

## اثرات تزریق عوامل دوپامینرژیک گیرنده‌های $D_2$ در هسته لوکوس سرولئوس بر علائم قطع مصرف نالوکسان در موش‌های صحرایی وابسته به مرفین

### چکیده

ایرج میرزایی دیزگاه<sup>۱\*</sup>

مرتضی کریمیان<sup>۲</sup>

محمد رضا زرین دست<sup>۳</sup>

حمید سوهانکی<sup>۱</sup>

۱. گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی قم

۲. گروه فیزیولوژی

۳. گروه فارماکولوژی

دانشگاه علوم پزشکی تهران

**زمینه و هدف:** اعتیاد به اپیوئیدها یکی از مشکلات عمده جوامع بشری به‌ویژه ایران است و درمان آن از اولویت‌های بهداشتی جامعه به‌شمار می‌رود، مطالعه در این زمینه نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مکانیسم دقیق وابستگی به اپیوئیدها و سندرم قطع مصرف هنوز بدرستی شناخته نشده است. به نظر می‌رسد که سیستم دوپامینی و همچنین هسته لوکوس سرولئوس نقش مهمی در بروز علائم جسمی ناشی از سندرم قطع مصرف دارند. مطالعه حاضر به تأثیر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینرژیک  $D_2$  تجویز شده در هسته لوکوس سرولئوس بر شدت بروز علائم قطع مصرف در موش‌های صحرایی وابسته به مرفین پرداخته است.

**روش بررسی:** برای این منظور ۶۴ رأس موش صحرایی نر در گروه‌های هشت تایی تقسیم گردیدند. هسته لوکوس سرولئوس به‌صورت دوطرفه طبق اطلس پاکسینوس با دستگاه استریوتاکس کانول‌گذاری شد. یک هفته پس از بهبودی، هفت گروه از حیوانات با تزریق مرفین زیرجلدی روزانه به مدت یک هفته وابسته گردیدند. در گروه کنترل سالم نرمال سالیین تزریق شد. در روز هشتم ابتدا در هسته لوکوس سرولئوس نرمال سالیین و یا سه دوز از آگونیست (کوئین پیرول) یا آنتاگونیست (سولپیراید) گیرنده‌های دوپامینی  $D_2$  و سپس جهت القای عوارض قطع مصرف نالوکسان (زیر جلدی) تزریق گردید.

**یافته‌ها:** امتیاز کل به‌عنوان شاخصی در ارزشیابی شدت عوارض قطع، با تجویز دوز  $0.1 \mu\text{g}/\text{site}$  کوئین پیرول و دوزهای  $30 \mu\text{g}/\text{site}$  و  $15 \mu\text{g}/\text{site}$  سولپیراید کاهش یافت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که احتمالاً سیستم دوپامینی گیرنده‌های  $D_2$  در هسته لوکوس سرولئوس در بروز سندرم قطع مصرف مرفین در موش‌های صحرایی نقش دارد.

**کلمات کلیدی:** سندرم قطع مصرف، دوپامین، مرفین، نالوکسان، لوکوس سرولئوس، کوئین پیرول، سولپیراید.

\*نویسنده مسئول: قم، دانشگاه علوم پزشکی قم،

دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی.

تلفن: ۰۲۵۱-۷۸۳۱۳۷۰

email: emirzai@razi.tums.ac.ir

### مقدمه

بدرستی شناخته نشده است. در موقع قطع مصرف مرفین (Withdrawal)، توازن عملکرد بسیاری از میانجی‌های عصبی بر هم می‌خورد.<sup>۱</sup> به نظر می‌رسد که سیستم دوپامینی در بروز برخی از اثرات مرفین نظیر Locomotion،<sup>۲</sup> تغییر در دمای بدن،<sup>۳</sup> مهار خمیازه،<sup>۴</sup> Penile erection<sup>۵</sup> و بروز عوارض قطع مصرف<sup>۶،۷،۸</sup> نقش

اعتیاد به اپیوئیدها یکی از مشکلات عمده جوامع بشری به‌ویژه ایران است و درمان آن از اولویت‌های بهداشتی جامعه به‌شمار می‌رود. مطالعه در این زمینه نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مکانیسم دقیق وابستگی به اپیوئیدها و سندرم قطع مصرف هنوز

عینک به عنوان پایه و سیمان دندان پزشکی استفاده گردید. بهبود زخم جراحی در دوره هفت روزه کامل گردید. برای ایجاد وابستگی به مرفین، از دوزهای افزایشی مرفین زیر جلدی به ترتیب ۸، ۱۶، ۲۶، ۳۶، ۴۶، ۵۶ و ۶۶ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن حیوان به مدت هفت روز استفاده شد.

