

## ارزیابی نقش ۲-اکسو-۴-تiazolidine-کربوکسیلیک اسید (-2-Oxo-4-Thiazolidine-Carboxylic Acid) بر کسب و بیان وابستگی به مورفین در موشهای نژاد NMRI

حسن سهرابیان (MSc)<sup>۱</sup>، هدایت صحرانی (PhD)<sup>۲</sup>، بشری هاتف (PhD)<sup>۲</sup>، غلام حسین مفتاحی (PhD)<sup>۲\*</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۲- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)

دریافت: ۹۵/۱۰/۸، اصلاح: ۹۵/۱۱/۶، پذیرش: ۹۵/۱۲/۴

### خلاصه

**سابقه و هدف:** در طی وابستگی به مورفین غلظت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی کاهش می‌یابد که یکی از مهمترین آنها گلوتاتیون می‌باشد، بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند اثرات ترک مورفین را کاهش دهد. لذا، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر دوزهای مختلف ۲-اکسو-۴-تiazolidine-کربوکسیلیک اسید (OTC = -2-Oxo-4-Thiazolidine-Carboxylic Acid) (فعال‌کننده آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز) بر بیان و کسب وابستگی فیزیکی توسط مورفین می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی از موشهای کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI (۲۰-۳۰ گرم) در ۹ گروه ۸ تایی استفاده شد. موشها به روش مارشال به مورفین وابسته شدند. OTC در دوزهای مختلف (۲۰، ۱۰، ۵ mg/kg) در روزهای القاء وابستگی (کسب) و یا روز تست (بیان) به حیوانات تزریق گردید. با تجویز نالوکسان دو نشانه اصلی سندرم ترک (تعداد پرش و مدفوع) مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** تجویز نالوکسان در موش‌هایی که در روزهای قبل مورفین دریافت کرده بودند باعث افزایش وزن مدفوع حیوانات ( $0.62 \pm 0.02$  و  $0.3 \pm 0.05$  گرم به ترتیب در گروه مورفین و سالیین) و تعداد پرش گردید ( $46 \pm 15$  و  $1 \pm 0.2$  در گروه مورفین و سالیین:  $p < 0.01$ ) تجویز OTC نسبت به گروه سالیین تغییر معنی‌داری در تعداد پرش و میزان مدفوع نداشت. OTC در روزهای القاء وابستگی سبب افزایش تعداد پرش و مقدار مدفوع ( $0.53 \pm 0.01$  و  $1.2 \pm 0.05$ ،  $0.1 \pm 0.04$ ،  $0.62 \pm 0.01$  به ترتیب دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ mg/kg و سالیین:  $p < 0.01$ ) و در روز تست باعث افزایش تعداد پرش گردید ( $p < 0.01$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که تحریک گلوتاتیون ترانسفراز توسط OTC باعث تقویت کسب وابستگی فیزیکی به مورفین می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** مورفین، گلوتاتیون ترانسفراز، وابستگی، بیان، روش مارشال، اسپهال.

### مقدمه

بروز تحمل به اثرات مورفین از مهمترین دلایل محدودیت مصرف طولانی مدت آن است. از نظر بالینی تحمل به حالتی اطلاق می‌شود که دوز مؤثر مورفین در طی دوران درمان کارائی خود را در القاء بی‌دردی از دست داده و نیاز به دوزهای بالاتر دارو بوجود می‌آید (۱). تحقیقات گسترده‌ای به منظور یافتن راه حل‌هایی برای کاهش تحمل به مورفین انجام شده است و اکنون از نظر سلولی-مولکولی و نیز از نظر ساختاری عملکرد مورفین در القاء تحمل شناخته شده است (۲). از نظر ساختاری، در هنگام بروز تحمل به مورفین تغییرات وسیع سلولی و مولکولی در نواحی مختلف دستگاه عصبی به وقوع می‌پیوندد. از مهمترین این تغییرات می‌توان به کاهش اندازه و تعداد سیناپس‌های دوپامینی (۳)، اویپوئیدی (۴) و گلوتاماتی (۵)، و نیز تغییر شکل نورون‌ها و کاهش نوروفیلان‌های درون آنها اشاره کرد (۶). از نظر سلولی نیز غیر حساس شدن و یا تنظیم کاهشی تعداد گیرنده‌های اویپوئیدی در مناطق مختلف دستگاه عصبی (۷)، افزایش بیوستز اویپوئیدی درون‌زاد مانند پرو-داینورفین و اندورفین و پرو-انکفالین (۸)، غیرحساس شدن گیرنده‌های گلوتاماتی ایونوتروپیکی (NMDA) و

