتاد به مرفین منجر به تغییر غلظت نوروترانسمیترهایی مانند گلوتامات و گابا در ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی (VTA یا Ventral tegmental area) گردید که خود حاکی از ارتباطات ویژه بین این نواحی در شکل‌گیری اعتیاد می‌باشد (۳). همچنین، مطالعات بیانگر اهمیت سیستم دوپامینی مزولیمبیک در سیستم پاداشی مغز، اعتیاد به مرفین و پیرو آن، شکل‌گیری ارتباطات نوروترانسمیتری ویژه‌ای بین نواحی mPFC، VTA و هسته‌ی اکومبوس می‌باشد؛ به گونه‌ای که افزایش انتقال دوپامینرژیک از ناحیه‌ی VTA به نواحی mPFC و هسته‌ی اکومبوس روی می‌دهد (۴). مطالعه‌ی دیگری نشان داد تزریق آنتاگونیست‌های گلوتاماتی به ناحیه‌ی VTA ترجیح مکانی ناشی از مرفین در Rat‌ها را کاهش می‌دهد (۵). به نظر می‌رسد در زمان قطع مصرف مخدر، توازن در عملکرد بسیاری از نوروترانسمیترهای عصبی به هم می‌خورد. بنابراین، در ادامه‌ی مطالعات پیشین، پژوهش حاضر جهت بررسی میزان شیوع سندرم ترک پس از تحریک و تخریب ناحیه‌ی mPFC و همچنین، پس از تزریق آنتاگونیست‌های گلوتاماتی به ناحیه‌ی VTA در Rat‌های معتاد اجرا گردید.

روش‌ها

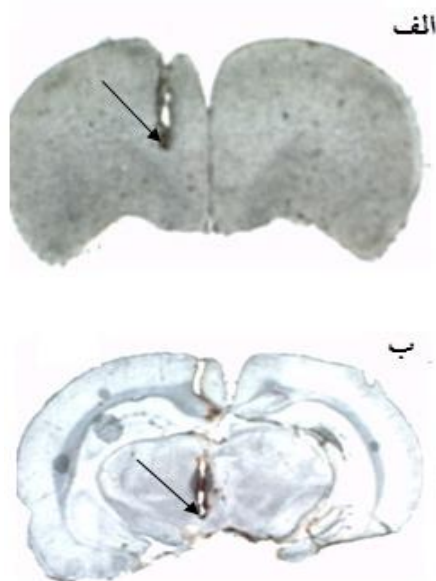
این مطالعه‌ی تجربی در طی سال‌های ۹۸-۱۳۹۷، در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، روی ۴۲ موش صحرائی نر نژاد Wistar با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه و به منظور آشناسازی، به مدت یک هفته به حیوان‌خانه منتقل شدند. محل نگهداری حیوانات دارای دوره‌ی روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ۷ صبح) و دمای ۲۵-۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

گروه‌بندی حیوانات: حیوانات به شش گروه هفت‌تایی تقسیم گردیدند:

- گروه شاهد (جراحی + سالین): نمونه‌ها تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند و سپس، روزانه ۰/۲ میلی‌لیتر سالین درون صفاقی دریافت کردند.

- گروه مرفین (جراحی + مرفین): نمونه‌ها تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند و سپس، مرفین درون صفاقی طی نه روز

بافت‌شناسی: در انتهای آزمایش، مغز نمونه‌ها جهت حصول اطمینان از درستی محل تحریک الکتریکی و میکرواینجکشن از مجموعه خارج گردید و در محلول فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند و سپس، با استفاده از دستگاه فریز میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۷۰ میکرومتر از مغز تهیه شد. پس از تهیه‌ی لام‌های مناسب، داده‌های مربوط به نمونه‌هایی که با اطلس مطابقت نداشتند، حذف شدند (شکل ۱).



شکل ۱. الف- محل قرارگیری الکتروود در **Medial prefrontal cortex (mPFC)** و ب- محل قرارگیری کانول در **(VTA) Ventral tegmental area**

واکوی آماری داده‌ها: برای ارزیابی نتایج به دست آمده، تمام داده‌ها از نظر آماری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL)، با استفاده از آزمون One-way ANOVA به همراه آزمون تعقیبی **Least significant difference (Post Hoc LSD)** بررسی گردید و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از آن جایی که نتایج به دست آمده در گروه‌های مرفین - DMSO و مرفین - سالین تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه مرفین نداشت؛ بنابراین، دو گروه در نمودارها حذف گردیدند.

محلول DMSO حل گردید (۶). دز ۰/۵ میکرولیتر/۱ میکروگرم AP5 (Sigma, USA) در سالین حل گردید (۳).