سالین و داروها در حجم  $1 \mu\text{l}$  به صورت دوطرفه به کمک کانول تزریق شماره ۳۰ به طول  $14 \text{ mm}$  ( $1 \text{ mm}$  بلندتر از کانول راهنما) از طریق لوله پلی اتیلن شماره ۱۰ متصل به سرنگ هامیلتون  $1 \mu\text{l}$ ، ۲، در هسته لوکوس سرولئوس به آرامی در مدت یک دقیقه تزریق گردید. برای ممانعت از پس زدن دارو ۳۰ ثانیه بعد کانول تزریق خارج گردید. سالین و کوئین پیرو (آگونیست گیرنده‌های دوپامینی  $D_2$ ) ۱۵ دقیقه و سولپیراید (آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی  $D_2$ ) ۳۰ دقیقه قبل از نالوکسان ( $2 \text{ mg/kg}$  به صورت زیر جلدی) مورد استفاده قرار گرفت. در دو گروه کنترل وابسته و سالم،  $1 \mu\text{l/site}$  سالین، در گروه‌های تحت درمان با کوئین پیرو دوزهای  $0.5, 0.3, 0.1 \mu\text{g/site}$  و در گروه‌های تحت درمان با سولپیراید دوزهای  $30, 15, 5 \mu\text{g/site}$  در هسته‌ی لوکوس سرولئوس تزریق گردید.

به منظور بروز علائم قطع مصرف (Withdrawal)، ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق مرفین، نالوکسان  $2 \text{ mg/kg}$  به صورت زیرجلدی تزریق گردید. بلافاصله بعد از تزریق نالوکسان، برای ثبت رفتارهای مربوط به قطع مصرف، حیوان در درون محفظه شیشه‌ای به ابعاد  $24 \times 14 \times 35 \text{ cm}$  قرار داده شد. جهت کاهش تأثیر عوامل محیطی در نتیجه آزمایش و همچنین افزایش دقت کار، محفظه فوق درون محفظه کدر بزرگتری مجهز به دوربین فیلمبرداری کوچک دیجیتالی متصل به کامپیوتر جهت ذخیره اطلاعات قرار گرفت. علائم رفتاری ترک اعتیاد ناشی از تزریق نالوکسان به مدت ۳۰ دقیقه ثبت گردید و سپس مورد بازبینی قرار گرفت.

از میان علائم قطع مصرف ثبت شده، علائم ۲۰ گانه که در زیر اشاره شده مورد بررسی و امتیازبندی قرار گرفت و سپس بر اساس روش تعدیل‌شده Rasmussen<sup>۱۶</sup> امتیاز کل علائم قطع مصرف یا Total withdrawal score بدست آمد. رفتارهای مورد مطالعه جهت سهولت پردازش در سه گروه به شرح ذیل دسته‌بندی شد:

الف) رفتارهای مطالعه شده بر اساس تعداد: ۱- پرش ۲- بلند شدن روی پاها به منظور جستجوی اطراف ۳- راه رفتن همراه با بو کشیدن

