

## **Effect of ZnO nanoparticles on morphine dependence in mice in the presence and absence of vitamin C**

Kheiry M<sup>1</sup>, Kesmati M<sup>1\*</sup>, Najaf-Zadeh H<sup>3</sup>, Fatemi SR<sup>4</sup>

1-Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

2- Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

3- Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

Received: 26 Jul 2014, Accepted: 17 Sep 2014

### **Abstract**

**Background:** With the increasing use of nanoparticles of zinc Oxide (nZnO) in the industry, the pharmaceutical and chemical industry, the effects of the nanoparticles on opioid dependence and its possible interaction with vitamin C (as an antioxidant agent) has not been indicated. This study aimed to clarify the effect of ZnO nanoparticles on morphine dependence in the presence and absence of vitamin C in CPP method.

**Materials and Methods:** In this study, adult male mice weighing 25±3 g were used in the groups which received different doses of morphine (2/5, 5, 10 mg/kg, Sc), Nano ZnO (1, 2.5, 5, 10 mg / kg, IP), vitamin C (1, 5, 25 mg / kg, IP) and groups which receiving combination of vitamin C and nano ZnO. All categories received morphine 5 mg / kg, for induction and diagnosis of dependence in CPP.

**Results:** Nano ZnO concentrations (2.5, 5, 10mg/kg, IP) caused a significant decrease in morphine CPP ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ) and the 1 mg / kg of nano was ineffective. Vitamin C in doses of 5 and 25 mg/kg decreased the expression of morphine-induced conditioned place preference ( $p < 0.01$ ) and a value of 1 mg/kg had no effects. All doses of ZnO in the presence of ineffective dose of vitamin C showed a stronger inhibitory effect than to alone nZnO in morphine CCP.

**Conclusion:** The combination of vitamin C and Nano ZnO are more effective to deal with the psychological dependence to morphin and probably can provide a new approach to addiction treatment.

**Keywords:** CPP, Morphine, Nanoparticles, Vitamin C, Zinc Oxide

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran  
Email: m.kesmati@scu.ac.ir

## اثر نانو ذرات اکسید روی بر وابستگی به مرفین در حضور و غیاب ویتامین C در موش‌های سوری

مریم خیری<sup>۱</sup>، مهناز کسمتی<sup>۲\*</sup>، حسین نجف زاده<sup>۳</sup>، سید رضا فاطمی<sup>۴</sup>

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد، گروه فارماکولوژی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** با استفاده روز افزون از نانو ذرات اکسید روی در صنعت، صنایع دارویی و بهداشتی، اثر این نانو ذره بر وابستگی به اوبیوئیدها و تداخل احتمالی آن با ویتامین C بررسی نشده است. هدف این مطالعه روشن شدن اثر نانو اکسید روی بر وابستگی به مرفین در روش ترجیح مکانی شرطی شده در حضور و غیاب ویتامین C است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی از موش سوری نر بالغ با وزن  $25 \pm 3$  گرم در گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف مرفین (۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، نانو اکسید روی (۱/۵، ۲، ۵، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ویتامین C (۱، ۵، ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دریافت توام ویتامین C و نانو اکسید روی استفاده شد. تمامی گروه‌ها مرفین ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم را برای ایجاد و تشخیص وابستگی در روش ترجیح مکانی شرطی شده دریافت نمودند.

**یافته‌ها:** نانو اکسید روی در مقادیر (۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب کاهش معنی‌دار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین شد ( $p < 0/001$ ،  $p < 0/01$ ). ویتامین C در مقادیر ۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین شد ( $p < 0/01$ ). نانو اکسید روی در کلیه مقادیر در حضور دوز بی‌تأثیر ویتامین C اثر مهار قوی‌تری را در بیان ترجیح مکانی حاصل از مرفین نسبت به نانو اکسید روی به تنهایی نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** مصرف توام نانو اکسید روی و اسیداسکوربیک در کاهش وابستگی روانی به مرفین موثرتر و احتمالاً می‌تواند رویکردی قابل بررسی در درمان پدیده اعتیاد باشد.

**واژگان کلیدی:** ترجیح مکان شرطی شده، مرفین، نانوذرات، ویتامین C، اکسید روی

\* نویسنده مسئول: اهواز، دانشگاه شهید چمران، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

Email: m.kesmati@scu.ac.ir

## مقدمه

پدیده وابستگی به مواد مخدر یکی از مهم‌ترین موضوعات اجتماعی بشر محسوب می‌شود و با وجود پیشرفت زیاد در شناخت عوامل دخیل در آن هنوز مسائل و ابهامات فراوانی پیرامون آن وجود دارد. سیستم اوپیوئیدی با سایر سیستم‌های نوروترانسمیتری از قبیل آدرنرژیک، کولینرژیک، نیتریک اکساید (NO) (۱)، هیستامینرژیک (۲)، گلوتامینرژیک (۳) و دوپامینرژیک (۴) در ایفای اثرات خود، برهم کنش دارد (۱).