جراحی: موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی کتامین - زایلازین بیهوش گردیدند و تحت جراحی استریوتاکسیک قرار گرفتند. سپس، جهت تحریک الکتریکی، الکتروود تحریکی در ناحیه‌ی mPFC با مختصات ۰/۸ میلی‌متر میانی - جانبی (Mediolateral یا ML)، ۳/۲ میلی‌متر قدامی - خلفی (Anteroposterior یا AP) و ۳/۶ میلی‌متر پشتی - شکمی (Dorsoventral یا DV) بر اساس اطلس پاکسینوس قرار گرفت (۷). همچنین، با استفاده از بازوی دیگر استریوتاکس کانول، تزریق دارو به داخل ناحیه‌ی VTA با مختصات ۰/۶ میلی‌متر میانی - جانبی، ۵/۸ میلی‌متر قدامی - خلفی و ۸ میلی‌متر پشتی - شکمی قرار گرفت و در نهایت، با استفاده از سیمان دندان پزشکی تثبیت گردید. سپس، بعد از یک هفته استراحت پس از جراحی، آزمایش‌های اصلی انجام گردید (۳).

روش تخریب الکتریکی ناحیه‌ی mPFC جهت تخریب الکتریکی mPFC از جریان الکتریکی کاتدی تک فاز با شدت ۰/۴ میلی‌آمپر به مدت ۶۴ ثانیه توسط الکتروود تخریب در ناحیه‌ی پیش گفته استفاده گردید (۴).

روش تحریک الکتریکی ناحیه‌ی mPFC از شدت جریان ۱۰۰ میکروآمپر و فرکانس ۲۵ هرتز و به مدت ۱۰ دقیقه توسط دستگاه Stimulator Isolator A360, WPI, USA جهت تحریک الکتریکی mPFC استفاده گردید (۳).

میکرواینجکشن دارو به داخل VTA: جهت میکرواینجکشن دارو، نیدل تزریق از طریق لوله‌ی باریک رابطی از جنس پلی‌اتیلن که به سرنگ Hamilton متصل گردیده بود، به درون کانول راهنمای کاشته شده در VTA هدایت گردید. طول نیدل تزریق، ۱ میلی‌متر از کانول راهنمای کاشته شده در VTA بلندتر بود. در یک گروه، CNQX با دز ۰/۵ میکرولیتر/۲/۵ میکروگرم و در گروه دیگر، AP5 با دز ۰/۵ میکرولیتر/۱ میکروگرم، با سرعت ۲ میکرولیتر/دقیقه در VTA روزانه تزریق گردید (۳).

بررسی علائم سندرم ترک: در روز دهم آزمایش پس از گذشت ۲۴ ساعت از آخرین دز دریافت مرفین، سندرم ترک در موش‌های صحرایی آشکار گردید. هر حیوان، به صورت انفرادی به مدت ۴۰ دقیقه داخل محفظه‌ای استوانه‌ای و شفاف از جنس پلکسی با قطر داخلی ۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر قرار داده شد. سپس، تمامی علائم ترک شامل کشیدن بدن، دندان‌قروچه، چرخیدن به دور خود، خرااندن، روی دوپا ایستادن و لیسیدن شمارش گردید (۸).

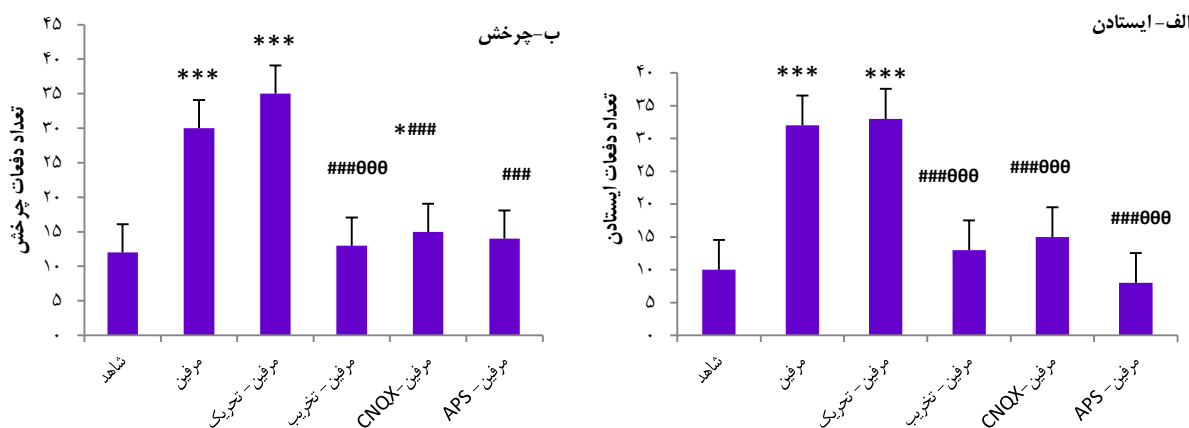
گروه مرفین- CNQX نسبت به گروه شاهد ($P < 0/050$) و گروه مرفین- ($P < 0/001$) و در نهایت، کاهش معنی‌دار ($P < 0/001$) گروه مرفین- AP5 نسبت به گروه مرفین بود.