داشته باشد. همچنین معلوم شده است که به دنبال مصرف مزمن مرفین در موش‌های صحرایی، تغییراتی در ساختار نورون‌های دوپامینی<sup>۹</sup> افزایش بیان ژن‌های گیرنده‌های آن<sup>۱۱</sup> از دیاد رهایش دوپامین و تشکیل متابولیت‌های آن رخ می‌دهد و به هنگام قطع مصرف عکس حالات یاد شده پدید می‌آید.<sup>۱۱</sup> در بروز علائم قطع مصرف مرفین، هسته‌های لوکوس سرولئوس و آکومبسن مغز نقش بارزی دارند.<sup>۱۲-۱۴</sup> نقش سیستم دوپامینرژیک در هسته آکومبسن مورد بررسی قرار گرفته<sup>۸</sup> ولی تا به حال گزارشی در مورد هسته لوکوس سرولئوس ارائه نشده است؛ لذا در این مطالعه اثرات تزریق آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینرژیک  $D_1$  در هسته لوکوس سرولئوس بر علائم قطع مصرف القاء شده به وسیله نالوکسان در موش‌های صحرایی نر وابسته به مرفین مورد بررسی قرار گرفته است.

## روش بررسی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن  $280-220$  گرم (در شروع آزمایش) استفاده گردید. حیوانات به تعداد چهار رأس در هر قفس در حیوان خانه گروه فیزیولوژی تحت شرایط  $12$  ساعت روشنایی- تاریکی و دمای  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  نگهداری گردیدند. در این مدت حیوانات از نظر دسترسی به آب و غذا محدودیتی نداشتند. موش‌ها به صورت تصادفی در هشت گروه ( $n=8$ ) کنترل سالم، کنترل وابسته، وابسته تحت درمان با  $0.5, 0.3, 0.1 \mu\text{g/site}$  کوئین پیرو و  $30, 15, 5 \mu\text{g/site}$  سولپیراید تقسیم‌بندی شدند. هفت گروه به مدت هفت روز مرفین و یک گروه سالین دریافت کرد. مسائل اخلاقی مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

کلیه موش‌ها ابتدا با تزریق سدیم پنتوباریتال ( $40 \text{ mg/kg}$ ) داخل صفاقی) بی‌هوش شدند. به کمک دستگاه استریوتاکس، در هر یک از دو هسته لوکوس سرولئوس به صورت دوطرفه طبق اطلس پاکسینوس<sup>۱۵</sup> کانول راهنمای تهیه شده از سر سوزن شماره ۲۳ به طول  $13$  میلی‌متر از جنس استیل ضد زنگ کاشته شد ( $A.P. = -0.8 \text{ mm}$ ) عقب خط بین گوشه (interaural line)،  $M.L. = \pm 1.3 \text{ mm}$  طرفین خط وسط جمجمه،  $D.V. = -6.3 \text{ mm}$  از سطح جمجمه و میله دندانی ( $-1.3 \text{ mm}$ ) بطوری‌که نوک کانول راهنما یک میلی‌متر بالاتر از مرکز هسته قرار گرفت. برای ثابت نمودن کانول‌ها بر روی جمجمه، از دو عدد پیچ

## یافته‌ها

ابتدا حیوانات به دو گروه ۸ تایی تقسیم شدند. یک گروه تحت عنوان گروه کنترل وابسته، برای ایجاد وابستگی، به صورت زیرجلدی مرفین دریافت کرد و گروه دیگر تحت عنوان گروه کنترل سالم، به جای مرفین، سالین (۲ ml/kg) دریافت نمود. با تزریق نالوکسان، بسیاری از علائم سندرم قطع مصرف از جمله درصد کاهش وزن، درصد زمان خماری، پرش، لرزش دست‌ها، جستجو به همراه بوکشیدن، جویدن، دندان قروچه، بلع، اسهال، افتادگی پلک و تحریک پذیری در گروه کنترل وابسته نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی دار افزایش نشان داد (جدول شماره ۲) و این تغییر در امتیاز کل نیز مشاهده گردید. به دلیل تنوع بروز علائم قطع مصرف و تأثیر بروز یک یا چند رفتار بر فرکانس بروز سایر رفتارها، بررسی تأثیر داروها بر شدت بروز عوارض قطع مصرف امری پیچیده است؛ لذا در این مطالعه از امتیاز کل به عنوان شاخصی برای تعیین شدت سندرم قطع مصرف استفاده گردید. مصرف مزمن مرفین، موجب کاهش وزن حیوانات (۷ تا ۹ درصد) و افزایش میزان مرگ و میر (۱۰٪) گردید.