گزارشی مبنی بر وساطت گیرنده‌های NMDA گلوتامات در اثرات ناشی از مرفین در سیستم اعصاب مرکزی ارائه شده که نشان می‌دهد گیرنده‌های اوپیوئیدی و NMDA در پیشرفت فرآیند وابستگی به مرفین با یکدیگر همکاری دارند (۳). یون روی ( $Zn^{++}$ ) به عنوان آنتاگونیست غیررقابتی NMDA می‌تواند باعث تنظیم کاهشی پاسخ گلوتامات از طریق مهار آزادسازی و هم‌چنین کاهش توانایی آن در فعال کردن گیرنده‌های NMDA شود (۵، ۶). در گزارش‌هایی که در ارتباط با تداخل فلز روی و سیستم اوپیوئیدی مرکزی وجود دارد، مشخص شده است که مرفین با اثر بر زیر واحد NR در NMDA سبب افزایش نفوذپذیری این گیرنده به یون‌های  $Zn^{++}$  و  $Ca^{++}$  به داخل سلول می‌شود (۷). بدین ترتیب به نظر می‌رسد یک نوع تعامل پیچیده‌ای بین سیستم اوپیوئیدی و عملکرد یون روی و گیرنده NMDA وجود داشته باشد که نیازمند بررسی بیشتری می‌باشد.

در چند سال گذشته با توسعه فناوری نانو، نانو اکسید روی به عنوان یک مکمل جدید حاوی یون روی با خصوصیات متفاوتی از ترکیب معمولی خود عرضه شده و به سرعت توجه بسیاری از محققین علوم مختلف از جمله بیوتکنولوژیست‌ها را به خود جلب کرده است (۸). در زمینه پزشکی و درمان مورد استفاده پزشکان و داروسازان قرار گرفته و اثر بخشی آن در عکس برداری‌های پزشکی، درمان سرطان‌های مغزی، ترمیم بافتی و انتقال دارو مورد تایید می‌باشد (۹). در مطالعات اخیر مشخص شده که نانو اکسید

روی اثرات مثبتی را بر برخی اعمال عصبی رفتاری اعمال می‌کند به طوری که رفتارهای شبه اضطرابی و درد را بهبود بخشیده و با سیستم اوپیوئیدی تداخل عمل نشان می‌دهد (۱۱). هم‌چنین نشان داده شده نانو اکسید روی اثر مهاری قابل توجهی را بر وابستگی به مرفین در مدل ترجیح مکانی شرطی شده (Conditioned Place Preference-CPP) اعمال می‌کند که این اثر به مراتب قوی‌تر از نوع معمولی آن است (۱۳، ۱۲). پیشنهاد شده است که نانو ذرات به دلیل کوچکی اندازه به راحتی از سد خونی مغزی عبور کرده (۱۴) و با تداخل اثر با عمل گیرنده‌های اوپیوئیدی اثرات مهاری قوی‌تری را بر وابستگی به مرفین ایجاد نموده‌اند.

در سایر گزارش‌ها نشان داده شده که آسکوربیک اسید به صورت غیر مستقیم وابستگی حاصل از مصرف مزمن مرفین را کاهش می‌دهد و گفته شده علت آن به خاطر فعالیت تعدیلی بر عمل سیناپسی دوپامین و گلوتامات باشد (۱۵). نشان داده شده که آسکوربیک اسید (ویتامین C) از نورون‌های گلوتاماترژیک رها شده (۱۶) و سبب مهار گیرنده‌های NMDA می‌شود (۱۸). پیشنهاد شده آسکوربیک اسید از طریق پدیده ردوکس (Redox) فعالیت این گیرنده را تنظیم می‌کند. در واقع نقش مهاری یا مدولاتوری بر روی عملکرد این گیرنده دارد و گفته شده است علاوه بر سیستم گلوتامات بر سیستم دوپامینی نیز نقش مهاری دارد (۱۵). احتمال داده شده با پپتیدهای اوپیوئیدی اثری متقابل داشته بنابراین اثر پاداش و وابستگی فیزیکی به اوپیوئیدها را کاهش می‌دهد (۱۷).

با توجه به تداخل عمل یون روی و گیرنده‌های اوپیوئیدی و هم‌چنین اثر اسید آسکوربیک بر سیستم اوپیوئیدی و اثر مشترک آنها بر گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی، فرض بر این است که مصرف توام ترکیبات روی و اسیداسکوربیک شرایط متفاوتی را برای عمل گیرنده‌های اوپیوئیدی ایجاد نماید. از آنجائی که تاکنون گزارشی از اثر ترکیبات یون روی در سایز نانو و اسید آسکوربیک بر فرآیند وابستگی به اوپیوئیدها مشاهده نشده است در این تحقیق اثر نانو اکسید روی در حضور و غیاب

شدند. شش ساعت بعد پس از توزین مجدد به حیوانات سالیین تزریق نموده و به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت بیشتر ترجیحی (قسمت تاریک دستگاه) قرار داده شدند. در روز سوم زمان تزریق مرفین و سالیین بر عکس شد.