بروز تحمل به اثرات مورفین از مهمترین دلایل محدودیت مصرف طولانی مدت آن است. از نظر بالینی تحمل به حالتی اطلاق می‌شود که دوز مؤثر مورفین در طی دوران درمان کارائی خود را در القاء بی‌دردی از دست داده و نیاز به دوزهای بالاتر دارو بوجود می‌آید (۱). تحقیقات گسترده‌ای به منظور یافتن راه حل‌هایی برای کاهش تحمل به مورفین انجام شده است و اکنون از نظر سلولی-مولکولی و نیز از نظر ساختاری عملکرد مورفین در القاء تحمل شناخته شده است (۲). از نظر ساختاری، در هنگام بروز تحمل به مورفین تغییرات وسیع سلولی و مولکولی در نواحی مختلف دستگاه عصبی به وقوع می‌پیوندد. از مهمترین این تغییرات می‌توان به کاهش اندازه و تعداد سیناپس‌های دوپامینی (۳)، اویپوئیدی (۴) و گلوتاماتی (۵)، و نیز تغییر شکل نورون‌ها و کاهش نوروفیلان‌های درون آنها اشاره کرد (۶). از نظر سلولی نیز غیر حساس شدن و یا تنظیم کاهشی تعداد گیرنده‌های اویپوئیدی در مناطق مختلف دستگاه عصبی (۷)، افزایش بیوستز اویپوئیدی درون‌زاد مانند پرو-داینورفین و اندورفین و پرو-انکفالین (۸)، غیرحساس شدن گیرنده‌های گلوتاماتی ایونوتروپیکی (NMDA) و

این مقاله حاصل پایان نامه حسن سهرابیان دانشجوی رشته زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال می‌باشد.

\*مسئول مقاله: دکتر غلام حسین مفتاحی

آدرس: تهران، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج). تلفن: ۰۲۱-۲۶۱۲۷۲۸۶

E-mail: hossein.meftahi@bmsu.ac.ir

**داروها:** در تحقیق حاضر از مورفین سولفات (تماد-ایران)، نالوکسان هیدروکلراید (تولید دارو-ایران) و OTC (۲-اکسو ۴-تيازولیدین-کربوکسیلیک اسید) استفاده شد. داروها در سالیین حل شده و با حجم ۱۰ mg/kg به صورت زیر جلدی تزریق شدند.

**روش القای وابستگی به مورفین:** حیوانات با روش Marshall به مورفین وابسته شدند (۲۴). مورفین سولفات سه بار در روز با دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ mg/kg در ساعت اول، سه ساعت بعد و هشت ساعت بعد به حیوانات تزریق شد (جدول ۱). این کار سه روز ادامه می‌یافت. در روز چهارم (روز تست)، یک دوز منفرد مورفین (۵۰ mg/kg) در ساعت ۱۰ صبح به حیوانات تزریق گردید.

جدول ۱. روش Marshall جهت ایجاد وابستگی به مورفین (۲۴)

| روزها   | ساعت تزریق مورفین | ساعت اول  | سه ساعت بعد | هشت ساعت بعد |
|---------|-------------------|-----------|-------------|--------------|
| روز اول | ۵۰ mg/kg          | ۵۰ mg/kg  | ۵۰ mg/kg    | ۷۵ mg/kg     |
| روز دوم | ۷۵ mg/kg          | ۷۵ mg/kg  | ۷۵ mg/kg    | ۱۰۰ mg/kg    |
| روز سوم | ۱۰۰ mg/kg         | ۱۰۰ mg/kg | ۱۰۰ mg/kg   | ۱۲۵ mg/kg    |

**طراحی آزمایش و گروه‌های آزمایشی:** در مطالعه حاضر از ۹ گروه آزمایشی و در هر گروه از ۸ سر حیوان استفاده گردید. همه داروها به صورت زیر جلدی تزریق شدند. به یک گروه مورفین سولفات، سه بار در روز با دوزهای مختلف (۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ mg/kg) بمدت سه روز به صورت زیر جلدی تزریق شد. در روز چهارم (روز تست) مورفین سولفات (۵۰ mg/kg) در ساعت ۱۰ صبح به حیوانات تزریق شده و دو ساعت بعد به حیوانات نالوکسان (۲ mg/kg) تزریق شد و بلافاصله به منظور بررسی علائم سندرم ترک، حیوانات به مدت ۳۰ دقیقه زیر محفظه‌ای استوانه‌ای قرار داده شدند و تعداد پرش و میزان مدفوع اندازه‌گیری گردید.

برای اندازه‌گیری وزن مدفوع در کف محفظه استوانه‌ای کاغذ توزین شده قرار داده شد که پس از پایان آزمایش کاغذ مذکور مجدداً توزین شده و اختلاف وزن کاغذ در ابتدا و انتهای آزمایش نموداری از میزان مدفوع حیوان را به دست می‌داد. به گروه ششم، به جای مورفین سولفات، نرمال سالیین تزریق شد. جهت بررسی اثر OTC برکسب وابستگی فیزیکی توسط مورفین، به سه گروه از حیوانات دوزهای مختلف OTC (۲۰، ۱۰، ۵ mg/kg) ۳۰ دقیقه قبل از مورفین تزریق گردید. این کار بمدت سه روز و روزی سه بار انجام شد. در روز چهارم حیوانات تنها مورفین ۵۰ mg/kg دریافت کردند.