از دیگر رفتارهای ترک، خاراندن می‌باشد. داده‌ها بیانگر افزایش معنی‌دار ($P < 0/001$) این رفتار در گروه‌های مرفین و مرفین- تحریک نسبت به گروه شاهد بود. همچنین، میزان خاراندن در گروه مرفین- تحریک نسبت به گروه مرفین نیز افزایش معنی‌داری ($P < 0/050$) داشت. خاراندن در گروه مرفین- تحریک نسبت به گروه مرفین و مرفین- تحریک کاهش معنی‌داری ($P < 0/001$) نشان داد. همچنین، در گروه‌های مرفین- AP5 و مرفین- CNQX به ترتیب کاهش معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد ($P < 0/010$)، مرفین ($P < 0/001$) و مرفین- تحریک ($P < 0/001$) مشاهده گردید (شکل ۳- الف).

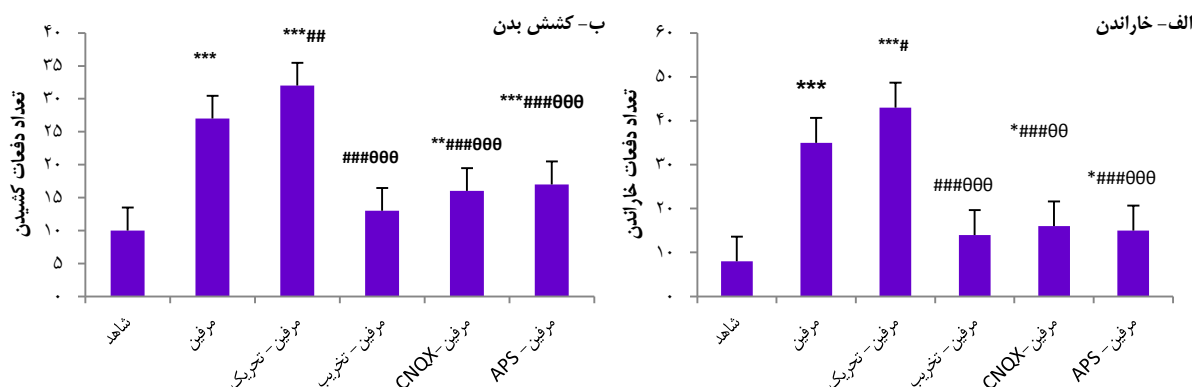
از دیگر علائم رفتاری در زمان قطع مخدر، کشش بدن می‌باشد. با توجه به داده‌های شکل ۳- ب، میانگین دفعات کشیدن بدن پس از قطع مرفین در گروه‌های مرفین و مرفین- تحریک، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد ($P < 0/001$) و همچنین، در گروه مرفین- تحریک نسبت به گروه مرفین ($P < 0/010$) مشاهده گردید. از سویی، این میزان در گروه‌های مرفین- تحریک، مرفین- CNQX و مرفین- AP5 نسبت به گروه‌های مرفین و مرفین- تحریک کاهش معنی‌داری ($P < 0/001$) نشان دادند. در دو گروه مرفین- CNQX ($P < 0/010$) و مرفین- AP5 ($P < 0/001$) نیز نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری مشاهده گردید.

نتایج مشاهدات نشان داد پس از قطع مرفین، کاهش معنی‌داری در بروز علائم سندرم ترک در گروه‌های مرفین- تحریک، مرفین- CNQX و مرفین- AP5 نسبت به گروه مرفین و گروه مرفین- تحریک مشاهده گردید. همان‌طور که در شکل ۲- الف نشان داده شده است، در گروه مرفین و مرفین- تحریک، میانگین ایستادن حیوان روی دو پا پس از قطع مرفین، نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری ($P < 0/001$) افزایش داشت. در حالی که پس از قطع مخدر در گروه مرفین- تحریک، میانگین روی دو پا ایستادن به شکل معنی‌داری ($P < 0/001$) نسبت به گروه مرفین و گروه مرفین- تحریک کاهش یافته بود. همچنین، در گروه‌های مرفین- AP5 و مرفین- CNQX نیز نسبت به گروه‌های مرفین و مرفین- تحریک، کاهش معنی‌داری ($P < 0/001$) در این رفتار پس از عدم دریافت مخدر مشاهده گردید (شکل ۲- الف).