### ج- مرحله پس از شرطی سازی (آزمون)

در روز پنجم آزمایش‌ها ابتدا به حیوانات سالیین یا دارو تزریق و نیم ساعت بعد، پس از برداشتن دریچه گیوتینی حیوان در داخل دستگاه قرار می‌گرفت تا برای مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه حرکت کند. مدت زمان توقف هر حیوان در هر قسمت دستگاه ثبت شد و زمان توقف در قسمت دریافت دارو (Drug-paired) از زمان توقف حیوان در قسمت دریافت سالیین (saline-paired) کم شد که به عنوان نمره شرطی شدن (conditioning Score) در نظر گرفته می‌شد.

### داروها:

در این پژوهش مرفین سولفات (از شرکت تماد ایران)، نانو ذرات اکسید روی (از شرکت لولیتک آلمان) و ویتامین C (شرکت داروسازی حکیم، ایران) استفاده شد. تمام داروها در سالیین ۰/۹ درصد حل شدند و مرفین به صورت زیرجلدی و نانو اکسید روی و ویتامین C به صورت درون صفاقی تزریق شد. نانو ذرات اکسید روی قبل از تزریق ابتدا توسط دستگاه حمام التراسونیک به مدت ۱۵ دقیقه پراکنده گردیدند و سپس پیش از هر بار مصرف توسط دستگاه لرزاننده مجدداً پراکنده گردیدند. گروه‌های کنترل سالیین را به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

### اساس گروه بندی

-گروه شاهد (دریافت کننده سالیین)

به یک گروه از موش‌ها به جای مرفین در روزهای شرطی و بعد شرطی سالیین با حجم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد.

-گروه دریافت کننده مورفین سولفات

به سه گروه از موش‌ها جهت القای شرطی شدن مکانی مقادیر مختلف مرفین (۱۰، ۵، ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) طی روزهای شرطی شدن تزریق شد.

ویتامین C بر بیان ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مرفین، به عنوان یک روش ایجاد وابستگی به اوپیوئیدهای خارجی، مورد بررسی قرار گرفته است.

### مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از موش‌های سوری نر نژاد NMRI با میانگین وزنی  $25 \pm 3$  گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۷ تایی با شرایط آزمایشگاهی  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و در دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی همراه تهویه با آب و غذای کافی نگهداری شدند.

### روش القای ترجیح مکان شرطی شده

در این آزمایش از دستگاه چوبی با ابعاد  $45 \times 16 \times 30$  سانتی‌متر (طول و عرض و ارتفاع) و متشکل از دو خانه تاریک و روشن که توسط یک دریچه گیوتینی به هم مرتبط بودند استفاده شد. دوره آزمایش ترجیح مکان شرطی شده پنج روز بوده که شامل مراحل زیرمی‌باشد:

### الف- مرحله پیش شرطی

در روز اول یا روز آشنایی هر دوره، پس از برداشتن دریچه گیوتینی، به منظور آشنایی حیوان با محیط به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه قرار گرفته و برای تعیین مکان شرطی شدن زمان سپری شده در هر قسمت دستگاه با استفاده از دوربین فیلمبرداری و نرم افزار Maze router در این روز ثبت شد. از آنجایی که حیوانات تمایل ذاتی به قسمت تاریک دستگاه نشان می‌دهند، بنابراین از شیوه طرفدار (Bias) برای ادامه کار استفاده شد و حیوانات در قسمت روشن دستگاه شرطی شدند.

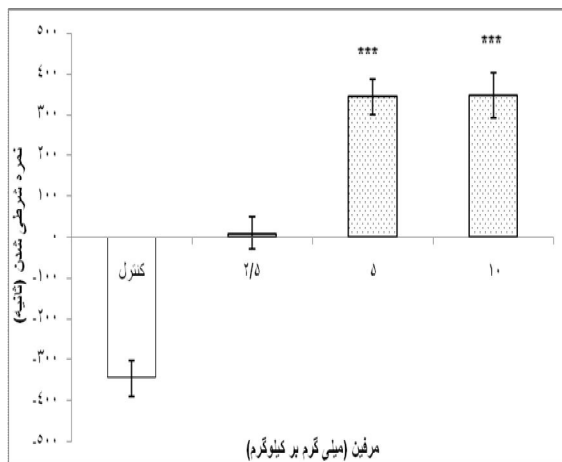
### ب- مرحله شرطی سازی

برای شرطی نمودن حیوانات به مدت سه روز بعد از مرحله پیش شرطی به آنها دارو (مرفین) و سالیین تزریق شد. به این صورت که در ساعت ۹ صبح روزهای دوم و چهارم، پس از توزین حیوانات، مرفین به صورت زیرجلدی تزریق و پس از بستن دریچه گیوتینی به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت کمتر ترجیحی (قسمت روشن دستگاه) قرار داده

## یافته‌ها

## -القا ترجیح مکان شرطی شده توسط مرفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی:

مقایسه آماری بین گروه‌های دریافت کننده مرفین در مقادیر (۲/۵، ۵، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل (سالین) در شاخص القاء ترجیح مکان شرطی شدن و فعالیت حرکتی نشان می‌دهد که مقدار ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم مرفین باعث القاء ترجیح مکان شرطی شدن شده است ( $p < 0.001$ )، در حالی که در مقدار ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم قادر به القاء ترجیح مکان شرطی شدن نبوده است (نمودار ۱). بنابر این می‌توان نتیجه گرفت که مرفین به صورت وابسته به مقدار سبب القاء ترجیح مکان شرطی شده‌اند. در آزمایشات بعدی از مقدار ۵ میلی گرم بر کیلوگرم مرفین جهت القاء ترجیح مکانی شرطی شدن استفاده شد.



