

مقاله پژوهشی

بررسی اثر پی‌پرین بر بیان ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین در موش سوری نر: نقش احتمالی گیرنده‌های دوپامینی

علی رضایی^۱، قادر نجفی^{۱*}، سعید عباسی ملکی^{۲،۳}

۱. گروه پاتوفیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران
۲. مرکز تحقیقات دارویی، مؤسسه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳. گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

پذیرش: ۱۷ شهریور ۱۴۰۵

دریافت: ۲۵ مرداد ۱۴۰۵

چکیده

زمینه و هدف: پی‌پرین، آلکالوئید اصلی فلفل سیاه، موجب افزایش آزادسازی دوپامین مغزی می‌شود. باتوجه به اهمیت مسیرهای دوپامینرژیک در رفتارهای پاداش ناشی از اویپوئیدها، این مطالعه باهدف بررسی اثر پی‌پرین بر بیان ترجیح مکان شرطی شده (CPP) ناشی از مورفین و نقش گیرنده‌های دوپامینی D₁ و D₂ انجام گرفت.

روش‌ها: موش‌های نر NMRI در یک برنامه ۶ روزه شامل مراحل پیش‌شرطی‌سازی، شرطی‌سازی و پیش‌شرطی‌سازی ارزیابی شدند. پس از تعیین دوز مؤثر مورفین در القای CPP، اثرات پی‌پرین (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌تنهایی و در همراهی با مورفین سنجیده شد. فعالیت حرکتی و رفتار کاوشگری حیوانات نیز در آزمون جعبه باز (OFT) ثبت گردید. جهت ارزیابی مکانیسم دوپامینرژیک، موش‌های شرطی‌شده با مورفین، ۶۰ دقیقه پیش از تجویز پی‌پرین (۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، آنتاگونیست‌های گیرنده ی D₁ (SCH-23390؛ ۰/۰۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) یا D₂ (سولپیراید؛ ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) را دریافت کردند.

یافته‌ها: مورفین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم موجب القای معنی‌دار CPP گردید ($p < ۰/۰۰۱$)؛ به ترتیب افزایش ۱۰۴۹/۶ و ۱۱۴۰/۸ درصد). پی‌پرین به‌تنهایی CPP یا بی‌زاری مکان شرطی (CPA) و تغییر حرکتی در OFT ایجاد نکرد ($p > ۰/۰۵$). بااین‌حال، پی‌پرین (۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیان CPP مورفین را به طور معنی‌داری ۵۱/۶ درصد تشدید نمود ($p < ۰/۰۰۱$). پیش‌درمانی با SCH-23390 و سولپیراید به طور معنی‌داری اثر تقویتی پی‌پرین را مهار کرد ($p < ۰/۰۰۱$)؛ به ترتیب کاهش ۱۵۴/۷ و ۱۴۲/۳ درصد).

نتیجه‌گیری: مصرف پی‌پرین به‌تنهایی CPP یا CPA معنی‌داری ایجاد نکرد. تجویز حاد پی‌پرین می‌تواند CPP ناشی از مورفین را افزایش دهد. بخشی از این اثر احتمالاً به واسطه دخالت مسیرهای دوپامینرژیک است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که پی‌پرین ممکن است پاداش اویپوئیدی را افزایش دهد که مستلزم مطالعات مولکولی بیشتر برای روشن‌شدن مکانیسم آن است.

واژه‌های کلیدی: پی‌پرین، ترجیح مکان شرطی، دوپامین، مورفین، موش

مقدمه

درمانی و توان‌بخشی را افزایش داده و هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی و کاهش بهره‌وری نیروی کار را افزایش می‌دهد [۲]. این پیامدها نه‌تنها سلامت جسمی فرد را تهدید می‌کنند، بلکه سبب بروز اختلالات اجتماعی، اقتصادی و روانی در شخص وابسته و حتی خانواده‌اش می‌شود. مطالعات جدید نشان می‌دهند که اثر پاداشی و اعتیادآور

اعتیاد به مواد مخدر یا مصرف مکرر مواد با افزایش مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های غیرواگیر، از جمله بیماری‌های قلبی و تنفسی، اختلالات روانی و خطر اوردوز همراه بوده و در بسیاری کشورها بخش قابل‌توجهی از مرگ‌ها را قبل از سن ۷۰ سال تشکیل می‌دهد [۱]. همچنین سوءمصرف مواد باعث بار سنگین اقتصادی و اجتماعی می‌شود، زیرا نیاز به خدمات

پاداشی ماده و ارزیابی وابستگی روانی آن است. این روش به عنوان ابزار استاندارد برای مطالعه اعتیاد و اثرات داروهای جدید در مدل های حیوانی به کار می رود [۸، ۹]. البته شرطی سازی رفتاری دارای دو بخش مجزا^{۱۳} شامل اکتساب (شکل گیری یادگیری تداوی پاداش و ارزیابی اثرات پیشگیرانه) و بیان^{۱۴} (بازیابی حافظه پاداش تثبیت شده و سنجش اثرات درمانی بر رفتارهای اعتیادی پس از القای وابستگی) است. در مطالعه حاضر به این دلیل اینکه در مداخلات بالینی ترک اعتیاد، بیماران غالباً پس از شکل گیری کامل وابستگی روانی و شرطی سازی مراجعه می کنند؛ لذا ارزیابی توانایی یک ترکیب در مهار حافظه پاداش شکل گرفته ارزش درمانی و کاربردی بالایی دارد [۹]؛ بنابراین با داشتن این نکات در ذهن و باتوجه به خواص ضدافسردگی پی پرن و اثرات آن بر سیستم دوپامینرژیک، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر پی پرن بر بیان ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین در موش های نر سوری با تأکید بر نقش احتمالی گیرنده های دوپامینی D₁ و D₂ بود.

مواد و روش ها

حیوانات و شرایط آزمایشگاهی

در این مطالعه تجربی از موش های سوری نر بالغ نژاد NMRI^{۱۵} با محدوده وزنی ۲۰ الی ۳۰ گرم استفاده شد. همچنین جهت حذف تأثیر تغییرات هورمونی ناشی از چرخه فحلی بر رفتارهای شرطی سازی و همسو با مطالعات پیشین تنها از حیوانات نر استفاده شد. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات دانشکده داروسازی ارومیه (ارومیه، ایران) تهیه شده و در شرایط استاندارد آزمایشگاهی از جمله دوره نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۳ ± ۲ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. موش ها به جز زمان آزمون دسترسی آزادانه به آب و غذای آماده تهیه شده از بهرپرور (تهران، ایران) داشتند. حیوانات یک هفته بعد عادات به محیط آزمایشگاه مورداستفاده قرار گرفتند. همچنین در بررسی حاضر، اصول برخورد با حیوانات آزمایشگاهی مطابق قوانین حمایت و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی و بیانیه های کارگروه اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه (IR.IAU.URMIA.REC.1403.157) رعایت گردید.

مورفین به طور عمده از طریق فعال سازی گیرنده های مو^۱ آپئوئیدی در نواحی کلیدی سیستم پاداش^۲ مغز انجام می شود. تحریک مورفین در پایانه های نورون های گابا ارژیک^۳ مهار می شود. تحریک مورفین در پایانه های نورون های گابا ارژیک^۴ می گردد. این امر افزایش فعالیت نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمنوم شکمی (VTA)^۵ را در پی داشته و سبب افزایش آزادسازی دوپامین در هسته آکومبنس (Nacc)^۶ می شود که حس سرخوشی^۷ و تقویت پاداش را ایجاد می کند و در نهایت در توسعه وابستگی و اعتیاد نقش دارد [۳].

پی پرن، ترکیب فعال اصلی فلفل سیاه (با نام علمی *Piper nigrum*)، در طب سنتی به عنوان مسکن، ضدالتهاب و داروی ضد تشنج مورداستفاده قرار گرفته است. شواهد نشان می دهند که پی پرن اثر ضد تشنج خود را از طریق سازوکارهای گابا ارژیک^۸ و آپئوئید ارژیک^۹ اعمال می کند [۴]. مطالعات اخیر نیز گزارش کرده اند که پی پرن باعث افزایش آزادسازی دوپامین در جسم مخطط یا استریاتوم^{۱۰} مغز موش ها شده و در درمان بیماری پارکینسون مفید است [۵]. علاوه بر این، برخی مطالعات اثر ضدافسردگی پی پرن را نیز نشان داده اند [۶]. شواهد دیگر حاکی از آن است که داروهای ضدافسردگی می توانند با تأثیر مستقیم بر ویژگی های پاداشی آپئوئیدها^{۱۱} یا به صورت غیرمستقیم از طریق کاهش افسردگی ناشی از سندرم ترک، میزان سوءمصرف آپئوئیدها را کاهش دهند [۷].