از دیگر نشانگان ترک در موش‌های صحرایی معتاد، چرخش به دور خود می‌باشد. همان‌گونه که در شکل ۲- ب نشان داده شده است، در گروه‌های مرفین و مرفین- تحریک، میانگین چرخش به دور خود پس از قطع مرفین به شکل معنی‌داری ($P < 0/001$) نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. همچنین، داده‌ها، حاکی از افزایش معنی‌دار ($P < 0/050$) میانگین چرخش به دور خود در گروه مرفین- تحریک نسبت به گروه مرفین می‌باشد. از طرفی، داده‌ها نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌دار در میانگین چرخش به دور خود در گروه‌های مرفین- تحریک نسبت به گروه مرفین و گروه مرفین- تحریک ($P < 0/001$) و همچنین،



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین تعداد الف- ایستادن روی دو پا، ب- چرخیدن به دور خود در گروه‌های آزمایشی پس از عدم دریافت مرفین. کلیه‌ی داده‌ها از نظر آماری با استفاده از آزمون One-way ANOVA به همراه آزمون تعقیبی Least significant difference (Post Hoc LSD) بررسی گردیده و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. $P < 0/050$ *، $P < 0/001$ **، در قیاس با گروه شاهد، $P < 0/050$ # و $P < 0/001$ ### در قیاس با گروه مرفین و $P < 0/001$ #### در قیاس با گروه مرفین- تحریک نشان داده شده است.



شکل ۳. مقایسه‌ی میانگین تعداد: الف- خاراندن، ب- کشش بدن در گروه‌های آزمایشی پس از عدم دریافت مرفین. کلیه داده‌ها از نظر آماری با استفاده از آزمون One-way ANOVA به همراه آزمون تعقیبی Least significant difference (Post Hoc LSD) بررسی گردید و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در قیاس با گروه شاهد، $P < 0.05$ #، $P < 0.01$ ## و $P < 0.001$ ### در قیاس با گروه مرفین و $P < 0.001$ ⁰⁰⁰ در قیاس با گروه مرفین-تحریک نشان داده شده است.

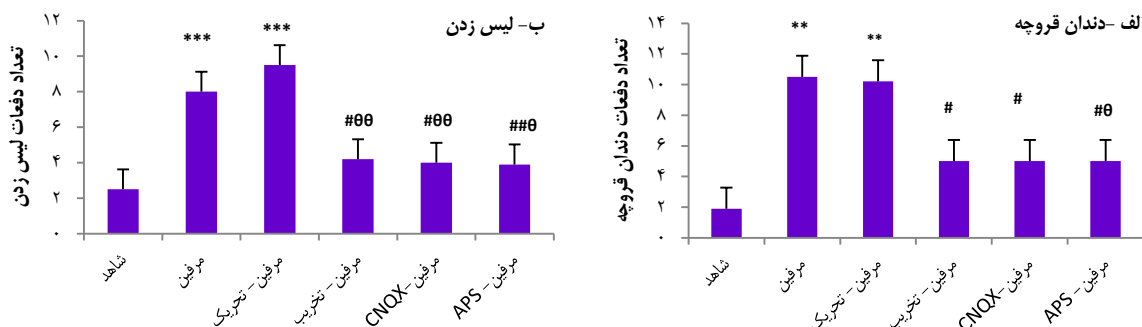
معنی‌داری ($P < 0.01$) نشان داد. در حالی که کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) در گروه‌های مرفین-تخریب و مرفین-CNQX نسبت به گروه مرفین و کاهش معنی‌داری ($P < 0.01$) نسبت به گروه مرفین-تحریک نشان دادند. همچنین، کاهش معنی‌داری در گروه مرفین-APS نسبت به گروه مرفین ($P < 0.01$) و گروه مرفین-تحریک ($P < 0.05$) مشاهده گردید (شکل ۴-ب).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در روز دهم آزمایش که تزریق درون صفاقی مرفین برای حیوانات انجام نشد، در گروه مرفین-علایم سندرم ترک به طور کلی به شکل معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیده شد. همچنین، گروهی که تحریک الکتریکی در ناحیه‌ی mPFC را روزانه

همان‌گونه که در شکل ۴-الف نشان داده شده است، با توجه به داده‌های حاصل، میانگین دفعات دندان‌قروچه در موش‌های صحرائی پس از قطع مخدر گروه‌های مرفین و مرفین-تحریک افزایش معنی‌داری ($P < 0.01$) نسبت به گروه شاهد نشان داد. از سویی، این میزان در گروه‌های مرفین-تخریب، مرفین-CNQX و مرفین-APS کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) را نسبت به گروه مرفین نشان داد. همچنین، کاهش معنی‌داری در این رفتار در گروه مرفین-APS نسبت به گروه مرفین-تحریک ($P < 0.05$) مشاهده گردید.

از دیگر رفتارهای ترک در موش‌های صحرائی، لیسیدن افراطی خود می‌باشد. داده‌ها نشان دادند که لیسیدن بدن در زمان ترک در گروه‌های مرفین و مرفین-تحریک نسبت به گروه شاهد افزایش



شکل ۴. مقایسه‌ی میانگین تعداد: الف- دندان‌قروچه، ب- لیس زدن در گروه‌های مورد مطالعه پس از عدم دریافت مرفین. کلیه داده‌ها از نظر آماری با استفاده از آزمون One-way ANOVA به همراه آزمون تعقیبی Least significant difference (Post Hoc LSD) بررسی گردید و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. $P < 0.01$ ** و $P < 0.001$ *** در قیاس با گروه شاهد، $P < 0.05$ # و $P < 0.01$ ## در قیاس با گروه مرفین و $P < 0.001$ ⁰⁰⁰ در قیاس با گروه مرفین-تحریک نشان داده شده است.