آنالیز واریانس یک طرفه و پست تست توکی نشان می‌دهد که کوئین پیرول (در مقایسه با گروه کنترل وابسته) با دوز ۰/۱  $\mu\text{g}/\text{site}$  امتیاز کل را کاهش داده است ( $F(3,28) = 6/21, P < 0/01$ ). همچنین این تست‌های آماری نشان می‌دهد که سولپیراید (در مقایسه با گروه کنترل وابسته) با دوزهای ۱۵ و ۳۰  $\mu\text{g}/\text{site}$  امتیاز کل را کم کرده است ( $F(3,28) = 9/22, P < 0/001$ ).

جدول ۱- فاکتور وزنی (Weighting factors) رفتارهای مربوط به علائم قطع مصرف مرفین

فاکتور	علائم رفتاری	فاکتور	علائم رفتاری	فاکتور	علائم رفتاری
۴	دندان قروچه	۱۰	لیسیدن آلت	۵	پرش
۵	بلع	۱۰	حرکت با بوئیدن	۱۰	کشیدن بدن
۵	خماری	۱۰	بوئیدن	۱۰	حرکت سگ خیس
۵	ایستادن روی پاها	۲۰	تمیز کردن بدن	۱۰	لرزش سر
۵	جویدن	۲۰	تمیز کردن صورت	۱۰	لرزش پا

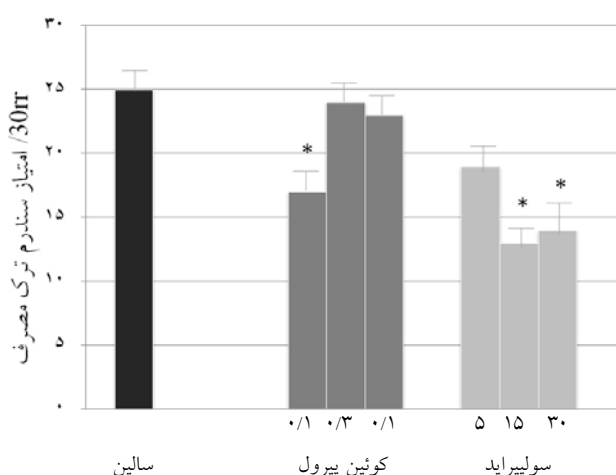
۴- بو کشیدن ۵- واکنش سگ خیس ۶- لرزش سر ۷- لرزش دست ۸- تمیز کردن بدن ۹- تمیز کردن صورت ۱۰- لیسیدن آلت تناسلی ۱۱- جویدن ۱۲- دندان قروچه ۱۳- بلع ۱۴- کشیدن بدن (ب) رفتارهای مطالعه شده بر اساس درصد: ۱- درصد زمان خماری ۲- درصد کاهش وزن بدن (ج) رفتارهای مطالعه شده بر اساس شدت: ۱- اسهال: (۴= خیلی شدید، ۳= شدید، ۲= متوسط، ۱= ضعیف، ۰= فقدان) ۲- افتادگی پلک (۳= شدید، ۲= متوسط، ۱= ضعیف، ۰= فقدان) ۳- پرش چشم (۱= وجود، ۰= عدم وجود) ۴- تحریک پذیری (۱= وجود، ۰= عدم وجود). امتیاز کل (Total withdrawal score)، از مجموع امتیازهای بدست آمده از هر رفتار به طریق ذیل محاسبه گردید:

الف- امتیاز رفتارهای مطالعه شده بر اساس تعداد و درصد زمان خماری برابر است با تعداد یا درصد تقسیم بر فاکتور وزنی هر یک، که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

ب- امتیاز رفتارهای مطالعه شده بر اساس شدت به روش فوق ج- امتیاز مربوط به کاهش وزن برابر است با درصد کاهش وزن بدن. پس از ثبت رفتار، حیوان را با اتر بی‌هوش کرده، رنگ Pontamine sky blue به حجم ۱  $\mu\text{l}$  در هسته تزریق شد. به دنبال آن فرمالین ۱۰٪ داخل قلبی تزریق شده، مغز حیوان خارج گردیده و درون فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. برش‌های بافتی بدست آمده از مغز، پس از رنگ‌آمیزی، جهت تعیین صحت محل تزریق مورد بررسی قرار گرفت. موارد کانول‌گذاری نادرست از مطالعه حذف گردید.