نمودار ۱. اثر مقادیر متفاوت مرفین (۲/۵، ۵، ۱۰) در القاء ترجیح مکانی شرطی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتایج به صورت (میانگین ± انحراف معیار) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است. تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل (سالین/سالین) و مرفین در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی گرم در نمره شرطی شدن مشاهده شد ( $p < 0.001$  \*\*\*).

## اثر مقادیر مختلف نانو اکسید روی بر شاخص بیان

## ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین

مقایسه آماری بین گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید روی در مقادیر ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم

-گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید روی در حضور مرفین به چهار گروه از موش‌ها که طی مرحله شرطی مرفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کرده بودند در مرحله بعد شرطی مقادیر مختلف نانو اکسید روی (۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) تزریق شد و طبق آنچه در قسمت روش‌ها گفته شد مورد تست قرار گرفتند (۱۰، ۱۱).

-گروه‌های دریافت کننده ویتامین C در حضور مرفین

به سه گروه از موش‌ها که طی مرحله شرطی مرفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کرده بودند در مرحله بعد شرطی مقادیر مختلف ویتامین C (۱، ۲۵، ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) تزریق شد و طبق آنچه در قسمت روش‌ها گفته شد مورد تست قرار گرفتند.

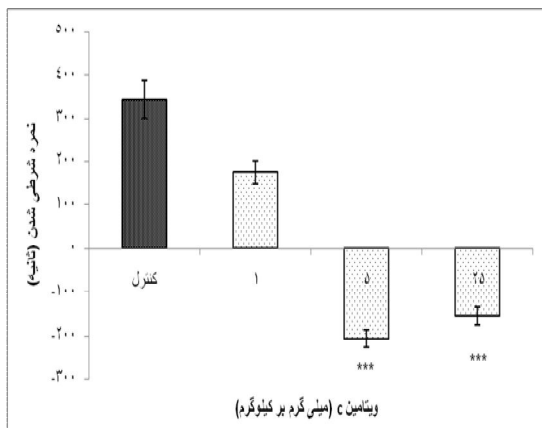
-گروه‌های دریافت کننده مرفین سولفات (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و ویتامین C (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) و نانو اکسیدروی (۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)

به چهار گروه از موش‌ها که طی مرحله شرطی مرفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کرده بودند در مرحله بعد شرطی مقادیر مختلف نانو اکسید روی (۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به همراه ویتامین C (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) تزریق شد و طبق آنچه در قسمت روش‌ها گفته شد مورد تست قرار گرفتند. کلیه آزمایش‌ها بر اساس مصوبه کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت.

## تجزیه و تحلیل داده‌ها:

داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار Instate نسخه ۳ و روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one way) - و آزمون توکی مورد بررسی قرار گرفتند. در تمام آزمایشات سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نمودارها براساس میانگین نمره شرطی شدن ± انحراف معیار از میانگین رسم شدند. در هر گروه هفت سر موش استفاده شد.

اثر قابل ملاحظه‌ای بر نمره شرطی شدن ناشی از مرفین اعمال ننموده است، در حالی که در مقادیر ۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با  $p < 0.001$  از بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین ممانعت نموده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ویتامین C به صورت وابسته به مقدار سبب کاهش وابستگی به مرفین می‌گردد.



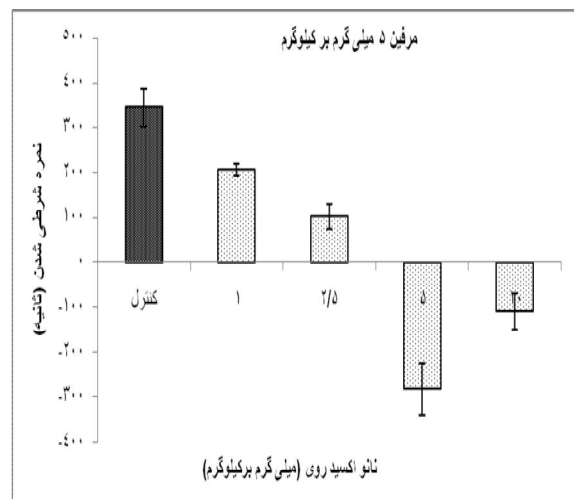
نمودار ۳. اثر مقادیر مختلف ویتامین C (۱، ۵، ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) شاخص‌های بیان ترجیح مکان شرطی شدن در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتیجه به صورت (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است.  $p < 0.001$  \*\*\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های ۵، ۲۵ میلی‌گرم / کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل (مرفین / سالین) می‌باشد.