روش ترجیح مکان شرطی، یک مدل رفتاری رایج برای بررسی اثرات پاداشی و اعتیادآور مواد در موش های آزمایشگاهی است. در این روش، موش ها در محفظه ای با بخش های متمایز قرار گرفته و مصرف دارو با یک بخش خاص جفت می شود. پس از آموزش، حیوان آزاد می شود و زمان صرف شده در هر بخش اندازه گیری می گردد. صرف زمان بیشتر در بخش جفت شده با دارو^{۱۲} نشان دهنده اثر تقویت کننده و

¹ μ receptors

² Reward

³ GABAergic

⁴ Dopaminergic

⁵ Ventral Tegmental Area

⁶ Nucleus Accumbens

⁷ Euphoria

⁸ GABAergic

⁹ Opioidergic

¹⁰ Corpus striatum

¹¹ Opioids

¹² Drug-paired

¹³ Acquisition

¹⁴ Expression

¹⁵ Naval Medical Research Institute

داروها

در این بررسی مورفین سولفات از شرکت تماد (تهران، ایران)، پی پرین، سولپیراید^{۱۶} و SCH23390 از شرکت واردکننده محصولات سیگما آمریکا یا همان مینا تجهیز آریا (تهران، ایران) تهیه شدند. در این مطالعه تمام داروها به صورت داخل صفاقی و در حجم ثابت ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم به موش ها تزریق شدند. از سویی باتوجه به حالیت پایین پی پرین در آب (حدود ۰/۰۴ میلی گرم بر میلی لیتر)، برای افزایش حالیت آن از نرمال سالین ۰/۹ درصد و چند قطره توئین ۸۰ با غلظت ۲ درصد (ساخت شرکت مرک، آلمان) استفاده شد. همچنین، اگرچه مورفین سولفات در نرمال سالین محلول است، به منظور حذف اثر احتمالی حامل (توئین ۸۰) در نتایج مطالعه و تورش^{۱۷}، مورفین نیز در همان حامل، شامل نرمال سالین ۰/۹ درصد و توئین ۸۰، حل شد. گروه کنترل (حامل) نیز به جای داروهای مذکور، نرمال سالین ۰/۹ درصد حاوی توئین ۸۰ را با حجم ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم دریافت کردند.

جعبه مخصوص ترجیح مکان شرطی

در این مطالعه، از دستگاه ترجیح مکان شرطی ساخته شده از پلکسی گلاس^{۱۸} استفاده شد. دستگاه شامل دو بخش مجزا با ابعاد کلی ۸۸ × ۳۶ × ۳۴ سانتی متر بود که به وسیله صفحات کشویی از یکدیگر جدا می شدند. یکی از بخش ها دارای دیواره ها و کف صاف به رنگ خاکستری بود. بخش دیگر دارای دیواره های راه راه سیاه و سفید و کف صاف به رنگ سفید بود (شکل ۱) [۱۰، ۱۱].

آزمون رفتاری و شرطی سازی

در این تحقیق از آزمون ۶ روز متوالی و به روش غیر طرفدار یا بدون سوگیری^{۱۹} استفاده شد. این آزمون از سه مرحله به قرار زیر تشکیل شده است: در مرحله پیش شرطی سازی^{۲۰} (روز اول)، صفحات کشویی جداکننده برداشته شدند و هر موش به مدت ۱۰ دقیقه اجازه یافت آزادانه در تمام بخش های دستگاه حرکت کند. زمان حضور هر حیوان

در هر بخش به طور جداگانه ثبت شد. پس از گردآوری داده ها، میانگین زمان سپری شده در هر بخش برای تمامی حیوانات محاسبه شد و بخشی که کمترین میزان حضور حیوانات را داشت، بر اساس مطالعات پیشین به عنوان بخش کمتر ترجیحی^{۲۱} یا جفت شده با دارو^{۲۲} تعیین گردید. موش هایی که بیش از ۶/۵ دقیقه (۶۵ درصد از زمان آزمون) را در یکی از بخش ها سپری کردند، از مطالعه حذف شدند (شکل ۱) [۱۰، ۱۱]. مرحله شرطی سازی^{۲۳} طی چهار روز متوالی، از روز دوم تا پنجم، انجام شد. در روزهای دوم و چهارم، موش ها مورفین سولفات را با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند و بلافاصله به مدت ۳۰ دقیقه در بخش کمتر ترجیحی قرار داده شدند. در روزهای سوم و پنجم، حیوانات حامل را با حجم ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم دریافت کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در بخش بیشتر ترجیحی^{۲۴} محبوس شدند. در مرحله پیش شرطی سازی^{۲۵} (روز ششم)، حیوانات به طور تصادفی به گروه کنترل و گروه های تیمار تقسیم شدند (۶ سر در هر گروه). سپس، حیوانات حامل یا دوزهای مختلف پی پرین را دریافت کردند؛ در این مرحله، هیچ یک از گروه ها مورفین دریافت نکردند. پس از تجویز حامل یا پی پرین، درهای کشویی دستگاه باز شد و موش ها، مشابه مرحله پیش شرطی سازی در روز اول، به طور آزادانه تردد بین دو بخش جعبه را داشتند. مدت زمان حضور هر حیوان در هر بخش جعبه توسط دوربین فیلم برداری (کانن، ژاپن) که بالای جعبه نصب شده بود؛ ثبت گردید (شکل ۱) [۱۰، ۱۱].

گروه بندی حیوانات و طراحی تجربی

در این مطالعه، ۷۲ سر موش سوری به طور تصادفی به ۱۲ گروه عتایی تقسیم شده و بررسی های زیر بر روی آنها انجام گرفت:

اثرات دوز پاسخ ناشی از دوزهای مختلف مورفین

در این بخش، طی مرحله ی شرطی سازی، موش ها دوزهای مختلف مورفین شامل ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم را

²¹ Less-preferred chamber

²² Drug-paired compartment

²³ Conditioning

²⁴ Preferred chamber

²⁵ Post-conditioning

¹⁶ Sulpiride

¹⁷ Bias

¹⁸ PlexiGlass

¹⁹ Unbiased

²⁰ Pre-conditioning

آزمون (ششم) کف میدان آزمون به وسیله خطوط متقاطع به چهار بخش مساوی تقسیم شد. طی مدت زمان ۱۰ دقیقه‌ای آزمون، علایم رفتاری شامل فعالیت حرکتی افقی (تعداد عبور از خطوط یا مربع‌ها)^{۲۸} با ورود سر و دو اندام قدامی و فعالیت حرکتی عمودی (تعداد دفعات ایستادن روی پاهای عقبی)^{۲۹} با استفاده از دوربین فیلم برداری (کانن، ژاپن) ثبت گردید [۱۲].

اثر آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی بر بیان ترجیح مکان شرطی ناشی از پی پرین

در این بخش، موش‌ها ابتدا مطابق برنامه شرطی‌سازی، مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) را در روزهای دوم و چهارم دریافت کردند. در روز ششم (روز آزمون)، به منظور تعیین نقش احتمالی سیستم دوپامینرژیک در اثرات پی پرین، حیوانات ۶۰ دقیقه پیش از تجویز دوز مؤثر پی پرین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی را دریافت نمودند. بدین منظور، آنتاگونیست گیرنده دوپامینی D₁، یعنی SCH23390، با دوز ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم و آنتاگونیست گیرنده دوپامینی D₂، یعنی سولپیراید، با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم تجویز شد. در این بخش نیز موش‌ها در روز آزمون (ششم) مورفین دریافت نکردند (جدول ۱) (شکل ۱) [۱۱]. انتخاب دوزها و روش تجویز پی پرین [۵]، مورفین و سایر داروها [۱۱، ۱۰] بر اساس مطالعات پیشین انجام شد. باتوجه به نتایج مطالعات قبلی و ضرورت کاهش تعداد حیوانات مورد استفاده، در این مطالعه از SCH23390 و سولپیراید به تنهایی در آزمون‌های CPP یا OFT استفاده نشد. این ترکیبات در مصرف تنهایی سبب تغییر معنی‌دار در القای CPP یا CPA و یا فعالیت حرکتی موش‌ها نمی‌شوند [۱۴، ۱۳]. در این مطالعه اساس انتخاب دوز پی پرین و آنتاگونیست‌ها و طراحی تجربی دقیقاً بر اساس مطالعات قبلی ما و دیگران بود [۱۱، ۱۰، ۶].