داروهای مورد استفاده شامل سولفات مرفین (تماد، ایران)، نالوکسان هیدروکلراید (داروپخش، ایران)، کوئین پیرول و سولپیراید (TOCRIS) بوده که همگی به جز سولپیراید در نرمال سالین حل گردید. سولپیراید نیز با افزودن اندکی اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال و سپس سود ۰/۱ نرمال و یا نرمال سالین (رساندن pH به محدوده خنثی) حل گردید.

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار (Mean $\pm$ SEM) ارائه گردیده است. اختلاف میانگین دو گروه کنترل وابسته و کنترل سالم با روش آماری Student's unpaired t-test و اختلاف میانگین گروه‌ها با روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و پست تست توکی (Tukey) مورد بررسی قرار گرفت. اختلاف در سطح  $P < 0/05$  معنی دار تلقی شد.



شکل-۱: اثر کوئین پیرول و سولپیراید در هسته لوکوس سروئوس بر شدت سندرم قطع مصرف. \* نشان دهنده  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل وابسته.

خانواده گیرنده‌های  $D_1$ ، شامل گیرنده‌های  $D_1$  و  $D_3$  بوده و در خانواده گیرنده‌های  $D_2$ ، گیرنده‌های دوپامینی  $D_2$ ،  $D_3$  و  $D_4$  قرار دارد. پراکندگی این گیرنده‌ها در بدن متفاوت است.<sup>۲۲،۲۳</sup> همچنان که اشاره شد به دلیل تنوع بروز علائم قطع مصرف و تأثیر بروز یک یا چند رفتار بر فرکانس بروز سایر رفتارها، بررسی تأثیر داروها بر شدت بروز عوارض قطع مصرف امری پیچیده است؛ لذا بررسی تأثیر عوامل مختلف بر شدت بروز عوارض قطع مصرف با در نظر گرفتن هر یک از علائم به‌تنهایی با توجه به بزرگ بودن خطای معیار امری مشکل است؛ لذا برای رفع این نقیصه، برخی از محققان، برای هر یک از علائم سندرم قطع مصرف امتیازی در نظر گرفته‌اند و مجموع امتیازات را مورد تجزیه و تحلیل قرار داده‌اند. با این حال این نوع ارزش‌گذاری به دلیل نحوه امتیاز بندی و همچنین محدودیت در ثبت اکثر علائم رفتاری، اشکالاتی داشت. در این مطالعه، به دلیل فیلمبرداری و مشاهده دقیق رفتارها، اکثر علائم رفتاری ثبت شد. همچنین با استفاده از سیستم امتیاز بندی تعدیل شده محققان دیگر، شاخصی مناسب برای بررسی شدت سندرم قطع مصرف بدست آمد. در این مطالعه همچنین به دلیل قرار دادن حیوان در محفظه کدر و حذف عوامل مزاحم محیطی امکان ثبت دقیق‌تر رفتارهای حیوان به‌طور غیرمستقیم با سیستم فیلمبرداری مدار بسته میسر گردید. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که یکی از دوزهای کوئین پیرول، آگونیست گیرنده‌های دوپامینی  $D_2$ ،<sup>۲۴،۲۵</sup> امتیاز کل سندرم قطع مصرف را

جدول-۲: شدت بروز علائم سندرم قطع مصرف در گروه کنترل وابسته و غیروابسته به مرفین \* نشان‌دهنده  $P < 0.05$ .