مصرف مرفین و شدت بروز نشانگان ترک می‌باشد. در گروهی که تخریب الکتریکی در mPFC را دریافت کرده بودند، به طور کلی اغلب علائم سندرم ترک نسبت به گروه مرفین و گروه مرفین-تحریک کاهش معنی‌داری نشان داد. هم‌راستا با نتایج به دست آمده، ساعدی و علایی، در مطالعه‌ای نشان دادند که تخریب الکتریکی mPFC موش‌های صحرایی معتاد منجر به تخفیف علائم ترک گردید (۱۴).

مطالعات پیشین حاکی از نقش برجسته‌ی mPFC در اعتیاد به مرفین و بروز نشانگان ترک دارد؛ به گونه‌ای که تخریب این ناحیه، به احتمال زیاد باعث مهار اثرات مربوط به مرفین می‌شود که این امر نشان دهنده‌ی نقش سیستم مزوکورتیکولیمبیک در شکل‌گیری فرایند اعتیاد می‌باشد (۱۵). شهیدانی و همکاران، در پژوهشی نشان دادند که تخریب الکتریکی mPFC در موش‌های صحرایی معتاد به مرفین منجر به کاهش دوپامین در VTA گردید (۴). با توجه به مطالعات پیشین با مصرف مخدر و فعال شدن سیستم دوپامینرژیک مزوکورتیکولیمبیک، افزایش ارسال دوپامینرژیک از VTA به هسته‌ی اکومینس رخ می‌دهد. بنابراین، با کاهش آزادسازی دوپامین در هسته‌ی اکومینس در نتیجه‌ی تخریب mPFC، رفتارهای مربوط به جستجوی دارو کاهش می‌یابد (۱۶، ۱۳).

از سویی، نتایج مطالعه‌ای حاکی از کاهش میزان گلوتامات در ناحیه‌ی VTA پس از تخریب mPFC در Rat‌های معتاد به مرفین می‌باشد (۳) که به احتمال زیاد با توجه به مطالعات گذشته و اهمیت نقش گلوتامات در بروز نشانگان ترک (۱۷)، می‌تواند به نحوی تأیید کننده‌ی مشاهده‌ی تخفیف علائم مشابه ترک در گروه تخریب و به عبارتی بیانگر کاهش وابستگی به مرفین باشد (۱۶). همچنین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که به طور کلی، در گروه‌هایی که روزانه میکرواینجکشن آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA و AMPA را در VTA همراه با دریافت درون صفاقی مرفین داشتند، علائم سندرم ترک نسبت به گروه مرفین کاهش معنی‌داری داشت. هم‌راستا با نتایج مطالعه‌ی حاضر، Wang و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که میکرواینجکشن MK-801 و همچنین، DNQX به عنوان آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتاماتی به VTA در موش‌های صحرایی معتاد سبب کاهش نشانگان سندرم ترک گردید (۹). همچنین، طبق یافته‌های مطالعات پیشین، فعالیت گیرنده‌های NMDA و AMPA در ناحیه‌ی VTA جهت بیان ترجیح مکان، شرطی ضروری می‌باشد (۱۳).

در مطالعه‌ی دیگری، اذعان گردید که میکرواینجکشن آنتاگونیست‌های گلوتاماتی منجر به کاهش رفتار خود تریقی در

همراه با تزریق درون صفاقی مرفین دریافت می‌کردند نیز نشانگان سندرم ترک به شکل معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافته بود. هر چند که این افزایش در بعضی نشانگان مانند ایستادن روی دو پا، دندان‌قروچه و غیره نسبت به گروه مرفین معنی‌دار نبود (شکل‌های ۲-الف و ۴-الف). مطالعات گذشته حاکی از افزایش غلظت گلوتامات در VTA و هسته‌ی اکومینس مغز Rat در زمان ترک می‌باشد (۹). هم‌راستا با نتایج به دست آمده در پژوهش پیشین، افزایش غلظت گلوتامات در VTA در Rat‌های معتاد در گروه مرفین و گروهی که تحریک الکتریکی در mPFC را دریافت کرده بودند، مشاهده گردید (۳). در مطالعه‌ی Yang و همکاران، با استفاده از روش اپتوژنتیک نشان دادند که مرفین به طور اختصاصی سبب القای ترشح گلوتامات از پایانه‌های گلوتاماترژیک mPFC به نورون‌های دوپامینی VTA می‌گردد (۱۰). از سویی، mPFC به عنوان بخشی از سیستم دوپامینرژیک مزوکورتیکولیمبیک در سیستم پاداشی مغز، ورودی غالب دوپامینرژیک را از VTA دریافت می‌کند و به طور متناوب به VTA و هسته‌ی اکومینس می‌فرستد. در نهایت، افزایش غلظت دوپامین در هسته‌ی اکومینس سبب افزایش اثرات پاداشی مرفین جهت ایجاد رفتار جستجوی مخدر در جوندگان می‌باشد (۱۱، ۴).