تجزیه و تحلیل آماری

تغییر در ترجیح مکانی شرطی شده از تفاضل میانگین زمان سپری شده در بخش کمتر ترجیحی در روز آزمون و مرحله پیش شرطی‌سازی محاسبه شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها

برای ارزیابی القای ترجیح مکان شرطی ناشی از آن دریافت کردند. گروه کنترل نیز به جای مورفین، حامل را با دوز ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم دریافت نمود (جدول ۱).

اثرات پی پرین بر تنهایی بر القای CPP یا CPA در آزمون ترجیح مکان شرطی

به منظور ارزیابی CPP یا CPA ناشی از پی پرین در موش‌ها، به جای مورفین از پی پرین برای شرطی‌سازی استفاده شد. در مرحله شرطی‌سازی، حیوانات دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم پی پرین را در بخش کمتر ترجیحی جعبه، در روزهای دوم و چهارم، دریافت کردند. در مقابل، در بخش بیشتر ترجیحی، همان حیوانات به جای پی پرین، حامل را دریافت نمودند. در روز ششم (روز آزمون)، حیوانات هیچ دارویی دریافت نکردند. سپس درهای کشویی میان دو بخش باز شده و به حیوانات اجازه داده شد آزادانه بین هر دو بخش جعبه حرکت کنند. مدت زمان حضور حیوانات در هر بخش در طی ۱۰ دقیقه ثبت گردید (شکل ۱).

اثرات پی پرین بر بیان ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین

در این بخش، موش‌ها طی روزهای دوم و چهارم با مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) شرطی‌سازی شدند. سپس، در روز آزمون (روز ششم)، حیوانات به منظور بررسی اثر پی پرین بر بیان CPP یا CPA، دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم پی پرین را دریافت کردند. لازم به ذکر است که در روز آزمون (ششم)، موش‌ها مورفین دریافت نکردند. پس از تجویز پی پرین، درهای کشویی دستگاه باز شد و حیوانات اجازه یافتند آزادانه بین دو بخش حرکت کنند. مدت زمان حضور موش‌ها در هر بخش ثبت و به عنوان شاخص CPP یا CPA ثبت شد (جدول ۱ و شکل ۱).

اثرات پی پرین بر فعالیت حرکتی^{۲۶}

جهت بررسی اثر دوزهای مختلف پی پرین (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر فعالیت حرکتی حیوانات، از آزمون به روش زمینه باز (OFT)^{۲۷} استفاده شد. بدین منظور در روز

²⁸ Number of crossings

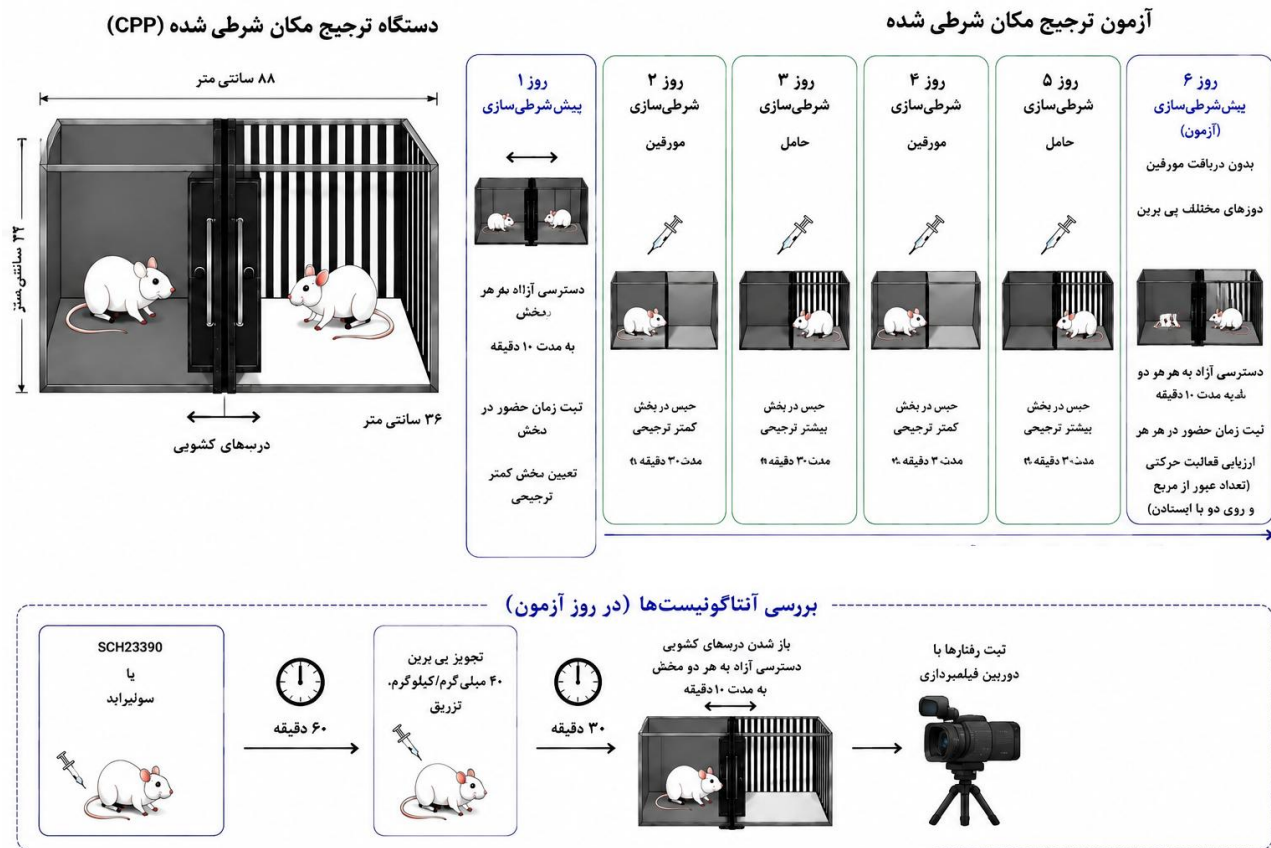
²⁹ Number of rearings

²⁶ Locomotor activity

²⁷ Open-field test

جدول ۱- گروه‌بندی و طراحی تجربی برای ۶ سر موش در هر گروه

ردیف	گروه	تیمار دریافتی در روز شرطی سازی (دوم و چهارم) / دوز	تیمار دریافتی در روز شرطی سازی (سوم و پنجم) / دوز	تیمار دریافتی در روز پس شرطی سازی (ششم) / دوز
۱	کنترل یا حامل	نرمال سالین + توین ۸۰ با غلظت ۲ درصد (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	-
۲	ترجیح مکان شرطی با مورفین ۲/۵	مورفین (۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	-
۳	ترجیح مکان شرطی با مورفین ۵	مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	-
۴	ترجیح مکان شرطی با مورفین ۱۰	مورفین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	-
۵	ترجیح مکان شرطی با پی پرین ۱۰	پی پرین به تنهایی (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	-
۶	ترجیح مکان شرطی با پی پرین ۲۰	پی پرین به تنهایی (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	-
۷	ترجیح مکان شرطی با پی پرین ۴۰	پی پرین به تنهایی (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	-
۸	اثر پی پرین ۱۰ بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین ۵	روزهای دوم و چهارم مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و روزهای سوم و پنجم حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	پی پرین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)
۹	اثر پی پرین ۲۰ بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین ۵	روزهای دوم و چهارم مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و روزهای سوم و پنجم حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	پی پرین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)
۱۰	اثر پی پرین ۴۰ بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین ۵	روزهای دوم و چهارم مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و روزهای سوم و پنجم حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	پی پرین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم)
۱۱	تأثیر SCH23390 بر اثر پی پرین ۴۰ بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین ۵	روزهای دوم و چهارم مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و روزهای سوم و پنجم حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	ابتدا SCH23390 (۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بعد یک ساعت پی پرین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم)
۱۲	تأثیر سولپیراید بر اثر پی پرین ۴۰ بر ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین ۵	روزهای دوم و چهارم مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و روزهای سوم و پنجم حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم)	ابتدا سولپیراید (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و بعد یک ساعت پی پرین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم)