علائم	کنترل وابسته	کنترل غیر وابسته
درصد کاهش وزن	$2/28 \pm 0/47$ *	$0/50 \pm 0/17$
درصد مدت خماری	$65/02 \pm 2/48$ *	$1/18 \pm 1/80$
پرش	$2/22 \pm 9/38$ *	$0/00 \pm 0/00$
کشیدن بدن	$1/95 \pm 2/38$	$2/18 \pm 6/00$
حرکت سگ خیس	$0/95 \pm 3/13$	$0/80 \pm 2/29$
لرزش سر	$1/01 \pm 3/50$	$0/87 \pm 4/00$
لرزش پا	$0/11 \pm 3/63$ *	$0/18 \pm 0/29$
ایستادن روی پاها	$2/89 \pm 14/38$	$1/85 \pm 10/00$
حرکت با بوئیدن	$1/99 \pm 10/50$ *	$5/14 \pm 0/85$
بوئیدن	$0/90 \pm 5/25$	$1/12 \pm 4/14$
بلع	$13/75 \pm 5/15$ *	$0/37 \pm 1/00$
جویدن	$4/38 \pm 14/63$ *	$1/47 \pm 3/71$
دندان قروچه	$4/12 \pm 13/00$ *	$0/64 \pm 1/29$
تمیز کردن بدن	$0/79 \pm 2/75$	$1/49 \pm 5/43$
تمیز کردن صورت	$1/61 \pm 7/38$	$1/70 \pm 10/43$
لیسیدن آلت	$0/41 \pm 1/25$	$1/50 \pm 3/86$
خماری	$0/26 \pm 2/63$ *	$00/10 \pm 0/00$
افتادگی پلک	$0/00 \pm 3/00$ *	$0/00 \pm 0/00$
پرش چشم	$0/00 \pm 1/00$ *	$0/00 \pm 0/00$
تحریک پذیری	$0/00 \pm 1/00$ *	$0/00 \pm 0/00$
امتیاز کل	$1/67 \pm 24/90$ *	$0/91 \pm 7/94$

## بحث

لوکوس سروئوس به‌عنوان یکی از مهمترین نواحی آناتومیکی مغز در ارتباط با بروز عوارض قطع مصرف اوپیوئیدها شناخته شده است.<sup>۱۲</sup> به نظر می‌رسد که چندین میانجی در بروز وابستگی و تحمل نسبت به مرفین نقش داشته باشند.<sup>۱۷،۱۸</sup> همچنین شواهد زیادی دال بر نقش سیستم دوپامینرژیک در عوارض قطع مصرف مرفین وجود دارد. هدف این مطالعه بررسی اثرات عوامل دوپامینرژیک گیرنده‌های  $D_2$  در لوکوس سروئوس بر عوارض قطع مصرف مرفین می‌باشد. دو نوع گیرنده اصلی  $D_1$  و  $D_2$  دوپامینی وجود دارد. دوپامین عمدتاً از طریق گیرنده‌های  $D_1$  موجب افزایش cAMP و از طریق گیرنده‌های  $D_2$  موجب کاهش آن می‌گردد.<sup>۱۹</sup> برای هر یک از گیرنده‌های فوق، زیر گروه‌هایی کشف شده است.<sup>۲۰،۲۱</sup>

تناقض است. به نظر می‌رسد که سولپیراید از طریق مهار گیرنده‌های دوپامینی پیش سیناپسی  $D_2$  باعث ازدیاد رهایش دوپامین می‌شود. در صورت صحت این عقیده دوپامین می‌تواند از طریق گیرنده‌های پس سیناپسی  $D_1$  موجب تقلیل شدت عوارض سندرم قطع مصرف گردد. از نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً تحریک گیرنده‌های دوپامینی  $D_1$  و  $D_2$  در هسته لوکوس سرولئوس شدت بروز علامت قطع مصرف القاء شده با نالوکسان را کاهش می‌دهد. برای مشخص کردن مکانیسم دقیق آن مطالعات بیشتری لازم است.