### اثر مقادیر مختلف نانو اکسید روی بر نمره شرطی

#### شدن ناشی از مرفین در حضور ویتامین C

در این بخش اثر نانو اکسید روی در مقادیر موثر و غیر موثر در حضور و غیاب مقدار غیر موثر ویتامین C (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در کاهش وابستگی به مرفین بررسی شد. ابتدا مرفین به مدت سه روز طبق توضیحات قبلی تزریق و روز آزمون ویتامین C تزریق و بعد از ۵ دقیقه نانو اکسید روی تزریق شد و ۳۰ دقیقه پس از تزریق نانو اکسید روی، آزمون رفتاری وابستگی به مرفین انجام گردید. مقایسه آماری بین گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید روی (۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در حضور ویتامین C (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر نمره شرطی شدن ناشی از مرفین در نمودار ۴ نمایش داده شده است.

و گروه کنترل (مرفین / سالین) در شاخص بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین در نمودار ۲ نمایش داده شده است. همچنان که ملاحظه می‌شود مقدار ۱ میلی‌گرم / کیلوگرم نانو اکسید روی اثر قابل ملاحظه‌ای بر نمره شرطی شدن ناشی از مرفین اعمال ننموده است، در حالی که در مقادیر ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌گرم / کیلوگرم با  $p < 0.05$  و  $p < 0.001$  از بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین ممانعت نموده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نانو اکسید روی به صورت وابسته به مقدار سبب کاهش بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین می‌گردد. این نتایج نشان داد نانو اکسید روی در مقدار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم حداکثر اثر را در کاهش وابستگی به مرفین نشان می‌دهد.



نمودار ۲. اثر مقادیر مختلف نانو اکسید روی بر شاخص‌های بیان ترجیح مکان شرطی شدن. نتیجه به صورت (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است.  $p < 0.05$  \* و  $p < 0.001$  \*\*\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌گرم / کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل (مرفین / سالین) می‌باشد.

### اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر بیان ترجیح مکان

#### شرطی شده ناشی از مرفین

مقایسه آماری بین گروه‌های دریافت کننده ویتامین C در مقادیر (۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل (سالین) در شاخص بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین در نمودار ۳ نمایش داده شده است. همچنان که ملاحظه می‌شود مقدار ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C

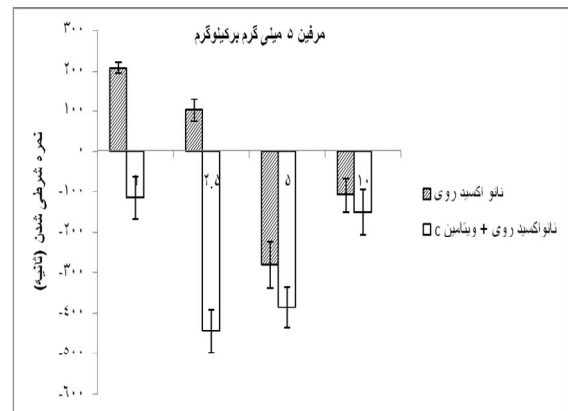
مرفین شد. به طوری که این کاهش در مقدار (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به طور چشم گیری قابل ملاحظه بود.

اکنون به خوبی روشن شده است که در ایجاد وابستگی به مواد مخدر سیستم های دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک مغز اهمیت زیادی دارد (۱۶). مسیر دوپامینرژیک مزولیمیک دارای نقش اساسی در میانجی گری پاداش ناشی از مرفین است (۱۸). اگر چه مرفین یک آگونیست انتخابی ضعیف برای گیرنده های مو اوپیوئیدی به شمار می رود (۱، ۷، ۱۸)، با این حال از طریق این گیرنده، نورون های گابا را در ناحیه تگمنتوم شکمی مهار کرده و موجب برداشت مهار از نورون های دوپامینرژیک می گردد. در نتیجه غلظت دوپامین در هسته آکومبسنس و سایر نواحی افزایش می یابد و این پدیده در مکانیسم پاداش نقش دارد (۱۹).

هم چنین تحریک فارماکولوژیک گیرنده های NMDA گلوتاماتی در ناحیه تگمنتوم شکمی آزادسازی دوپامین در هسته آکومبسنس را نیز زیاد می کند (۱۹). به عبارتی گیرنده های NMDA گلوتامات تگمنتوم شکمی و هسته آکومبسنس جهت بیان CPP ناشی از مرفین ضروری می باشند (۲۰). نقش گلوتامات در ایجاد وابستگی به مواد مخدر مشخص شده است (۲۱). گیرنده های NMDA در فعالیت گیرنده های اوپیوئیدی و انتقال پیام آنها دخالت می کند (۲۲). تغییر در فعالیت گیرنده NMDA و مسدود کردن آن می تواند از وابستگی به مرفین با ممانعت از کاهش تعداد گیرنده های مو، جلوگیری کند (۲۳).