سپس، دو ساعت بعد نالوکسان تزریق شد و بمدت ۳۰ دقیقه علائم سندرم ترک (تعداد پرشها و میزان مدفوع) در حیوانات اندازه‌گیری شد. جهت بررسی اثر OTC بر بیان وابستگی فیزیکی توسط مورفین، به سه گروه از حیوانات، دوزهای مختلف مورفین روزی سه بار تزریق شد. این کار تا سه روز ادامه یافت. در روز چهارم در ساعت ۱۰ صبح فقط دوز ۵۰ mg/kg مورفین تزریق شد. ۳۰ دقیقه قبل از تزریق نالوکسان، دوزهای مختلف OTC (۲۰، ۱۰، ۵ mg/kg) به حیوانات تزریق گردید. سپس یک ساعت بعد با نالوکسان تست را انجام داده و میزان مدفوع و تعداد پرشها بمدت ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری گردید.

القاء شده با مورفین با تجویز توام مهار گیرنده‌های گلوتاماتی از نوع NMDA از بین می‌رود (۱۴). در این زمینه همچنین مشخص شده است که تجویز داروی LY235959 که یک آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی است باعث بروز بی‌دردی در موشهای کوچک تحمل یافته به مورفین با روش پس کشیدن دم می‌گردد (۱۵).

از سوی دیگر، تجویز داخل نخاعی MK801 که یک داروی آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA می‌باشد، بی‌دردی به مورفین را در روش پس کشیدن دم تقویت می‌کند (۱۶). چون گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA حداقل قسمتی از کار خود را از طریق نیتریک اکساید انجام می‌دهند، محققان مختلف نشان داده‌اند که تجویز مهار کننده‌های آنزیم نیتریک اکساید نیز قادر به کاهش تحمل ناشی از مورفین در مدل‌های مختلف بررسی درد هستند (۱۹-۱۷). از سوی دیگر، نشان داده است که گلوپاتین و نیز یکی از متابولیت‌های آن به نام S-Nitrosoglutathion می‌تواند به عنوان آگونیست بر گیرنده‌های NMDA اثر کرده و پاسخ‌های خود را القاء کنند (۲۰). OTC [(-)-2-Oxo-4-Thiazolidine-Carboxylic Acid] به عنوان محرک تولید داخل سلولی گلوپاتین عمل می‌کند (۲۱). با توجه به اینکه پس از تجویز مورفین ذخیره گلوپاتین سلولها به سرعت تخلیه می‌شود، برخی از مطالعات گزارش کرده‌اند که در هنگام بروز وابستگی به مورفین، غلظت آنتی اکسیدان‌های طبیعی در بدن کاهش می‌یابد (۲۲).

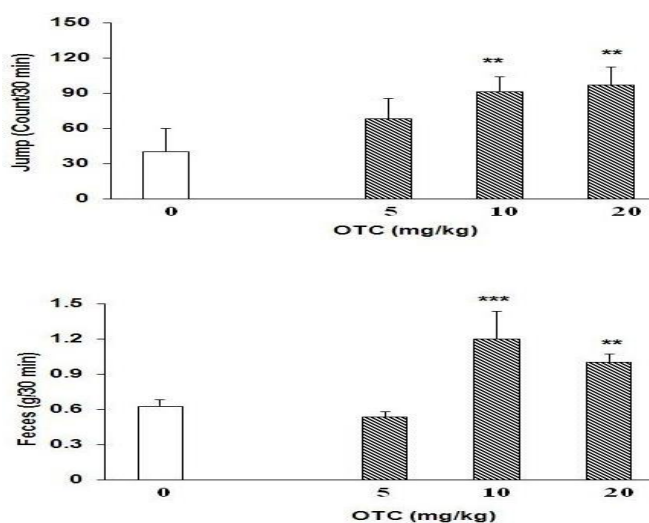
همچنین، تجویز آنتی‌اکسیدانهای مختلف توانسته است از بروز سندرم ترک در مدل‌های حیوانی و نیز در انسان‌های معتاد جلوگیری کند. بنظر می‌رسد که مورفین پس از تزریق باعث افزایش متابولیسم در مغز می‌شود و داروهای آنتی‌اکسیدان با مهار این اثرات مورفین می‌تواند به عنوان یک عامل مهاری در کار مورفین تداخل کنند (۲۳). بنابراین با توجه به اینکه گلوپاتین یکی از قویترین آنتی‌اکسیدانها به شمار می‌رود و تحقیقات متعدد نشان داده‌اند که تجویز مورفین می‌تواند به تخلیه سیستم آنتی‌اکسیدان درونی بدن منجر شود و مهمترین سیستمی که در این حالت بیشترین اثرپذیری را از خود نشان می‌دهد، سیستم گلوپاتین می‌باشد، در تحقیق حاضر اثر تحریک این سیستم بر عوارض ناشی از وابستگی به مورفین بررسی شد. بنابراین، در تحقیق حاضر، دو نشانه اصلی سندرم ترک در حیوانات، پرش و مدفوع (اسهال) مورد بررسی قرار گرفتند. به عبارت دیگر هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر تحریک گلوپاتین ترانسفر از توسط OTC در بیان و کسب وابستگی فیزیکی به مورفین می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