شکل ۱- نمای شماتیک دستگاه ترجیح مکان شرطی شده (CPP) و برنامه اجرای آزمون و بررسی اثر آنتاگونیستهای دوپامینی. دستگاه شامل دو بخش مجزا یعنی یک بخش با دیواره سیاهوسفید و کف سفیدرنگ و بخش دیگر با دیواره خاکستری و کف خاکستری رنگ است که به وسیله دربهای کشویی از یکدیگر جدا می شوند. در روز اول، حیوانات در مرحله پیش شرطی سازی به مدت ۱۰ دقیقه آزادانه در هر دو بخش حرکت کردند و زمان حضور آنها در هر بخش توسط دوربین ثبت شد. در روزهای ۲ تا ۵، شرطی سازی با تزریق مورفین (۵ میلی گرم/کیلوگرم) یا حامل (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم) و ۳۰ دقیقه حبس در بخش مور نظر و به صورت متناوب انجام شد و در روز ششم، آزمون CPP با تجویز دوزهای مختلف پی پرین (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) انجام گرفت. همچنین در روز ششم کف بخش کمتر ترجیحی به ۴ بخش ۴ تایی تقسیم شده و فعالیت حرکتی حیوان (شامل تعداد عبور از مربع و روی دوپا ایستادن) توسط دوربین ثبت شد. در بررسی اثرات پی پرین به تنهایی موشها در طی شرطی سازی بجای مورفین (۵ میلی گرم/کیلوگرم)، دوزهای مختلف پی پرین را دریافت نمودند. در بخش پایین شکل، پیش درمانی با آنتاگونیست گیرنده های دوپامینی D₁ یا SCH23390 (۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و D₂ یا سولپیراید (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) نشان داده شده است. در این برنامه پس از پیش درمانی با آنتاگونیستها، موشها دوز بالا و مؤثر پی پرین (۴۰ میلی گرم/کیلوگرم) دریافت نموده و سپس بیان ترجیح مکان شرطی شده ارزیابی گردید.

مقدار $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شد. رسم نمودارها با نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۹ صورت گرفت.

یافته ها

مورفین سبب ترجیح مکان شرطی می شود.

در مرحله پیش شرطی سازی (روز اول)، زمان حضور حیوانات در بخش کمتر ترجیحی دستگاه در گروه حامل $6/76 \pm 18/82$ ثانیه و در گروه های مورفین

با استفاده از آزمون کولموگوروف - اسمیرنوف^{۳۰} ارزیابی گردید. داده ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین (SEM) برای ۶ سر موش در هر گروه ارائه شدند. تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی آزمودن برای گروه های مستقل و همچنین تحلیل واریانس یک طرفه^{۳۱} انجام شد و در صورت مشاهده تفاوت معنی دار، از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. نرم افزار گراف پد پرسیم^{۳۲} نسخه ۹ برای تحلیل داده ها به کار رفت و

³⁰ Kolmogorov-Smirnov

³¹ One-way ANOVA

³² GraphPad Prism

۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب به ۴/۵۴ ± ۵/۸۰، ۱۹۴/۳۸ ± ۵/۸۰ و ۱۹۲/۹۲ ± ۷/۲۹ و ۱۸۹/۰۳ ± ۱۸۹/۰۳ ثانیه بود. در روز آزمون (روز ششم)، زمان حضور در بخش کمتر ترجیحی در گروه حامل به ۷/۴۷ ± ۱۹۵/۹۶ ثانیه، در گروه مورفین ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم به ۵/۴۳ ± ۲۰۷/۴۷ ثانیه، و در گروه‌های دریافت‌کننده مورفین با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب به ۶/۲۵ ± ۲۷۵/۰۱ و ۸/۸۹ ± ۲۷۷/۵۸ ثانیه افزایش یافت. بر اساس مقایسه زمان حضور در روز ششم با روز اول با استفاده از آزمون t مستقل، مورفین در دوزهای ۵ میلی گرم بر کیلوگرم [$p < ۰/۰۰۱$ و $t(۱۰) = ۹/۶۹۰$] و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم [$p < ۰/۰۰۱$ و $t(۱۰) = ۹/۹۴۶۹$] به طور معنی‌داری موجب افزایش CPP شد، درحالی‌که چنین تفاوت معنی‌داری در گروه حامل و مورفین ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده نشد. همچنین، میزان تغییر در ترجیح در گروه حامل ۳/۴۹ ± ۷/۱۴ ثانیه، در گروه‌های مورفین ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب ۱/۲۰ ± ۱۳/۰۹، ۱/۳۷ ± ۸۲/۰۹ و ۵/۹۹ ± ۸۸/۵۵ ثانیه بود. تحلیل تغییر در ترجیح با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده مورفین با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه حامل و گروه مورفین ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وجود دارد [$p < ۰/۰۰۰۱$ و $t(۱۰) = ۱۲۲/۹$]؛ بنابراین، باتوجه به ایجاد CPP معنی‌دار و عدم وجود تفاوت قابل توجه بین دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم مورفین به عنوان دوز مناسب برای القای شرطی‌سازی انتخاب و در مراحل بعدی مطالعه مورد استفاده قرار گرفت (نمودار ۱).

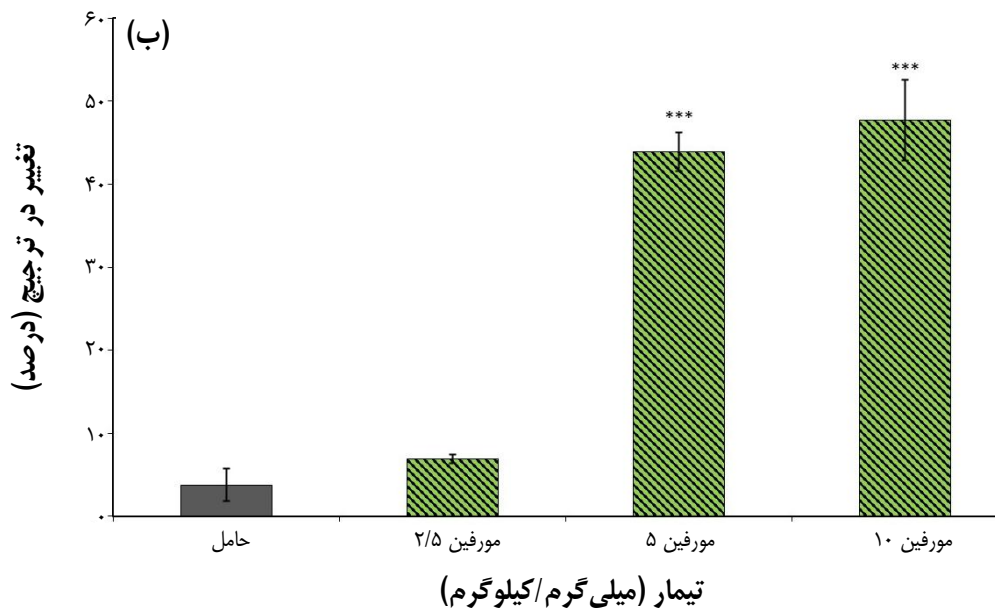
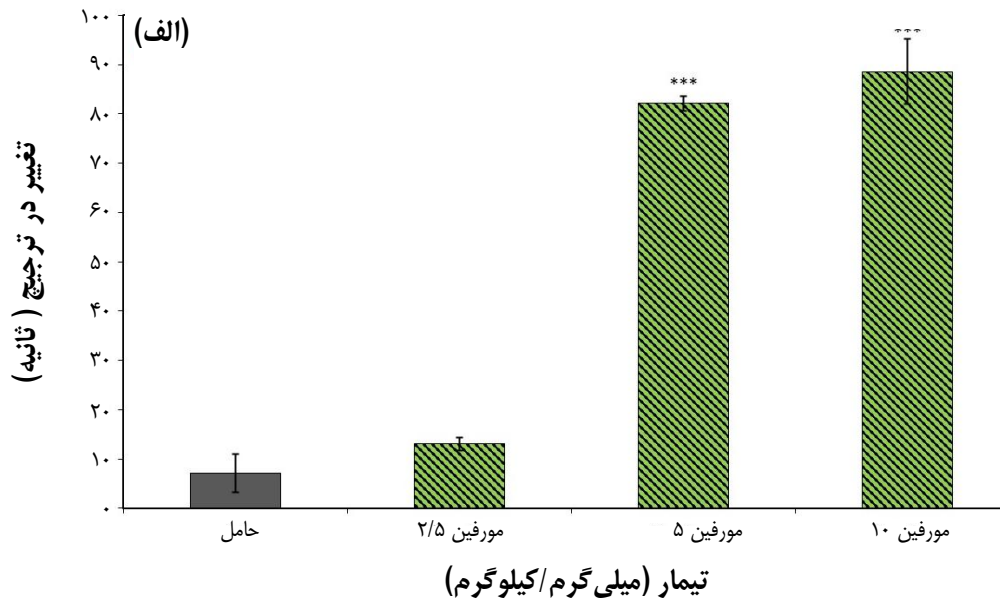
پی‌پرین به‌تنهایی سبب ترجیح مکان شرطی یا تنفر مکان شرطی معنی‌داری نمی‌شود.