روی به صورت آلوستریک یک آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA محسوب می گردد و سبب مهار عملکرد گلوتامات می شود (۵، ۶). هم چنان که اشاره شد گیرنده های NMDA گلوتامات جهت بیان CPP مرفین ضروری بوده و تحریک گیرنده های مذکور در تسهیل اثرات وابستگی به مرفین نقش دارند (۲۰). به طوری که در تأیید این مسئله، تجویز سیستمیک آنتاگونیست های گیرنده NMDA سبب بلوک کسب و بیان CPP ناشی از مرفین می شود (۲۰). از آن جایی که روی آنتاگونیست غیر رقابتی

همچنان که ملاحظه می شود تجویز توأم ویتامین C ۱ با نانو اکسید روی در مقادیر ۱، ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی داری سبب کاهش ترجیح مکان شرطی ناشی از مرفین در مقایسه با گروه دریافت کننده نانو اکسید روی به تنهایی با (p < ۰/۰۵) و (p < ۰/۰۰۱) شدند. بنابر این می توان نتیجه گرفت که نانو اکسید روی در حضور ویتامین C سبب کاهش بیشتر بیان ترجیح مکان شرطی ناشی از مرفین می گردد و با افزایش مقدار نانو اکسید روی، سبب کاهش اثر تقویتی ویتامین C می گردد.



نمودار ۴. اثر مقادیر مختلف نانو اکسید روی (۱، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در حضور ویتامین C (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با نانو اکسید روی به تنهایی بر شاخص وابستگی به مرفین در موش های کوچک آزمایشگاهی. نتیجه به صورت (میانگین ± انحراف معیار) نمره شرطی شدن در مورد ۷ سر حیوان است. نشان دهنده اختلاف معنی دار در مقادیر مشابه بین گروه های دریافت کننده نانو اکسید روی در حضور ویتامین C در مقایسه با گروه نانو اکسید روی به تنهایی با \*\*\* (p < ۰/۰۰۱)، \*\* (p < ۰/۰۱) می باشد.

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که مرفین در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی گرم در مدل CPP با بروز رفتار ترجیح مکانی نسبت به کنترل وابستگی ایجاد می نماید. این نتایج با مطالعات قبلی مشابه که نشان داده اند مرفین در این مقادیر قادر به بیان ترجیح مکانی است همخوانی دارد (۱۸). در بخش دیگر نتایج نشان داده شد که تجویز حاد نانو اکسید روی باعث کاهش بیان ترجیح مکانی ناشی از

آسکوربیک نیز اثر تعدیلی بر فعالیت دوپامینرژیک دارد (۲۶) و از آنجایی که نشان داده شده که اسید آسکوربیک از نورون‌های گلوتاماترژیک رها شده (۱۶) و سبب مهار گیرنده‌های NMDA می‌شود (۱۵). پیشنهاد شده اسید آسکوربیک از طریق پدیده‌ی ردوکس فعالیت این گیرنده را تنظیم و نقش مهاری یا مدولاتوری بر روی عملکرد این گیرنده دارد (۱۵). مشخص شده تحریک فارماکولوژیک گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی در ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA) آزادسازی دوپامین در هسته آکومبیس را زیاد می‌کند (۳، ۱۷) و مقادیر بالای آسکوربات، گیرنده‌های NMDA در VTA را مهار و آزادسازی دوپامین حاصل از مصرف مزمن مرفین را در هسته آکومبیس نیز کاهش می‌دهد. این امر نشان می‌دهد که آسکوربات شبیه آنتاگونیست گیرنده دوپامین عمل می‌کند. بعضی شواهد نشان می‌دهد که آسکوربات احتمالاً با پپتیدهای اوپیویدی اثری متقابل داشته بنابراین اثر وابستگی فیزیکی به اوپیوئیدها را کاهش می‌دهد (۱۷). بدین ترتیب احتمالاً اسید آسکوربیک از طریق مسیرهای دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک توانسته بعضی از علائم سندرم محرومیت مرفین را تعدیل نماید.

نتایج این مطالعه نیز نشان داد مصرف توام نانوذرات اکسید روی و مقدار غیر موثر ویتامین C اثرات مهاری قوی تری را بر وابستگی به مرفین در مدل ترجیح مکانی شرطی شده اعمال می‌نماید. همچنان که پیشتر اشاره شد با توجه به اثرات مستقیم و یا غیر مستقیم یون روی و اسید آسکوربیک بر گلوتامات و گیرنده‌های NMAD و ترشح دوپامین و نقش این میانجی‌ها و گیرنده‌ها در وابستگی به مرفین (۲۰، ۲۴، ۲۶) احتمال می‌رود تقویت اثر این دو بخشی مربوط به تغییر اثر عوامل مشترک ذکر شده باشد البته ممکن است عوامل و یا مسیرهای دیگری نیز در این اثر دخالت داشته باشند. برای مثال احتمال می‌رود اسید آسکوربیک به عنوان یک عامل آنتی اکسیدان عمل کرده (۲۸) و با ممانعت از بروز روندهای اکسیداتیو حاصل از نانو اکسید روی، اثر مهاری روی را بر وابستگی به مرفین بهبود بخشیده باشد. البته

گیرنده‌های NMDA بوده و هم‌چنین می‌تواند مانع از عملکرد گلوتامات شود، پس اثر مهاری روی حاصل از اکسید روی نانو می‌تواند مربوط به اثر مذکور باشد.