**حیوانات:** این مطالعه تجربی بر روی موشهای آزمایشگاهی کوچک نر نژاد NMRI با میانگین وزنی ۲۵-۳۰ گرم صورت گرفت. حیوانات از انستیتو پاستور خریداری شده و پس از انتقال به اتاق حیوانات در قفس‌های پلاستیکی شفاف مخصوص به ابعاد (۱۵ × ۳۰ × ۴۵) در شرایط آزمایشگاهی استاندارد با آب و غذای مناسب و تازه و همچنین دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای ۲۲-۲۴°C نگهداری شدند. آزمایشات بر طبق دستورالعمل‌های اخلاقی بین المللی و با تایید کمیته اخلاق انجام شد.

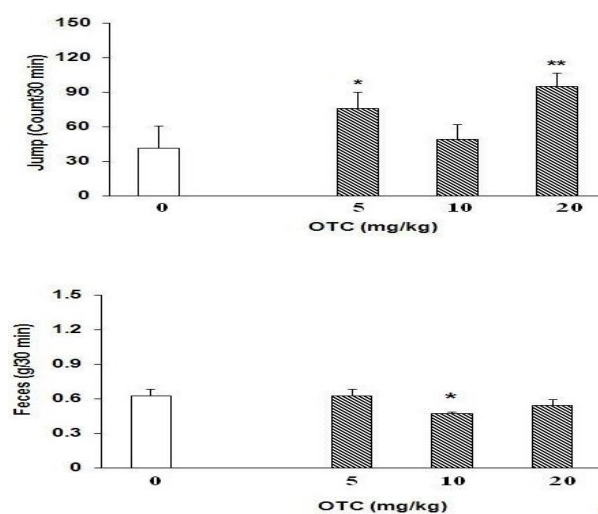
( $0.62 \pm 0.12$  و  $0.47 \pm 0.10$ ،  $0.62 \pm 0.14$  و  $0.54 \pm 0.13$ ) بترتیب در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg (p < 0.05).

**بررسی اثر OTC بر بیان وابستگی به مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی:** آزمایش ها نشان دادند که تجویز OTC اثرات متناقضی در بیان وابستگی به مورفین دارد، بدین صورت که باعث افزایش معنی دار تعداد پرش در دوزهای ۵ و ۱۰ mg/kg و کاهش معنی دار (p < 0.05) اسپهال در دوز ۱۰ mg/kg می گردید (تعداد پرش:  $75.67 \pm 19.41$  و  $48.84 \pm 16.11$ ،  $94.5 \pm 15.68$ ،  $41.5 \pm 15.23$  بترتیب در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg: سالیان: میزان مدفوع:  $0.62 \pm 0.12$  و  $0.47 \pm 0.10$ ،  $0.62 \pm 0.14$  و  $0.54 \pm 0.13$  بترتیب در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg: سالیان: (p < 0.05) (شکل ۲).



شکل ۱. بررسی اثر OTC بر کسب وابستگی به مورفین

حیوانات قبل از هربار دریافت مورفین در روزهای القاء وابستگی یکی از سه دوز ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم OTC و گروه دیگر سالیان دریافت کردند. نتایج به صورت (Mean ± SEM) در مورد ۸ سر حیوان می باشد. \*\*\*p < 0.001, \*\*p < 0.01, \*p < 0.05



شکل ۲. بررسی اثر OTC بر کسب وابستگی به مورفین

به حیوانات به روشی که در قسمت روشها گفته شد مورفین سولفات تزریق شد. در روز تست ۳۰ دقیقه قبل از نالوکسان دوزهای مختلف OTC (۵، ۱۰، ۲۰) تزریق شد و میزان پرش و اسپهال به مدت ۳۰ دقیقه پس از تجویز نالوکسان تست شدند. \*\*\*p < 0.001, \*\*p < 0.01, \*p < 0.05

**تجزیه و تحلیل داده ها:** داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۲ و آزمون آماری واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست Tukey تجزیه و تحلیل شدند و  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته ها

**تأثیر تجویز مکرر مورفین بر القاء وابستگی در موشهای کوچک آزمایشگاهی:** در این بخش موش ها به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه دوزهای مختلف مورفین (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۱۲۵ mg/kg) و گروه دیگر سالیان (به روش ذکر شده در قسمت روشها) دریافت کردند. روز چهارم نالوکسان تجویز شد. آزمایش ها نشان دادند که تجویز نالوکسان سبب افزایش تعداد پرش ( $46 \pm 15$  و  $1 \pm 2$ ) به ترتیب در گروه مورفین و سالیان (p < 0.001) و میزان مدفوع ( $0.62 \pm 0.12$  و  $0.3 \pm 0.05$ ) گرم به ترتیب در گروه مورفین و سالیان (p < 0.001) در گروه دریافت کننده مورفین نسبت به گروه دریافت کننده سالیان گردید، که نشان میدهد تجویز دوزهای افزایش یابنده مورفین باعث القاء وابستگی در این حیوانات گردیده است.