نتایج حاصل از آزمون CPP نشان داد که تجویز پی‌پرین به‌تنهایی و در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم سبب القای CPP نگردید. در روز اول، میانگین زمان حضور موش‌ها در بخش کمتر ترجیحی در گروه حامل ۶/۷۶ ± ۱۸۸/۸۲ ثانیه، در گروه‌های دریافت‌کننده پی‌پرین ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب ۱۶/۵۵ ± ۱۶۵/۱۰، ۲۴/۶۸ ± ۱۹۹/۶۸ و ۲۰/۱۲ ± ۲۰۲/۰۷ ثانیه بود. در روز ششم، این مقادیر به ترتیب

به ۷/۴۷ ± ۱۹۵/۹۶، ۱۵/۴۳ ± ۱۷۳/۹۲، ۲۴/۷۳ ± ۲۰۹/۴۷ و ۲۱/۱۸ ± ۲۱۰/۲۵ ثانیه تغییر یافت. مقایسه زمان حضور حیوانات در بخش کمتر ترجیحی در روز ششم با روز اول، با استفاده از آزمون t برای گروه‌های مستقل، نشان داد که هیچ‌یک از دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم پی‌پرین به‌تنهایی موجب CPP و CPA معنی‌داری نشدند. همچنین، بررسی تغییر در ترجیح مکانی نشان داد که میزان تغییر در گروه حامل ۳/۴۹ ± ۷/۱۴ ثانیه، در گروه‌های دریافت‌کننده پی‌پرین با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب ۱/۷۶ ± ۸/۸۲، ۱/۸۵ ± ۹/۷۹ و ۳/۴۹ ± ۸/۱۸ ثانیه بود. باوجود افزایش عددی تغییر در ترجیح در برخی گروه‌های دریافت‌کننده پی‌پرین، تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت معناداری بین گروه‌ها نشان نداد [$p = ۰/۲۹۸$]؛ بنابراین، نتایج آزمون آنوا و مقایسه‌های تک‌میلی توکی نیز نشان داد که هیچ‌یک از دوزهای پی‌پرین تفاوت معناداری با گروه حامل نداشتند. در مجموع، یافته‌های این بخش نشان می‌دهد که پی‌پرین در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم، در شرایط آزمایشی حاضر، به‌تنهایی اثر تقویت‌کننده‌ای بر ایجاد ترجیح مکان شرطی‌شده نداشته و قادر به القای CPP معنادار در حیوانات نبوده است (نمودار ۲).

پی‌پرین سبب افزایش بیان ترجیح مکان شرطی القا شده توسط مورفین می‌شود.

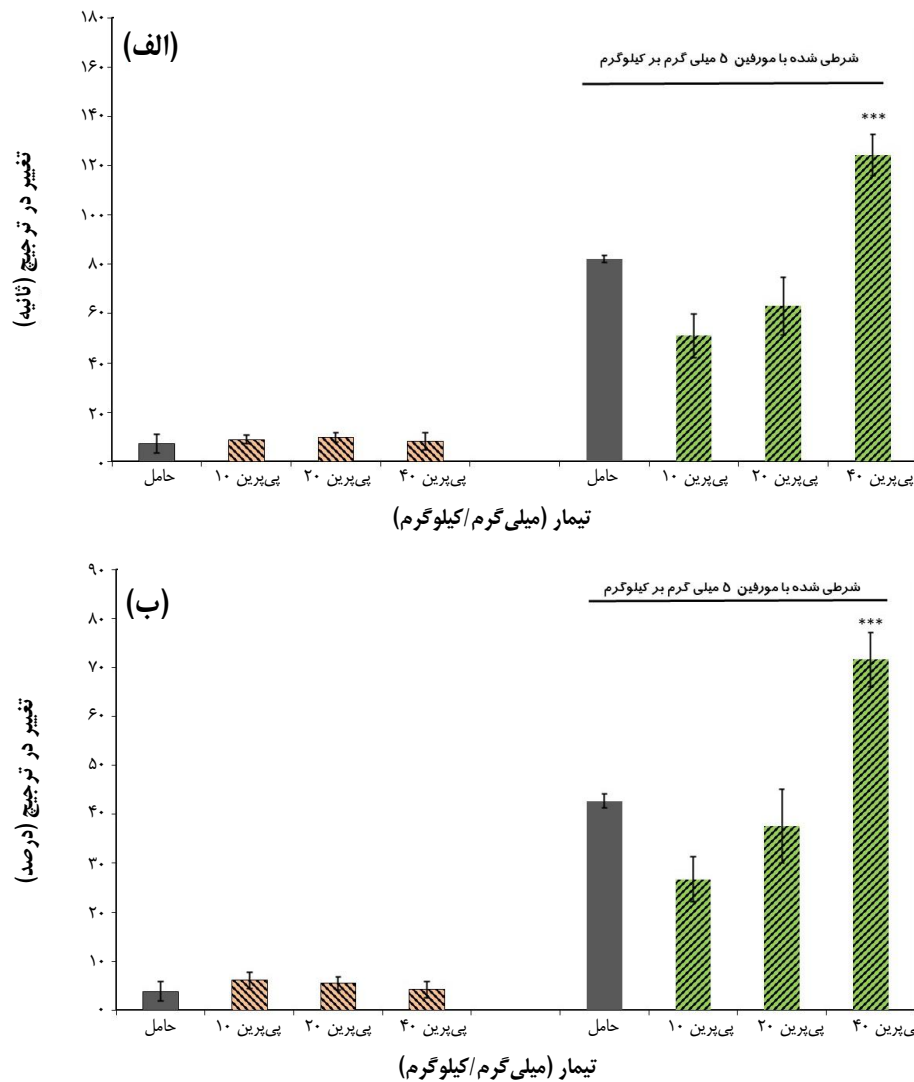
به‌منظور بررسی اثر پی‌پرین بر بیان CPP القا شده توسط مورفین، حیوانات با مورفین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم شرطی شدند و پی‌پرین با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم مورد بررسی قرار گرفت. در روز اول، میانگین زمان حضور حیوانات در بخش کمتر ترجیحی در گروه مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم ۵/۸۰ ± ۱۹۲/۹۲ ثانیه و در گروه‌های دریافت‌کننده پی‌پرین با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب ۸/۷۱ ± ۱۹۲/۱۶، ۷/۹۳ ± ۱۷۲/۴۴ و ۱۳/۱۱ ± ۱۷۶/۷۸ ثانیه بود. در روز ششم، میانگین زمان حضور در بخش کمتر ترجیحی در گروه‌های مذکور به ترتیب ۰۱/۲۷۵ ± ۲۵/۶، ۱۹/۲۴۳ ± ۲۰/۱۳، ۵۳/۲۳۵ ± ۷۲/۱۰ و ۲۳/۳۰۱ ± ۹۲/۱۸ ثانیه به دست آمد. مقایسه زمان حضور حیوانات در بخش کمتر ترجیحی در روز ششم با روز اول، با استفاده از آزمون t برای



نمودار ۱- اثر دوزهای مختلف مورفین بر القای بیان ترجیح مکان شرطی شده (CPP) در موش‌های سوری نر طی یک دوره ۶ روز. (الف) میانگین اختلاف زمان (ثانیه) سپری شده در بخش کمتر ترجیحی بین مرحله پس از شرطی‌سازی (روز ۶) و پیش از شرطی‌سازی (روز ۱) و (ب) اختلاف درصد تغییر و ماندگاری در بخش کمتر ترجیحی (جفت‌شده با دارو) بین مرحله پس از شرطی‌سازی و پیش از شرطی‌سازی. محورهای افقی نشان‌دهنده گروه‌های درمانی بر حسب دوز (میلی گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه حامل (نرمال سالین، ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین برای ۶ سر موش در هر گروه بیان شده‌اند. $p < 0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل (حامل) است.