از سوی دیگر مشخص شده روی با کاهش میزان گلوتامات از طریق افزایش گابا مانع از افزایش زیر واحد NR<sub>1</sub> گیرنده NMDA می‌گردد در نتیجه اثر فسفریلاسیون گیرنده NMDA بر گیرنده اوپیویدی را کاهش می‌دهد (۲۳). بدین ترتیب مسیر احتمالی اثر روی در کاهش وابستگی به مرفین کاهش خروج گلوتامات در سیستم عصبی مرکزی است که می‌تواند با افزایش نوروترانسمیتر گابا صورت گیرد (۲۴). یون روی سبب خروج گابا از نورون‌های حد واسط در هیپوکمپ می‌گردد بنابراین سبب افزایش اثرات مهاری این نوروترانسمیتر و کاهش خروج گلوتامات می‌گردد (۲۵).

هر یک از احتمالات نام برده از قبیل افزایش خروج گابا، کاهش خروج گلوتامات، مهار عملکرد گیرنده‌های NMDA و احتمالاً با مهار آزادسازی دوپامین می‌تواند مسیرهای احتمالی در اثر روی بر کاهش وابستگی به مرفین باشند که البته ممکن است مسیرهای دیگر نیز در این اثر دخالت داشته باشند.

در رابطه با اثر ویتامین C بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین نشان دادیم که ویتامین C در مقادیر ۵ و ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم باعث کاهش وابستگی به مرفین شده است در تأیید این نتایج چندین مطالعه نشان داده‌اند که اسید آسکوربیک از بروز تحمل به مرفین و نیز ایجاد وابستگی فیزیکی به آن جلوگیری می‌کند (۲۶). افزایش اکسیداسیون اسید آسکوربیک در استریاتوم و دستگاه لیمبیک در اثر مصرف مرفین دیده شده است و همین مسئله به عنوان علت اصلی کاهش ایجاد تحمل و وابستگی به مرفین در موش‌های معتاد توسط اسید آسکوربیک گزارش شده است (۲۷). تجویز مزمن اسید آسکوربیک می‌تواند علائم سندرم محرومیت مرفین در خوکیه‌های هندی را مهار کند (۲۶). نظر به این که سیستم دوپامینرژیک در تعدیل علائم سندرم محرومیت مرفین نقش دارد (۱۹) و اسید



5. Takeda A. Analysis of brain function and prevention of brain diseases: the action of trace metals. *Journal of health science*. 2004;50(5):429-42.
6. Mocchegiani E, Bertoni-Freddari C, Marcellini F, Malavolta M. Brain, aging and neurodegeneration: role of zinc ion availability. *Progress in neurobiology*. 2005;75(6):367-90.
7. Cadet P, Stefano GB. Mytilus edulis pedal ganglia express  $\mu$  opiate receptor transcripts exhibiting high sequence identity with human neuronal  $\mu 1$ . *Molecular brain research*. 1999;74(1):242-6.
8. Dawei A, Zhisheng W, Anguo Z. Protective effects of Nano-ZnO on the primary culture mice intestinal epithelial cells in vitro against oxidative injury. *World Journal of Agricultural Sciences*. 2010;6(2):149-53.
9. Nunes A, Al-Jamal KT, Kostarelos K. Therapeutics, imaging and toxicity of nanomaterials in the central nervous system. *Journal of Controlled Release*. 2012;161(2):290-306.
10. Torabi M, Kesmati M, Harooni H, Varzi H. Different Efficacy of Nanoparticle and Conventional ZnO in an Animal Model of Anxiety. *Neurophysiology*. 2013;45(4):299-305.
11. Kesmati M, Torabi M, Ghandizadeh-Dezfuli M. Nanoparticles of Zinc Oxide Reduces Acute Somatic Pain in Adult Female Wistar Rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2014;16(2):24-8.
12. kheiry M, Kesmati M, Varzi HN, Fatemi SR. Effect of nanoparticles on morphine dependence in mice in the presence and absence of vitamin C. 2<sup>nd</sup> Basic and Clinical Neuroscience congress. Iran, Tehran.2013.p.18-20.
13. kheiry M, Kesmati M, Varzi HN, Fatemi SR. Effect of Zinc Oxide nano particles and The bulk Zinc Oxide on the Expression of morphine Conditioned place preference in mice. 21<sup>st</sup> International/ Iranian Congress of Physiology and Pharmacology; Iran, Tabriz.2013.p. 23 – 37.
14. Badkoobeh P. Parivar K. Kal antar SM. Salabat A. Hosseini SD. Protective effect of nano-zinc oxide on reproductive system and fertility of adult male Wistar rats following

اندازه گیری نوروترانسمیترها و فرآیندهای مذکور مغز که از محدودیت‌های این مطالعه بوده است می‌توانست در اثبات احتمالات زیر کمک نمایند لذا به بررسی بیشتری نیاز می‌باشد.