**بررسی اثر تجویز OTC بر القاء وابستگی فیزیکی در موشهای کوچک آزمایشگاهی:** در این آزمایش حیوانات به چهار گروه تقسیم شدند. سه گروه از حیوانات دوزهای مختلف OTC (۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg) و گروه چهارم سالیان را در سه روز متوالی (همانند مورفین) دریافت کردند. روز چهارم همه گروه ها نالوکسان دریافت کردند. نتایج حاصل نشان داد که تجویز دوزهای مختلف OTC به تنهایی هیچ تأثیر معنی داری (p < 0.05) بر تعداد پرش و میزان مدفوع ندارد (تعداد پرش:  $5 \pm 2$  و  $3 \pm 1.5$ ،  $4 \pm 2$ ،  $2 \pm 0.5$ ؛ میزان مدفوع:  $0.3 \pm 0.1$ ،  $0.2 \pm 0.02$ ،  $0.4 \pm 0.04$ ،  $0.62 \pm 0.12$  بترتیب در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg: سالیان:  $0.2 \pm 0.1$  (p < 0.05) (جدول ۳).

جدول ۳. اثر تزریق نالوکسان به موشهای تحت تیمار با OTC در دوزهای مختلف

| متغیر        | تعداد پرش در ۳۰ دقیقه | میزان مدفوع (گرم) |
|--------------|-----------------------|-------------------|
| گروه         | Mean ± SEM            | Mean ± SEM        |
| سالیان       | $2 \pm 0.5$           | $0.2 \pm 0.1$     |
| ۵ mg/kg OTC  | $5 \pm 2$             | $0.3 \pm 0.1$     |
| ۱۰ mg/kg OTC | $3 \pm 1.5$           | $0.2 \pm 0.02$    |
| ۲۰ mg/kg OTC | $4 \pm 2$             | $0.4 \pm 0.04$    |

**بررسی اثر OTC بر کسب وابستگی به مورفین در موشهای کوچک آزمایشگاهی:** در این سری از آزمایش ها از چهار گروه حیوان استفاده شد. سه گروه از حیوانات قبل از هربار دریافت مورفین در روزهای القاء وابستگی یکی از سه دوز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg OTC و گروه دیگر سالیان دریافت کردند. نتایج نشان دادند که تجویز OTC اثر مورفین را در القای پرش ( $68.2 \pm 17.3$  و  $90.8 \pm 13.26$ ،  $97 \pm 14.4$ ،  $40 \pm 18.5$  بترتیب در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg: سالیان: p < 0.01) و میزان مدفوع افزایش می دهد ( $0.53 \pm 0.1$  و  $0.2 \pm 0.05$ ،  $0.4 \pm 0.04$ ،  $0.62 \pm 0.12$  بترتیب در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg: سالیان: p < 0.001) و این افزایش ها در هر دو حالت (پرش و مدفوع) وابسته به دوز می باشد (شکل ۱).

در روز تست باعث افزایش تعداد پرش ( $75.67 \pm 19.41$  و  $48.84 \pm 16.11$ ،  $94.5 \pm 15.68$ ،  $41.5 \pm 15.23$  به ترتیب در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg: سالیان: p < 0.001) گردید، اما مقدار مدفوع را بطور معنی داری کاهش داد

## بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز OTC اثر مورفین را در القای پرش و میزان مدفوع افزایش می دهد و این افزایش ها در هر دو حالت وابسته به دوز می باشد (درکسب وابستگی به مورفین). از طرف دیگر OTC در روز تست (در بیان وابستگی) باعث افزایش تعداد پرش گردید، اما مقدار مدفوع را بطور معنی داری کاهش داد.

وابستگی به مورفین از مهمترین عوارض مصرف طولانی مدت آن است که با بروز علائم مختلف در هنگام قطع مصرف آن همراه بوده و به تحریک فرد معتاد برای مصرف مجدد مورفین منجر می شود. وابستگی به مورفین با بروز علائم بسیار زیادی نمود پیدا می کند که مهمترین آنها عبارتند از: اسهال، تهوع، دل پیچه، احساس درد، سیخ شدن موها و دندان قورچه که در افراد معتاد به خوبی دیده می شود. در موش های کوچک آزمایشگاهی علائمی مانند افتادگی شکم و پرش نیز دیده می شود (۲۹-۲۵).

مطالعه حاضر نشان داد که بر خلاف انتظار تحریک سیستم گلوکاتینون باعث افزایش کسب وابستگی به مورفین می گردد، به نحوی که حیوانات وابسته به مورفین که با دوزهای مختلف OTC پیش درمانی شده بودند، هم پرش بیشتری را از خود نشان دادند و هم میزان دفع مدفوع در آنها افزایش یافته بود. این افزایش در هر دو حالت وابسته به دوز بود. به نظر می رسد که علاوه بر نقش مورفین در کاهش گلوکاتینون، عوامل دیگری را نیز باید در این زمینه در نظر گرفت. بایستی در نظر داشت که تحریک سیستم گلوکاتینون باعث کاهش ذخیره گلوکاتامات سلولی در اثر تبدیل آن به گلوکاتینون می شود. تحقیقات گذشته نشان داده اند که تحریک سیستم گلوکاتاماتی اثری بر مورفین در القاء وابستگی ندارد، اما مهار سیستم گلوکاتاماتی باعث مهار وابستگی و تحمل به مورفین در موش های کوچک آزمایشگاهی می گردد. این اثر بیشتر در مورد گیرنده های NMDA گلوکاتاماتی بیان شده است، و به نظر می رسد که این گیرنده ها نقش ویژه ای را در این امر بازی می کنند (۳۰).