ترجیح بین گروه‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تک‌میلی توکی نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود دارد [$F(3, 20) = 14.34$ و $p < 0.0001$]. بررسی مقایسه‌های دوجه‌دو با آزمون توکی نشان داد که دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پی‌پرین در مقایسه با گروه حامل و دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب افزایش بیشتر

گروه‌های مستقل، نشان داد که پس از شرطی‌سازی با مورفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تجویز پی‌پرین در هر سه دوز ۱۰ [$t(10) = 3.227$ و $p = 0.009$], ۲۰ [$t(10) = 3.227$ و $p = 0.009$] و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم [$t(10) = 4.730$ و $p < 0.0001$] موجب افزایش معنادار ترجیح مکانی در روز ششم نسبت به روز اول شد. همچنین مقایسه میزان تغییر در



نمودار ۲- اثر دوزهای مختلف پی پرین بر القای بیان ترجیح مکان شرطی شده (CPP) یا تنفر مکان شرطی شده (CPA) در موش‌های سوری نر طی یک دوره ۶ روز. (الف) میانگین اختلاف زمان (ثانیه) سپری شده در بخش کمتر ترجیحی بین مرحله پس از شرطی سازی (روز ۶) و پیش از شرطی سازی (روز ۱) در گروه شرطی شده با دوزهای مختلف پی پرین و عدم دریافت هر دارویی در روز ششم (سمت راست) و میانگین اختلاف زمان (ثانیه) سپری شده در بخش کمتر ترجیحی بین مرحله پس از شرطی سازی و پیش از شرطی سازی در گروه شرطی شده با مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم و دریافت کننده پی پرین در روز ششم (سمت چپ). (ب) اختلاف درصد تغییر و ماندگاری در بخش کمتر ترجیحی بین مرحله پس از شرطی سازی و پیش از شرطی سازی در گروه شرطی شده با دوزهای مختلف پی پرین و عدم دریافت هر دارویی در روز ششم (سمت راست) و اختلاف درصد تغییر و ماندگاری در بخش کمتر ترجیحی بین مرحله پس از شرطی سازی و پیش از شرطی سازی در گروه شرطی شده با مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم و دریافت کننده پی پرین در روز ششم (سمت چپ). محورهای افقی نشان دهنده گروه‌های درمانی بر حسب دوز (میلی گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه حامل (نرمال سالین، ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم) است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین برای ۶ سر موش در هر گروه بیان شده‌اند. $p < 0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل (حامل) است.

شرطی شده نبود، اما پس از شرطی سازی با مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، هر سه دوز پی پرین موجب بیان معنادار ترجیح مکان شرطی شده شدند و این اثر در دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور قابل توجهی قوی تر بود (نمودار ۲).

تغییر در ترجیح شد؛ بنابراین، پی پرین در دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم، CPP القاشده توسط مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم را به طور معناداری تقویت کرد (نمودار ۲). در مجموع، این یافته‌ها نشان می‌دهد که اگرچه پی پرین به تنهایی در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم قادر به القای ترجیح مکان

پی پرین سبب افزایش یا کاهش معنی داری در فعالیت حرکتی حیوان در آزمون زمینه باز نمی شود

به منظور بررسی اثر پی پرین بر فعالیت حرکتی، آزمون زمینه باز انجام شد. نتایج تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تفاوت معناداری در تعداد عبور از مربع بین گروه حامل و گروه های دریافت کننده پی پرین با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وجود ندارد [$F(۳, ۵۶۸) = ۰/۶۹۰$ و $p = ۰/۵۶۸$] (جدول ۲). همچنین، در بررسی تعداد ایستادن روی دو پا، تفاوت معناداری بین گروه حامل و گروه های دریافت کننده پی پرین با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده نشد [$F(۳, ۷۵۷) = ۰/۳۹۵$ و $p = ۰/۷۵۷$] (جدول ۲). در مجموع، نتایج نشان داد که تجویز دوزهای مختلف پی پرین تأثیر معناداری بر فعالیت حرکتی موش ها در آزمون جعبه باز نداشت؛ بنابراین، تغییرات رفتاری مشاهده شده در آزمون CPP را نمی توان به کاهش یا افزایش غیراختصاصی فعالیت حرکتی ناشی از پی پرین نسبت داد.

SCH23390 و سولپیراید سبب القای CPA در موش های شرطی شده با مورفین می شوند.

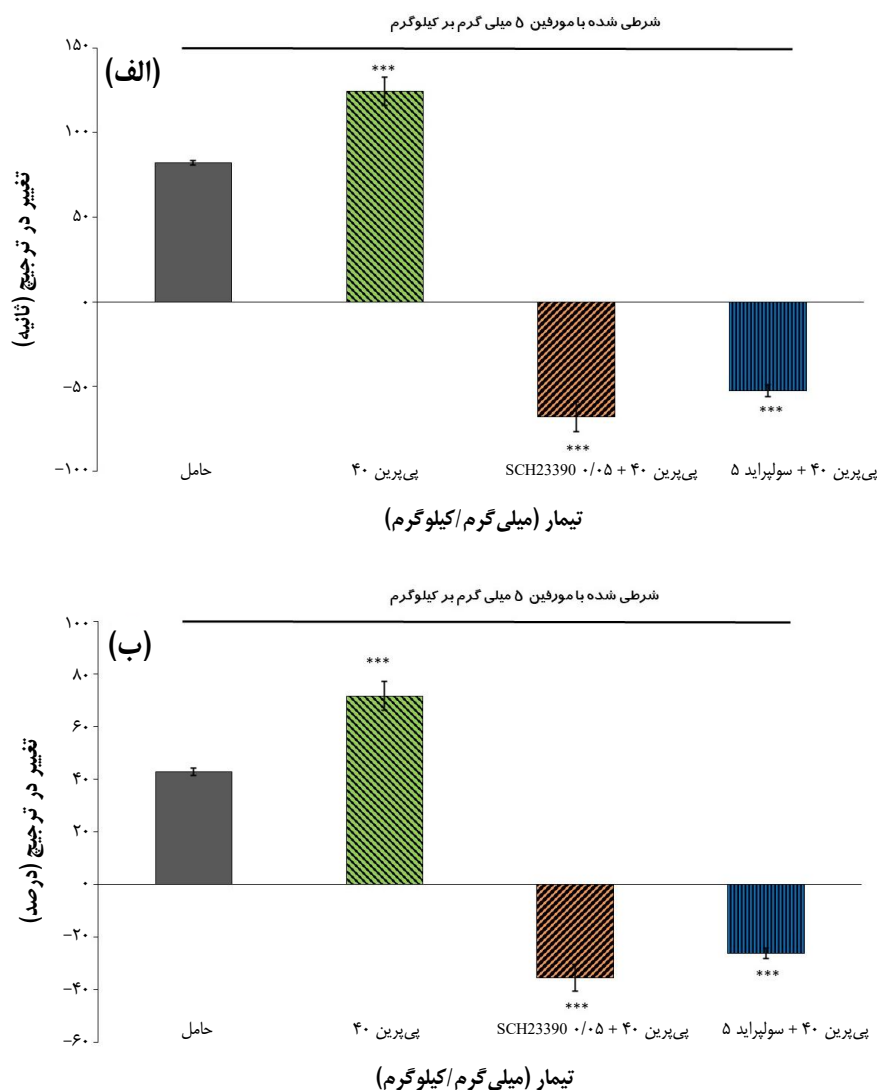
به منظور بررسی نقش سیستم دوپامینی در اثر پی پرین بر CPP القاشده توسط مورفین، اثر پی پرین با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم در حضور آنتاگونیست های گیرنده دوپامینی SCH23390 و سولپیراید بررسی شد. حیوانات با مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم شرطی شدند. در روز اول، میانگین زمان حضور حیوانات در بخش کمتر ترجیحی در گروه حامل ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به همراه SCH23390 و سولپیراید به