به تازگی، در مطالعه‌ای نشان داده شده است که تحریک الکتریکی mPFC با شدت جریان و فرکانس‌های مختلف منجر به رهایش دوپامین با غلظت‌های متفاوت در هسته‌ی اکومینس می‌گردد (۱۲). بنابراین، می‌توان این گونه استنباط نمود که اثر تحریک الکتریکی در این ناحیه، به احتمال زیاد به دلیل افزایش غلظت دوپامین در هسته‌ی اکومینس، همانند اثر تحریک ناشی از مرفین بوده است و همان‌گونه که در شکل‌های ۲-ب، ۳-الف و ۳-ب نشان داده شده است، به ترتیب علائم رفتاری چرخش به دور خود، خاراندن و تعداد دفعات کشیدن بدن نسبت به گروه مرفین افزایش معنی‌داری مشاهده گردید که احتمال می‌رود حاکی از افزایش میل به مصرف مرفین پس از تحریک الکتریکی می‌باشد. از طرفی، در مطالعه‌ای با کاربرد روش‌های الکتروفیزیولوژیک نشان داده شد که در غیاب فرکانس‌های نورون‌های گلوتاماترژیک VTA، القای مرفین قادر به فعال کردن نورون‌های دوپامینی نخواهد بود (۱۳).

بنابراین، می‌توان گفت احتمال می‌رود mPFC از طریق ارسال نورون و افزایش آزادسازی گلوتامات در VTA به صورت مستقیم و یا با تحریک مدارهای عصبی موجود در VTA، موجب پیشبرد وابستگی به مرفین می‌گردد. در نهایت، نیاز به تحقیقات جامع‌تر جهت بررسی اثر شدت جریان‌ها و فرکانس‌های مختلف بر میل

نشان دادن اهمیت نقش mPFC در اعتیاد، می‌تواند بیانگر نقش احتمالی انتقال گلوتاماترژیک در ناحیه‌ی VTA در بروز سندرم ترک مخدرها باشد. بنابراین، کاربرد آنتاگونیست‌ها به صورت موضعی به عنوان دارو و همچنین، بررسی شدت جریان‌های مختلف جهت تحریک الکتریکی نواحی درگیر در سیستم پاداش مغز به عنوان چشم‌اندازی نوین جهت درمان اعتیاد در آینده پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دکترای تخصصی فیزیولوژی جانوری با کد ۹۵۰۴۰۶ در واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران می‌باشد. بدین وسیله، پژوهشگران از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بابت در اختیار گذاشتن آزمایشگاه و تجهیزات لازم جهت انجام این مطالعه کمال قدردانی و تشکر خود را ابراز می‌دارند.

Rat‌های معتاد می‌گردد (۱۸). از سویی، در پژوهش پیشین مشاهده گردید که میکرواینجکشن آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتاماتی به ناحیه‌ی VTA در موش‌های صحرایی معتاد منجر به کاهش سطوح گلوتامات در این ناحیه گردید (۳). از این رو، نتایج به دست آمده در تخفیف نشانگان ترک در Rat‌های دریافت‌کننده‌ی آنتاگونیست گیرنده‌های گلوتاماتی در VTA با یافته‌های پیشین همسویی دارد.

نتیجه‌گیری

در نهایت، با توجه به نتایج به دست آمده، تخریب mPFC و همچنین، تزریق آنتاگونیست‌های گلوتاماتی به صورت موضعی به ناحیه‌ی VTA منجر به کاهش وابستگی به مرفین گردیده است و بنابراین، در عدم دسترسی مرفین سندرم ترک ضعیف‌تر شده است؛ در حالی که تحریک الکتریکی mPFC افزایش وابستگی به مرفین را به همراه داشته است. بنابراین، نتایج حاضر علاوه بر