کاهش داد. کوئین پیرول در موش سوری با تجویز محیطی<sup>۷</sup> و در موش صحرائی با تجویز در هسته آکومبیس<sup>۸</sup> نیز اثرات مشابهی داشته است. با این حال، گزارشاتی مبنی بر افزایش شدت برخی از علائم قطع مصرف نظیر پرش با تحریک گیرنده‌های دوپامینی  $D_2$  وجود دارد.<sup>۲۸-۲۶</sup> به نظر می‌رسد گیرنده‌های دوپامینی  $D_2$  نقشی در بروز سندرم قطع مصرف داشته باشند. سولپیراید، آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی  $D_2$ ،<sup>۲۹</sup> نیز امتیاز کل را کاهش داد که با نتایج حاصل از مطالعات قبلی ما در موش سوری<sup>۷</sup> مطابقت داشته و با نتایج دیگر<sup>۸</sup> در

## References

- Maldonado R. Participation of noradrenergic pathways in the expression of opiate withdrawal: biochemical and pharmacological evidence. *Neurosci Biobehav Rev* 1997; 21: 91-104.
- Zarrindast MR, Zarghi A. Morphine stimulates locomotor activity by an indirect dopaminergic mechanism: possible D-1 and D-2 receptor involvement. *Gen Pharmacol* 1992; 23: 1221-5.
- Druhan JP, Walters CL, Aston-Jones G. Behavioral activation induced by D(2)-like receptor stimulation during opiate withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 294: 531-8.
- Zarrindast MR, Mamanpush SM, Rashidy-pour A. Morphine inhibits dopaminergic and cholinergic induced ejaculation in rats. *Gen Pharmacol* 1994; 25: 803-8.
- Zarrindast MR, Jamshidzadeh A. Inhibitory effect of morphine on yawning induced by cholinergic and dopamine D2 receptor activation in rats. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 675-8.
- Zarrindast MR, Vahedy A, Heidari MR, Ghazi-Khansari M. On the mechanism (s) of morphine-induced hypothermia. *J Psychopharmacol* 1994; 8: 222-26.
- Zarrindast MR, Habibi M, Borzabadi S, Fazli-Tabaei S, Hossein Yahyavi S, Rostamin P. The effects of dopamine receptor agents on naloxone-induced jumping behaviour in morphine-dependent mice. *Eur J Pharmacol* 2002; 451: 287-93.
- Harris GC, Aston-Jones G. Involvement of D2 dopamine receptors in the nucleus accumbens in the opiate withdrawal syndrome. *Nature* 1994; 371: 155-7.
- Sklair-Tavron L, Shi WX, Lane SB, Harris HW, Bunney BS, Nestler EJ. Chronic morphine induces visible changes in the morphology of mesolimbic dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 11202-7.
- Georges F, Stinus L, Bloch B and Le Moine C. Chronic morphine exposure and spontaneous withdrawal are associated with modifications of dopamine receptor and neuropeptide gene expression in the rat striatum. *Eur J Neurosci* 1999; 11: 481-490.
- Ahtee L, Attila LM, Carlson KR, Haikala H. Changes in brain monoamine metabolism during withdrawal from chronic oral self-administration of morphine and in response to a morphine challenge in the withdrawn state. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261: 669-77.
- Maldonado R, Stinus L, Gold LH, Koob GF. Role of different brain structures in the expression of the physical morphine withdrawal syndrome. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261: 669-77.
- Redmond DE Jr, Krystal JH. Multiple mechanisms of withdrawal from opioid drugs. *Annu Rev Neurosci* 1984; 7: 443-78.
- Self DW, Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug reinforcement and addiction. *Annu Rev Neurosci* 1995; 18: 463-95.
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 3rd ed. New York: Academic Press: 1982.
- Rasmussen K, Hsu MA, Vandergriff J. The selective mGlu2/3receptor antagonist LY341495 exacerbates behavioral signs of morphine withdrawal and morphine-withdrawal induced activation of locus coeruleus neurons. *Neuropharmacology* 2004; 46: 620-8.
- Bhargava HN. Diversity of agents that modify opioid tolerance, physical dependence, abstinence syndrome, and self-administrative behavior. *Pharmacol Rev* 1994; 46: 293-324.
- Bourin M, Malinge M, Colombel MC, Vasar E. Cholecystokinin receptor agonists block the jumping behaviour precipitated in morphine-dependent mice by naloxone. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 9: 37-43.
- Kebabian JW, Calne DB. Multiple receptors of dopamine. *Nature* 1979; 277: 93-6.
- Sibley DR, Monsma FJ Jr. Molecular biology of dopamine receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13: 61-9.
- Civelli O, Bunzow JR, Grandy DK. Molecular diversity of the dopamine receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 33: 281-307.
- Altar CA, O'Neil S, Walter RJ Jr, Marshall JF. Brain dopamine and serotonin receptor sites revealed by digital subtraction autoradiography. *Science* 1985; 228: 597-600.
- Dubois A, Savasta M, Curet O, Scatton B. Autoradiographic distribution of D1 agonist (3H) SKF38393 in the rat brain and spinal cord; Comparison with the distribution of D2 dopamine receptors. *Neuroscience* 1986; 19: 125-37.
- 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* 2003; 75: 363-71.
- Zarrindast MR, Rezaeif A. Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. *Eur J Pharmacol* 2004; 497: 197-204.
- Schulz R, Herz A. Naloxone-precipitated withdrawal reveals sensitization to neurotransmitters in morphine tolerant/dependent rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1977; 299: 95-9.
- Martin JR, Takemori AE. Modification of the development of acute opiate tolerance by increased dopamine receptor sensitivity. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 241: 48-55.
- Walters CL, Aston-Jones G, Druhan JP. Expression of fos-related antigens in the nucleus accumbens during opiate withdrawal and their attenuation by a D2 dopamine receptor agonist. *Neuropsychopharmacology* 2000; 23: 307-15.
- Rezaeif A, Zarrindast MR, Sahraei H, Haeri-Rohani A. Involvement of dopamine receptors of the dorsal hippocampus on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rats. *J Psychopharmacol* 2003; 17: 415-23.