ترتیب $۸/۳۰ \pm ۱۹۶/۳۴$ و $۵/۵۸ \pm ۲۰۲/۰۹$ ثانیه بود. در روز ششم، میانگین زمان حضور در این بخش در گروه حامل به $۶/۲۵ \pm ۲۷۵/۰۱$ ثانیه و در گروه های دریافت کننده پی پرین همراه SCH23390 و پی پرین همراه سولپیراید به ترتیب به $۱۵/۱۰ \pm ۱۲۸/۲۱$ و $۸/۱۸ \pm ۱۴۹/۴۶$ ثانیه رسید. مقایسه نتایج روز ششم با روز اول نشان داد که تیمار با پی پرین ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم + SCH23390 با دوز ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنادار زمان حضور در بخش کمتر ترجیحی و در نتیجه القای CPA شد [$p = ۰/۰۰۳$ و $t(۱۰) = ۳/۹۵۲$]. همچنین، تیمار با پی پرین ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به همراه سولپیراید ۵ میلی گرم بر کیلوگرم نیز موجب القای CPA شد [$p < ۰/۰۰۰۱$ و $t(۱۰) = ۵/۳۱۴$]. بررسی میزان تغییر در ترجیح نیز نشان داد که تیمار با پی پرین ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به همراه SCH23390، با $p < ۰/۰۰۱$ و $t(۱۰) = ۱۶/۷۴$ ، و تیمار با پی پرین ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به همراه سولپیراید، با $p < ۰/۰۰۱$ و $t(۱۰) = ۳۶/۴۶$ ، موجب تغییر معنادار در ترجیح مکانی نسبت به گروه حامل شدند. این تغییر به صورت کاهش زمان حضور در بخش کمتر ترجیحی و ایجاد الگوی CPA مشاهده شد (نمودار ۳). در مجموع، یافته های این بخش نشان می دهد که مهار گیرنده های دوپامینی D₁ و D₂ به ترتیب با SCH23390 و سولپیراید، در حضور پی پرین با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم، سبب جلوگیری از بیان CPP و ایجاد CPA و اجتناب معنادار از بخش کمتر ترجیحی گردید. با ایجاد تغییر معنادار در ترجیح مکانی همراه بود. این یافته ها می تواند نشان دهنده دخالت سیستم دوپامینی در اثر پی پرین بر افزایش CPP ناشی از مورفین باشد.

جدول ۲- اثر پی پرین بر فعالیت حرکتی موش ها در آزمون جعبه باز در موش های سوری نر در روز آزمون (ششم)

گروه	تعداد عبور از مربع	تعداد روی دوپا ایستادن
حامل	$۱۰۲/۰۰ \pm ۶/۹۰$	$۲۲/۶۷ \pm ۳/۱۶$
پی پرین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم	$۹۷/۱۷ \pm ۴/۲۱$	$۲۱/۵۰ \pm ۲/۸۹$
پی پرین ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم	$۹۵/۶۷۹ \pm ۶/۲۲$	$۲۰/۶۷ \pm ۲/۷۹$
پی پرین ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم	$۹۰/۸۳ \pm ۴/۲۸$	$۱۸/۵۰ \pm ۲/۲۶$

داده ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین برای ۶ سر موش در هر گروه بیان شده اند. فعالیت حرکتی حیوانات بر اساس تعداد عبور از مربع ها و تعداد ایستادن روی دو پا ارزیابی شد. نتایج نشان داد که دوزهای مختلف پی پرین در روزهای ششم هیچ تأثیر معنی داری را در فعالیت حرکتی موش ها (تعداد عبور از مربع و روی دوپا ایستادن) نشان ندادند.



نمودار ۳- اثر آنتاگونیست گیرنده دوپامینی D₁ یا SCH23390 (۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و آنتاگونیست گیرنده دوپامینی D₂ یا سولپراید (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر ترجیح مکان شرطی شده (CPP) در موش‌های سوری نر طی یک دوره ۶ روز. الف) میانگین اختلاف زمان (ثانیه) سپری شده در بخش کمتر ترجیحی بین مرحله پس از شرطی‌سازی (روز ۶) و پیش از شرطی‌سازی (روز ۱) در گروه شرطی شده با مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم در طی مرحله شرطی‌سازی و دریافت آنتاگونیست‌ها ۶۰ دقیقه قبل دریافت دوز مؤثر پی پرین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در روز ششم. ب) اختلاف درصد تغییر و ماندگاری در بخش کمتر ترجیحی بین مرحله پس از شرطی‌سازی و پیش از شرطی‌سازی در گروه شرطی شده با مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم در طی مرحله شرطی‌سازی و دریافت آنتاگونیست‌ها ۶۰ دقیقه قبل دریافت دوز مؤثر پی پرین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در روز ششم. هر نمودار به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (۶ سر موش در هر گروه) ارائه شده است. *** $p < 0.001$ در مقایسه با گروه حامل به همراه مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم).

بحث

در مطالعه حاضر، تأثیر پی پرین بر بیان ترجیح مکانی شرطی شده (CPP) القاشده توسط مورفین در موش‌ها و نقش احتمالی گیرنده‌های دوپامینی در مکانیسم اثر آن بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز پی پرین به تنهایی، موجب ایجاد ترجیح مکانی شرطی شده یا بیزاری مکانی

شرطی شده معنی دار نمی‌شود؛ بنابراین، پی پرین در دوزهای بررسی شده، فاقد اثر پاداشی یا بیزارکننده مستقل در مدل CPP بود. با این حال، یافته‌های ما نشان داد که پس از شرطی‌سازی موش‌ها با مورفین در روزهای دوم و چهارم، تزریق داخل صفاقی پی پرین با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم و در روز ششم (روز آزمون) موجب تقویت بیان ترجیح مکانی شرطی شده

تغییر معنی‌دار در فعالیت حرکتی موش‌ها در آزمون OFT نمی‌شوند [۱۵-۱۳].

مورفین یکی از قوی‌ترین داروهای ضددرد اویپوئیدی و آلکالوئید اصلی تریاک است که در مقایسه با سایر داروهای این گروه، دارای پتانسیل بالایی برای ایجاد وابستگی فیزیکی و روانی است. اویپوئیدها به طور بالینی در کنترل دردهای شدید و درمان اسهال مزمن مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما مصرف مکرر آن‌ها منجر به بروز پدیده‌هایی نظیر تحمل یا تولرانس^{۳۸}، اثرات تقویت‌کننده مثبت (پاداش)، وابستگی فیزیکی و در صورت قطع مصرف، بروز سندرم محرومیت فیزیکی، اشتیاق به دارو و عود علائم ترک می‌گردد [۱۶].

یافته‌های علمی جدید نشان می‌دهند که میانجی‌های عصبی (نوروترانسمیترها^{۳۹}) مختلف نقش اساسی در شکل‌گیری و بروز وابستگی دارویی ایفا می‌کنند. در این میان، مسیر دوپامینی مزو لیمبیک^{۴۰} به عنوان مسیر کلیدی در پاداش و وابستگی شناخته می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که اویپوئیدها، از جمله مورفین، با تأثیر بر این مسیر و افزایش آزادسازی دوپامین در سیناپس‌های مغزی، اثرات تقویت‌کنندگی و پاداشی خود را اعمال می‌کنند [۱۷].