References

- Gholami F, Ebrahim K, Ahmadizad Sj, Dabaq Nikukheslat S, Rahbaran A. The concurrent effect of endurance training and garlic supplementation on body composition and lipid profile in sedentary young males. *Med J Tabriz Univ Med Sci* 2013; 35(1): 52-9. [In Persian].
- Czech MP. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nat Med* 2017; 23(7): 804-14.
- Hosseini A, Khoshsovt F, Ahmadi M, Azarbayjani M A, Salehi O, Farkhaie F. Effects of Aloe vera and swimming training on lipid profile of streptozotocin induced diabetic rats. *Nutr Food Sci Res* 2020; 7(1): 9-16.
- Pandey A, Khan HR, Alex NS, Puttaraju M, Chandrasekaran TT, Rudraiah M. Undercarboxylated osteocalcin regulates glucose and lipid metabolism during pregnancy and lactation in rats. *J Endocrinol Invest* 2020; 43(8): 1081-95.
- Mera P, Ferron M, Mosialou I. Regulation of energy metabolism by bone-derived hormones. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018; 8(6): a031666.
- Zoch ML, Clemens TL, Riddle RC. New insights into the biology of osteocalcin. *Bone* 2016; 82: 42-9.
- Liu JJ, Toy WC, Wong MD, Tan CS, Tavintharan S, Wong MS, et al. Elevated undercarboxylated and reduced carboxylated osteocalcin are associated with metabolic syndrome in middle age Asian females. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2013; 121(6): 329-33.
- Zhou B, Li H, Liu J, Xu L, Guo Q, Zang W, et al. Autophagic dysfunction is improved by intermittent administration of osteocalcin in obese mice. *Int J Obes (Lond)* 2016; 40(5): 833-43.
- Yeap BB, Alfonso H, Chubb SA, Gauci R, Byrnes E, Beilby JP, et al. Higher serum undercarboxylated osteocalcin and other bone turnover markers are associated with reduced diabetes risk and lower estradiol concentrations in older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(1): 63-71.
- MohammadHossein O, Mohammad F. The role of physical activity and exercise in prevention of non-communicable chronic diseases in Iran. *J Isfahan Med Sch* 2020; 38(582): 477-88. [In Persian].
- Ghorbanian B, Shokrollahi F. The effects of rope training on Paraoxonase-1 enzyme, insulin resistance and lipid profiles in inactive girls. *Tehran Univ Med J* 2017; 75(4): 307-15. [In Persian].
- Davies G, Riemann BL, Manske R. Current concepts of plyometric exercise. *Int J Sports Phys Ther* 2015; 10(6): 760-86.
- Barillas SR, Watkins CM, Wong MA, Dobbs IJ, Archer DC, Munger CN, et al. Repeated plyometric exercise attenuates blood glucose in healthy adults. *Int J Exerc Sci* 2017; 10(7): 1076-84.
- Moreno SD, Brown LE, Coburn JW, Judelson DA. Effect of cluster sets on plyometric jump power. *J Strength Cond Res* 2014; 28(9): 2424-8.
- Rostamizadeh M, Elmieh A, Rahmaninia F. The effect of aerobic and resistance exercises on serum osteocalcin levels, insulin resistance and pancreas beta cell function in overweight men: A clinical trial. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2019; 18(1): 55-70. [In Persian].
- Chahla SE, Frohnert BI, Thomas W, Kelly AS, Nathan BM, Polgreen LE. Higher daily physical activity is associated with higher osteocalcin levels in adolescents. *Prev Med Rep* 2015; 2: 568-71.
- Alipour Y, Abbassi Dalooi A, Barari A, Abdi A. Effects of resistance training on serum levels of undercarboxylated osteocalcin, adiponectin and insulin sensitivity in obese women. *Tehran Univ Med J* 2015; 73(9): 668-73. [In Persian].
- Witzke KA, Snow CM. Effects of plyometric jump training on bone mass in adolescent girls. *Med Sci*