## The effects of intra-locus coeruleus injection of dopamine D<sub>2</sub> receptor agents on Naloxone withdrawal signs in Morphine-dependent rats

### Abstract

Mirzaii Dizgah I.<sup>1\*</sup>  
Karimian M.<sup>2</sup>  
Zarrindast M.R.<sup>3</sup>  
Sohanaki H.<sup>2</sup>

1- Department of Physiology,  
Qum University of Medical  
Sciences

2- Department of Physiology

3- Department of Pharmacology,

Tehran University of Medical  
Sciences

**Background:** Opiate-induced addiction is a main social problem in Iran. As treatment of this problem is a health priority among the medical community, studies on this topic are very crucial. The exact mechanism of dependence on opiates and their withdrawal syndrome remain unclear. It seems that dopaminergic system and locus coeruleus (LC) have an important role in the expression of somatic signs during opioids withdrawal. The LC has been shown to contain significant levels of dopamine (DA). In the present study, the effects of different D<sub>2</sub> dopaminergic receptor agonist and antagonist administration in the LC on withdrawal sign expression in morphine dependence is investigated in rats.

**Methods:** Adult male Wistar rats, weighing 220–280 g were divided into eight groups (n=8). Two cannulae were stereotaxically implanted bilaterally into the LC of each rat. After a one-week recovery, seven groups were rendered dependent on morphine by subcutaneous injection during a seven-day period. Non-dependent control animals received saline according to the same protocol. Animals received bilateral intra-LC injections of saline (1 µg/site) and quinpirole (0.1, 0.3 and 0.5 µg/site, a D<sub>2</sub> agonist) 15 min and sulpiride (5, 15 and 30 µg/site, a D<sub>2</sub> antagonist) 30 min prior to naloxone injection about 24 hours after the last dose of morphine or saline according to their respective group. To calculate the total withdrawal score, as an index of withdrawal syndrome, 20 different withdrawal signs were assessed and the scores of the intensity of these withdrawal signs were added.

**Results:** Total withdrawal scores were significantly decreased by quinpirole (0.1µg/site) and sulpiride (15 and 30 µg/site).

**Conclusion:** The D<sub>2</sub> dopaminergic system in the LC may be involved in the morphine-induced dependency in rats. Further studies are needed to define the mechanism of this dependency in order to improve methods for the rehabilitation of addicts.

**Keywords:** Withdrawal syndrome, dopamine, morphine, dependency, naloxone, locus coeruleus, quinpirole, sulpiride.

\* Corresponding author: Department of physiology, School of Medicine, Qum University of Medical Sciences, Qom. Tel: +98-251-7831370 email: emirzaii@razi.tums.ac.ir