### نتیجه گیری

به طور کلی با توجه به یافته‌های حاصل از این کار پژوهشی می‌توان نتیجه گرفت که نانو اکسید روی و اسکوربیک اسید می‌توانند در کاهش وابستگی به مرفین مؤثر باشند و مصرف توام آنها با توجه به قدرت اثری که اعمال می‌کنند احتمالاً می‌تواند شیوه‌ای قابل بررسی و تعمیم در درمان پدیده‌ی اعتیاد باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به دلیل حمایت مالی (گرانٹ شماره ۹۰/۰۲/۱۸۶۷۲) و معنوی از انجام این پژوهش که بخشی از پایانامه بوده تقدیر و تشکر می‌گردد.

### منابع

1. Kahveci N, Gulec G, Ozluk K. Effects of intracerebroventricularly-injected morphine on anxiety, memory retrieval and locomotor activity in rats: involvement of vasopressinergic system and nitric oxide pathway. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2006;85(4):859-67.
2. Zarrindast M-R, Eidi M, Eidi A, Oryan S. Effects of histamine and opioid systems on memory retention of passive avoidance learning in rats. *European journal of pharmacology*. 2002;452(2):193-7.
3. Costa BM, Irvine MW, Fang G, Eaves RJ, Mayo-Martin MB, Skifter DA, et al. A novel family of negative and positive allosteric modulators of NMDA receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2010;335(3):614-21.
4. Lingford-Hughes A, Nutt D. Neurobiology of addiction and implications for treatment. *The British Journal of Psychiatry*. 2003;182(2):97-100.

- expression during morphine withdrawal. *Synapse*. 1995;20(1):68-74.
22. Jafari-Sabet M, Zarrindast M-R, Rezayat M, Rezayof A, Djahanguiri B. The influence of NMDA receptor agonist and antagonist on morphine state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Life sciences*. 2005;78(2):157-63.
23. Rodríguez-Muñoz M, de la Torre-Madrid E, Sánchez-Blázquez P, Wang JB, Garzón J. NMDAR-nNOS generated zinc recruits PKC $\gamma$  to the HINT1-RGS17 complex bound to the C terminus of Mu-opioid receptors. *Cellular signalling*. 2008;20(10):1855-64.
24. Takeda A, Tamano H, Kan F, Itoh H, Oku N. Anxiety-like behavior of young rats after 2-week zinc deprivation. *Behavioural brain research*. 2007;177(1):1-6.
25. Takeda A, Tamano H. Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain research reviews*. 2009;62(1):33-44.
26. Johnston P, Chahl LA. Chronic treatment with ascorbic acid inhibits the morphine withdrawal response in guinea-pigs. *Neuroscience letters*. 1992;135(1):23-7.
27. Abalkhail B. Social status, health status and therapy response in heroin addicts. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 2001;7:465-72.
28. Bigdeli Y, Heidarianpour A. Effect of regular exercise and vitamin C on pain threshold in diabetic rats. *AMUJ*. 2012; 15(63): 10-7.[Persian]
- doxorubicin treatment. *AMUJ* 2013; 16(70): 1-9.[Persian]
15. Kulkarni S, Deshpande C, Dhir A. Ascorbic acid inhibits development of tolerance and dependence to opiates in mice: Possible glutamatergic or dopaminergic modulation. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. 2008;70(1):56-7.
16. Dodangeh E, Jafari M, Alaei H, Nasimy A, Esmaili M. The effect of ascorbic acid on self-administration of heroin in rats. *Koomesh*. 2002;3(3):145-54.
17. Rajaei Z, Alaei H, Nasimi A, Amini H, Ahmadiani A. Ascorbate reduces morphine-induced extracellular DOPAC level in the nucleus accumbens: A microdialysis study in rats. *Brain research*. 2005;1053(1):62-6.
18. Assadi A, Zarrindast MR, Jouyban A, Samini M. Comparing of the effects of hypericin and synthetic antidepressants on the expression of morphine-induced conditioned place preference. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2011;10(3):619-20.
19. Rassouli Y, Rezayof A, Zarrindast M-R. Role of the central amygdala GABA-A receptors in morphine state-dependent memory. *Life sciences*. 2010;86(23):887-93.
20. Tzschentke TM, Schmidt WJ. N-Methyl-d-aspartic acid-receptor antagonists block morphine-induced conditioned place preference in rats. *Neuroscience letters*. 1995;193(1):37-40.
21. Rasmussen K, Brodsky M, Inturrisi CE. NMDA antagonists and clonidine block c-fos