- Sports Exerc 2000; 32(6): 1051-7.
19. Singh F, Foster C, Tod D, McGuigan MR. Monitoring different types of resistance training using session rating of perceived exertion. *Int J Sports Physiol Perform* 2007; 2(1): 34-45.
 20. Birgani GA, Ahangarpour A, Khorsandi L, Moghaddam HF. Anti-diabetic effect of betulinic acid on streptozotocin-nicotinamide induced diabetic male mouse model. *Braz J Pharm Sci* 2018; 54(2): e17171.
 21. Colleluori G, Napoli N, Phadnis U, Armamento-Villareal R, Villareal DT. Effect of Weight Loss, Exercise, or Both on Undercarboxylated Osteocalcin and Insulin Secretion in Frail, Obese Older Adults. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017: 4807046.
 22. Wiklund P, Nordstrom A, Hogstrom M, Alfredson H, Engstrom P, Gustafsson T, et al. High-impact loading on the skeleton is associated with a decrease in glucose levels in young men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012; 77(6): 823-7.
 23. Kamali K, Abbassi Dalooi A, Abdi A, Ziaolhagh SJ, Barari A. Effect of 8-weeks aerobic training on undercarboxylated osteocalcin, hs-CRP and insulin resistance in overweight women. *J Sabzevar Univ Med Sci* 2015; 22(5): 823-31. [In Persian].
 24. Franck H, Beuker F, Gurk S. The effect of physical activity on bone turnover in young adults. *Exp Clin Endocrinol* 1991; 98(1): 42-6.
 25. Mohammad Rahimi GR, Niyazi A, Alaee S. The effect of exercise training on osteocalcin, adipocytokines, and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoporos Int* 2020. [Epub ahead of print].
 26. Paschalis V, Nikolaidis MG, Theodorou AA, Panayiotou G, Fatouros IG, Koutedakis Y, et al. A weekly bout of eccentric exercise is sufficient to induce health-promoting effects. *Med Sci Sports Exerc* 2011; 43(1): 64-73.
 27. Racil G, Zouhal H, Elmontassar W, Ben Abderrahmane A, De Sousa MV, Chamari K, et al. Plyometric exercise combined with high-intensity interval training improves metabolic abnormalities in young obese females more so than interval training alone. *Appl Physiol Nutr Metab* 2016; 41(1): 103-9.
 28. Sjoberg KA, Frosig C, Kjobsted R, Sylow L, Kleinert M, Betik AC, et al. Exercise increases human skeletal muscle insulin sensitivity via coordinated increases in microvascular perfusion and molecular signaling. *Diabetes* 2017; 66(6): 1501-10.
 29. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007; 130(3): 456-69.
 30. Lin X, Brennan-Speranza TC, Levinger I, Yeap BB. Undercarboxylated osteocalcin: Experimental and human evidence for a role in glucose homeostasis and muscle regulation of insulin sensitivity. *Nutrients* 2018; 10(7): 847.
 31. Morelli C, Avolio E, Galluccio A, Caparello G, Manes E, Ferraro S, et al. Impact of vigorous-intensity physical activity on body composition parameters, lipid profile markers, and irisin levels in adolescents: A cross-sectional study. *Nutrients* 2020; 12(3): 742.
 32. Khairandish R, Ranjbar R, Habibi A. Effects of pilates training on body composition, lipid profile and some physical fitness parameters in sedentary obese women. *Jundishapur Sci Med J* 2018; 17(1): 49-61. [In Persian].
 33. Batacan RB, Duncan MJ, Dalbo VJ, Tucker PS, Fenning AS. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: A systematic review and meta-analysis of intervention studies. *Br J Sports Med* 2017; 51(6): 494-503.
 34. (Vainionpaa A, Korpelainen R, Kaikkonen H, Knip M, Leppaluoto J, Jamsa T. Effect of impact exercise on physical performance and cardiovascular risk factors. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39(5): 756-63.
 35. Magni P, Macchi C, Sirtori CR, Corsi Romanelli MM. Osteocalcin as a potential risk biomarker for cardiovascular and metabolic diseases. *Clin Chem Lab Med* 2016; 54(10): 1579-87.
 36. Bao Y, Zhou M, Lu Z, Li H, Wang Y, Sun L, et al. Serum levels of osteocalcin are inversely associated with the metabolic syndrome and the severity of coronary artery disease in Chinese men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011; 75(2): 196-201.
 37. Chen Y, Zhao Q, Du G, Xu Y. Association between serum osteocalcin and glucose/lipid metabolism in Chinese Han and Uygur populations with type 2 diabetes mellitus in Xinjiang: Two cross-sectional studies. *Lipids Health Dis* 2017; 16(1): 139.

The Role of Medial Prefrontal Cortex and Ventral Tegmental Areas in Withdrawal Syndrome in Morphine Addicted Male Rats

Asal Keramatian¹, Hojjatallah Alaei², Akram Eidi³, Maryam Radahmadi⁴

Original Article

Abstract

Background: One of the problems of addiction treatment is the relapsing of withdrawal syndrome signs in the addicted person. Rewarding brain regions such as medial prefrontal cortex (mPFC) and ventral tegmental area (VTA) are involved in addiction and onset of withdrawal syndrome. This study was performed to investigate the relationship between these areas in demonstration or relief of withdrawal signs, electrical stimulation and lesion of mPFC, as well as blocking the relative receptors in the VTA.

Methods: In an experimental study, 42 male rats weighing 250-300 g were divided in 6 equal groups of control, morphine, and stimulation and lesion electrical receiver groups in mPFC region, and groups receiving the glutamate receptors antagonists by microinjection into the VTA. All of the groups, except the control group, received intraperitoneal morphine during 9 days as the protocol. Finally, on the 10th day, the symptoms of addiction in rats were evaluated.

Findings: The electrical stimulation of mPFC significantly increased cycling and scratching ($P < 0.01$) and bodylifting ($P < 0.05$) in comparison to the morphine group. Whereas the lesion of this area, and also microinjection of glutamate antagonists into the VTA caused significant decrease of all the withdrawal symptoms in rats.

Conclusion: Electrical stimulation of mPFC area increased the withdrawal symptoms in addicted rats, which was most likely due to increase of glutamatergic transmissions into the VTA and reinforcement of reward system; while destruction of this area and blocking of glutamate receptors, probably via decreasing of glutamatergic transmissions, caused decrease of morphine addiction.

Keywords: Prefrontal cortex; Ventral tegmental area; Withdrawal syndrome

Citation: Keramatian A, Alaei H, Eidi A, Radahmadi M. **The Role of Medial Prefrontal Cortex and Ventral Tegmental Areas in Withdrawal Syndrome in Morphine Addicted Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2020; 38(594): 736-44.

1- PhD Student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3-Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4-Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Hojjatallah Alaei, Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: alaei@med.mui.ac.ir