بنابراین، در مطالعه حاضر، انتظار بر این بود که تحریک سیستم گلوکاتینون با خالی کردن ذخیره گلوکاتامات درون سلولی باعث کاهش تحمل به مورفین شود اما نتایج به دست آمده عکس این پیش بینی بود. در تحقیقات گذشته نشان داده شد که گلوکاتینون می تواند به صورت آگونیست گیرنده NMDA در نورون های کشت شده هیپوکامپ موش بزرگ آزمایشگاهی عمل کند (۲۰). به همین ترتیب ممکن است که گلوکاتینون به عنوان آگونیست بر گیرنده های NMDA در نقاط دیگر دستگاه عصبی نیز عملکرد مشابهی داشته باشد، بنابراین به نظر می رسد، که داروی OTC با تحریک سیستم گلوکاتینون باعث تولید بیشتر این ماده شده و به دنبال رها شدن این ماده تاثیر مشابه گلوکاتامات از گلوکاتینون در روی سلول های دستگاه عصبی القاء گردیده است که نمود بیرونی آن افزایش تعداد پرش و میزان

مدفوع در حیوانات وابسته به مورفینی بود که قبل از هر بار مورفین، OTC دریافت می کردند. هر چند که در تحقیقات قبلی تحریک مستقیم سیستم گلوکاتاماتی اثر بخشی مهمی از خود بر کسب وابستگی به مورفین نشان نداده است، اما این امر نمی تواند به معنای عدم تاثیر سیستم گلوکاتامات در این زمینه باشد. زیرا مهار گیرنده های NMDA باعث مهار وابستگی به مورفین می گردند. بنابراین احتمالاً اگر دوز به کار رفته مورفین کاهش داده شود، ممکن است اثربخشی آگونیست ها برای القاء وابستگی از دوز ابتدایی ۲۵ mg استفاده شود تا اثربخشی OTC نمود بیشتری پیدا کند. همچنین در مطالعه حاضر، تجویز OTC اثر دوگانه ای را بر بیان وابستگی به مورفین از خود نشان داد، به نحوی که میزان پرش ابتدا افزایش و سپس کاهش یافته و دوباره افزایش یافت، هر چند که کاهش میزان پرش با گروه کنترل تفاوت نداشت، اما افزایش ها کاملاً معنی دار بودند. از سوی دیگر تجویز OTC باعث کاهش میزان مدفوع در حیوانات گردید که تنها در دوز ۱۰ mg/kg از نظر آماری معنی دار بود. این امر بیان کننده وجود سیستم های مختلف در بروز پدیده های اسهال و پرش در موش های وابسته به مورفین است. چرا که تحریک سیستم گلوکاتینون باعث افزایش پرش و کاهش اسهال در هنگام بیان وابستگی به مورفین گردیده است. به نظر می رسد که نقش سیستم گلوکاتینون در پدیده پرش و اسهال در موش های وابسته به مورفین، با هم یکسان نیست. نمی توان برای نقش آنتی اکسیدانی گلوکاتینون در این امر اهمیت زیادی قائل شد. چرا که تحقیقات قبلی با استفاده از اسید اسکوربیک نتایجی را نشان دادند که با تحقیق ما همخوانی ندارد (۳۲ و ۳۱).

اما باید در نظر داشت که هر کدام از داروهای آنتی اکسیدان موجود سیستم های نوروترانسمیتری مغز را نیز تحت تاثیر قرار می دهند، بنابراین چند عامل را به طور همزمان فعال کرده و پاسخ پیچیده ای را القاء میکند. اما باید در نظر داشت که در تحقیق ما اثر OTC یک اثر کاملاً وابسته به دوز بود که نشان از وجود یک سیستم تاثیرپذیر تنظیمی در عملکرد آن داشت. البته نباید از نظر دور داشت که ممکن است تداخلی ناشناخته به صورت فارماکوکینتیکی بین مورفین و OTC وجود داشته باشد که حاصل آن نتایج به دست آمده باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که تحریک گلوکاتینون ترانسفراز توسط OTC باعث تقویت کسب وابستگی فیزیکی به مورفین (هم افزایش پرش و هم افزایش مدفوع و در هر دو حالت وابسته به دوز بود) و بروز اثرات متناقض در بیان وابستگی به مورفین (افزایش پرش و کاهش اسهال) در موش های کوچک آزمایشگاهی می شود.

## تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تشکر و قدردانی می گردد.

# An Evaluation of the Role of OTC [(-)-2-Oxo-4-thiazolidinecarboxylic acid] in Acquisition and Expression of Morphine Dependence in Male NMRI Mice

H. Sohrabian (MSc)<sup>1</sup>, H. Sahraei (PhD)<sup>2</sup>, B. Hatef (PhD)<sup>2</sup>, G.H. Meftahi (PhD)\*<sup>2</sup>

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, I.R. Iran

2. Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, IR Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(5); May 2017; PP: 61-7

Received: Dec 28<sup>th</sup> 2016, Revised: Jan 25<sup>th</sup> 2017, Accepted: Jan 23<sup>th</sup> 2017

## ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** In morphine dependence, the concentration of natural antioxidants decreases and glutathione is one of the most important ones. Therefore, antioxidants may reduce morphine withdrawal symptoms. Therefore, the present study was conducted to analyze the effect of various concentrations of OTC [(-)-2-Oxo-4-thiazolidinecarboxylic acid] (glutathione transferase activator) on acquisition and expression of morphine dependence.

**METHODS:** In this experimental study, small male NMRI mice (20 – 30 g) were divided into 9 groups (n = 8). The mice became morphine-dependent using Marshall Method. The animals were administered with various concentrations of OTC (5, 10, 20 mg/kg) on days of inducing dependence (reception) or days of test (expression). Two main symptoms of withdrawal syndrome (the number of jumps and the weight of stools) were evaluated by administration of naloxone.

**FINDINGS:** Administration of naloxone in the mice that received morphine on previous days increased the weight of stools ( $0.62 \pm 0.2$  and  $0.3 \pm 0.05$  in morphine and saline group, respectively) and the number of jumps ( $46 \pm 15$  and  $1 \pm 0.2$  in morphine and saline group, respectively;  $p < 0.01$ ). OTC administration did not cause significant changes in the weight of stools and the number of jumps compared with saline group. OTC administration on days of reception increased the weight of stools and the number of jumps ( $0.53 \pm 0.01$ ,  $1.2 \pm 0.5$ ,  $1 \pm 0.04$  and  $0.62 \pm 0.01$  in 5, 10, 20 mg/kg OTC and saline, respectively;  $p < 0.01$ ) and increased the number of jumps on days of test ( $p < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Results of the study demonstrated that stimulating glutathione transferase by OTC improves the acquisition of physical dependence to morphine.

**KEY WORDS:** Morphine, Glutathione transferase, Dependence, Expression, Marshall Method, Diarrhea.

## Please cite this article as follows:

Sohrabian H, Sahraei H, Hatef B, Meftahi GH. An Evaluation of the Role of OTC [(-)-2-Oxo-4-thiazolidinecarboxylic acid] in Acquisition and Expression of Morphine Dependence in Male NMRI Mice. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(5):61-7.

\*Corresponding author: G.H. Meftahi (PhD)

Address: Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

Tel: +98 21 26127286

E-mail: hossein.meftahi@bmsu.ac.ir

## References

1. Harrison LM, Kastin AJ, Zadina JE. Opiate tolerance and dependence: receptors, G-proteins, and antiopeptides. *Peptides*. 1998;19:1603-30.
2. Christie MJ. Cellular neuroadaptations to chronic opioids: tolerance, withdrawal and addiction. *Br J Pharmacol*. 2008;154(2):384-96.
3. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Swanson JM. Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Mol Psychiatry*. 2004;9(6):557-69.
4. Berger AC, Whistler JL. How to Design an Opioid Drug That Causes Reduced Tolerance and Dependence. *Ann Neurol*. 2010;67(5):559-69.
5. Peters J, De Vries TJ. Glutamate mechanisms underlying opiate memories. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(9):a012088.
6. Jaquet PE, Ferrer-Alcón M, Ventayol P, Guimón J, García-Sevilla JA. Acute and chronic effects of morphine and naloxone on the phosphorylation of neurofilament-H proteins in the rat brain. *Neurosci Lett*. 2001;304(1):37-40.
7. Williams JT, Christie MJ, Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiol Rev*. 2001;81(1):299-343.
8. Law PY, Loh HH, Wei LN. Insights into the receptor transcription and signaling: implications in opioid tolerance and dependence. *Neuropharmacol*. 2004;47(1):300-11.
9. Guo Y, Wang HL, Xiang XH, Zhao Y. The role of glutamate and its receptors in mesocorticolimbic dopaminergic regions in opioid addiction. *Neurosci Biobehav Rev*. 2009;33(6):864-73.
10. Mohammadian Z, Sahraei H, Meftahi GH, Ali-Beik H. Effects of unilateral and bi-lateral inhibition of rostral ventral tegmental area and central nucleus of amygdala on morphine-induced place conditioning in male Wistar rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2017;44(3):403-12.
11. Motahari AA, Sahraei H, Meftahi GH. Role of nitric oxide on dopamine release and morphine-dependency. *Basic Clin Neurosci*. 2016;7(4):283.
12. Meftahi GH, Janahmadi M, Eslamizade MJ. Effects of resveratrol on intrinsic neuronal properties of CA1 pyramidal neurons in rat hippocampal slices. *physiology and pharmacology*. *Physiol Pharmacol*. 2014;18 (2), 144-155
13. Harvey BK, Hope BT, Shaham Y. Tolerance to opiate reward: role of midbrain IRS2-Akt pathway. *Nature Neurosci*. 2007;10(1):9-10.
14. Ribeiro Do Couto B, Aguilar MA, Manzanedo C, Rodriguez-Arias M, Minarro J. Effects of NMDA receptor antagonists (MK-801 and memantine) on the acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2004;28(6):1035-43.
15. Ozdemir E, Bagcivan I, Gursoy S. Modulation of morphine analgesia and tolerance in rats by NMDA receptor antagonists. *Neurophysiol*. 2012;44(2):123-30.
16. Luger TJ, Lorenz IH, Grabner-Weiss C, Hayashi T. Effect of the NMDA-antagonist, MK 801, on benzodiazepine-opioid interactions at the spinal and supraspinal level in rats. *Br J Pharmacol*. 1995;114(5):1097-103.
17. Toda N, Kishioka S, Hatano Y, Toda H. Modulation of opioid actions by nitric oxide signaling. *Anesthesiol*. 2009;110(1):166-81.
18. Bahari Z, Manaheji H, Hosseinmardi N, Meftahi GH, Sadeghi M, Danialy S, Noorbakhsh SM. Induction of spinal long-term synaptic potentiation is sensitive to inhibition of neuronal NOS in L5 spinal nerve-transected rats. *EXCLI*. 2014;13:751-60.
19. Bahari Z, Manaheji H, Dargahi L, Daniali S, Norozian M, Meftahi GH, Sadeghi M. Time Profile of nNOS Expression in the Spinal Dorsal Horn after L5 Spinal Root Transection in Rats. *Neurophysiol*. 2015;47(4):287-94.

- 20.Chueh SH. S-Nitrosoglutathione and glutathione act as NMDA receptor agonists in cultured hippocampal neurons. *Acta pharmacologica Sinica*. 2006;27(7):853-60.
- 21.Terrill JR, Boyatzis A, Grounds MD, Arthur PG. Treatment with the cysteine precursor l-2-oxothiazolidine-4-carboxylate (OTC) implicates taurine deficiency in severity of dystropathology in mdx mice. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013;45(9):2097-108.
- 22.Yun J, Lee Y, Yun K, Oh S. Bergenin decreases the morphine-induced physical dependence via antioxidative activity in mice. *Arch Pharm Res*. 2015;38(6):1248-54.
- 23.Bakar NH, Hashim SN, Mohamad N, Husain R, Adnan LH, Shariff H, Zakaria NH. Role of oxidative stress in opiate withdrawal and dependence: Exploring the potential use of honey. *J App Pharm Sci*. 2015;5(12):159-61.
- 24.Haghparsat A, Khani A, Lashgari R, Fallahian S. Reducing the time and dose of morphine application used in Marshall and Grahame-Smith method for induction of morphine tolerance and dependence in mice. *Drug Alcohol Depend*. 2008;93(1):185-9.
- 25.Cami J, Farre M. Drug addiction. *New Engl J Med*. 2003;349:975-86.
- 26.Chalabi-Yani D, Sahraei H, Meftahi GH, Hosseini SB, Sadeghi-Gharajehdaghi S, Beig HA, Bourbour Z, Ranjabaran M. Effect of transient inactivation of ventral tegmental area on the expression and acquisition of nicotine-induced conditioned place preference in rats. *Iran Biomed J*. 2015;19(4):214.
- 27.Hosseini SB, Sahraei H, Mohammadi A, Hatef B, Meftahi GH, Chalabi-Yani D, Alibeig H, Sadeghi-Gharajehdaghi S, Ranjabaran M. Inactivation of the nucl. accumbens core exerts no effect on nicotine-induced conditioned place preference. *Neurophysiol*. 2015;47(4):295-301.
- 28.Ghodrat M, Sahraei H, Razjouyan J, Meftahi GH. Effects of a saffron alcoholic extract on visual short-term memory in humans: a psychophysical study. *Neurophysiology*. 2014;46(3):247-53.
- 29.Asalgoo G, Jahromi GP, Meftahi GH, Sahraei H. Posttraumatic stress disorder (PTSD): mechanisms and possible treatments. *Neurophysiol*. 2015;47(6):482-9.
- 30.Gass JT, Olive MF. Glutamatergic substrates of drug addiction and alcoholism. *Biochem pharmacol*. 2008;75(1):218-65.
- 31.Kulkarni SK, Deshpande C, Dhir A. Ascorbic acid inhibits development of tolerance and dependence to opiates in mice: Possible glutamatergic or dopaminergic modulation. *Indian J Pharm Sci*. 2008;70(1):56-60.
- 32.Sadeghi-Gharajehdaghi S, Sahraei H, Bahari Z, Meftahi GH, Jahromi GP, Ali-Beik H. Effect of amygdaloid complex inhibition on nicotine-induced conditioned place preference in rats. *J App Pharma Sci*. 2017;7(03):40-7.