در تأیید این دیدگاه، تحقیقات متعددی نقش سیستم دوپامینرژیک را در القای ترجیح مکان شرطی ناشی از اویپوئیدها گزارش کرده‌اند؛ به طوری که مهار آزادسازی دوپامین یا انسداد گیرنده‌های دوپامینی سبب کاهش یا حذف اثرات تقویت‌کنندگی مورفین می‌شود. به بیان دیگر، آنتاگونیست‌های گیرنده دوپامینی قادرند از بروز ترجیح مکان شرطی القاشده توسط مورفین جلوگیری کنند [۱۱].

در همین راستا، مصباح‌زاده و همکاران گزارش کردند که آنتاگونیست‌های دوپامینی نظیر SCH23390 (آنتاگونیست انتخابی گیرنده D₁ دوپامینی) و سولپیراید (آنتاگونیست انتخابی گیرنده D₂ دوپامینی)، اثرات CPP شبه مورفین حاصل از تجویز روی (Zn) را مهار و سبب بروز CPA می‌شوند. این یافته‌ها نشان‌دهنده احتمال نقش سیستم دوپامینرژیک در بروز اثرات شبه مورفین ترکیب یادشده است [۱۱]. همسو با یافته‌های سایر پژوهشگران، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پیش‌درمانی موش‌ها با آنتاگونیست‌های دوپامینی SCH23390

ناشی از مورفین شد. این یافته بیانگر آن است که پی‌پرین می‌تواند در بیان پاسخ‌های پاداشی مرتبط با مورفین نقش تسهیل‌کننده داشته باشد، بدون آنکه به تنهایی دارای اثر پاداشی یا خاصیت اعتیادآور قابل تشخیص در این مدل باشد.

از آنجا که روش ترجیح مکان شرطی یکی از ابزارهای معتبر و پرکاربرد برای ارزیابی اثرات تقویتی محرک‌های طبیعی و دارویی، از جمله مواد اعتیادآور مانند مورفین، به شمار می‌رود، یافته‌های حاضر می‌تواند اهمیت بالینی قابل توجهی داشته باشد. براین اساس، پی‌پرین ممکن است به عنوان ترکیبی با پتانسیل درمانی در کنترل رفتارهای مرتبط با وابستگی به مواد افیونی مورد توجه قرار گیرد [۹، ۸]. در راستای یافته‌های این پژوهش، گزارش‌های پیشین نیز نشان داده‌اند که حیواناتی که در هر دو مرحله آزمایشی تنها محلول سالین یا حامل دریافت می‌کنند، تمایلی به انتخاب مکان خاصی در آزمون ترجیح مکان شرطی نشان نمی‌دهند همچنین، همسو با نتایج سایر پژوهشگران، نتایج مطالعه حاضر نیز بیانگر آن بود که پیش‌درمانی موش‌ها با مورفین موجب القای ترجیح مکان شرطی در حیوانات وابسته به این دارو می‌گردد [۱۱، ۱۰].

همچنین نتایج ما نشان داد که دوزهای مختلف پی‌پرین سبب تغییر معنی‌داری در تعداد عبور از مربع یا تعداد روی دوپا ایستادن در OFT نشدند. ایستادن روی دوپا شاخصی از رفتار کاوشگری^{۳۳} و برانگیختگی است. عدم تغییر معنی‌دار در این شاخص‌ها تأیید می‌کند که پی‌پرین در دوزهای استفاده‌شده موجب رفتار بیش‌فعالی^{۳۴}، بی‌قراری حرکتی، تحریک روان حرکتی کاذب شبیه به آمفتامین‌ها و یا افزایش رفتارهای شبه اضطرابی در مواجهه با محیط ناآشنا^{۳۵} نمی‌شود. همسو با یافته‌های ما گزارش نموده‌اند که تجویز پی‌پرین در دوزهای درمانی استاندارد (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در فعالیت حرکتی خودبه‌خودی^{۳۶} در آزمون جعبه باز ایجاد نمی‌کند و اثرات آن جدا از نقص حرکتی یا آرام‌بخشی^{۳۷} است [۶]. همچنین گزارش نموده‌اند که نرمال سالین (به عنوان گروه کنترل)، مورفین و حتی آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی (SCH23390 و سولپیراید) سبب بروز

³³ Exploratory behavior

³⁴ Hyperactivity

³⁵ Novel environment

³⁶ Spontaneous locomotor activity

³⁷ Sedation

³⁸ Tolerance

³⁹ neurotransmitters

⁴⁰ Mesolimbic dopamine pathway

وانیلیک اسید^{۴۸} و پیپرونیلیک اسید^{۴۹} بر سطوح، آزادسازی، و متابولیسم دوپامین در سیستم عصبی مرکزی به طور مستقیم و غیرمستقیم نقش دارند. البته اثرات این متابولیت‌ها بیشتر از طریق مهار آنزیم مونوآمین اکسیداز (MAO_{A/B})^{۵۰}، تحریک آزادسازی دوپامین در نواحی دوپامینرژیک (هیپوکامپ^{۵۱}، کورتکس^{۵۲}) و حفاظت از نورون‌های دوپامینرژیک اعمال می‌شود [۲۳، ۲۴]؛ بنابراین مجموعه این شواهد حاکی از نقش احتمالی سیستم دوپامینرژیک در میانجی‌گری اثرات پی پرین یا متابولیت‌های حاصل از آن است.

ازسوی دیگر، گزارش شده است که داروهای ضدافسردگی می‌توانند از طریق تأثیر مستقیم بر خاصیت پاداشی مواد شبه افیونی یا به طور غیرمستقیم با کاهش افسردگی ناشی از قطع مصرف آن‌ها، میزان سوءمصرف را کاهش دهند [۲۵]. در همین راستا، در پژوهش‌هایی اثرات ضدافسردگی نانوامولسیون حاوی پی پرین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است. به نظر می‌رسد که این اثر ضدافسردگی از طریق تضعیف مسیرهای التهابی، افزایش سطح نوروترانسمیترهای مغزی (مانند دوپامین) و تنظیم بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز (BDNF)^{۵۳} میانجی‌گری می‌شود [۶]. این یافته‌ها نیز هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر هستند.

از جمله نقاط قوت مطالعه حاضر، بررسی اثر پی پرین بر بیان القای رجحان مکان شرطی شبه مورفین و همچنین شناسایی نقش احتمالی سیستم دوپامینرژیک در میانجی‌گری این اثرات است. این نتایج می‌تواند در درک بهتر نقش پی پرین در افزایش بیان رفتارهای پاداشی ناشی از مورفین سودمند باشد. باین‌حال، از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دقیق غلظت نوروترانسمیترهای مغزی، عدم بررسی نقش سایر سیستم‌های میانجی عصبی (مانند سروتونرژیک، نوراپی‌نفرژیک/نور آدرنرژیک و غیره) در مکانیسم اثر پی پرین و همچنین عدم ارزیابی اثر آن بر مرحله اکتساب^{۵۴} و در جنس ماده اشاره کرد. انجام چنین بررسی‌هایی

و سولپیراید موجب مهار اثرات CPP شبه مورفینی دوز بالای پی پرین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و بروز CPA و اجتناب معنادار از بخش کمتر ترجیحی یا جفت شده با داور (مورفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) گردید. این مشاهده نشان‌دهنده نقش احتمالی مکانیسم دوپامینرژیک در بروز اثرات ترجیح مکان شرطی ناشی از پی پرین است.

در تأیید نتایج پژوهش حاضر، مطالعات پیشین نیز به نقش حفاظتی پی پرین بر نورون‌های دوپامینرژیک اشاره کرده‌اند. در یک مطالعه، تجویز خوراکی پی پرین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۵ روز) موجب کاهش مرگ نورون‌های دوپامینرژیک در ناحیه جسم سیاه^{۴۱} و بهبود عملکرد حرکتی گردید که بیانگر اثر نورون محافظتی آن است [۱۸]. در پژوهشی دیگر، پی پرین باعث بهبود عملکرد حرکتی و کاهش مرگ سلول‌های دوپامینرژیک شد [۱۹].

همچنین در مطالعه‌ای هم‌راستا با یافته‌های حاضر، تجویز هم‌زمان پی پرین با ال - دوپا^{۴۲} سبب افزایش معنی‌دار سطح دوپامین مغز نسبت به ال - دوپا به‌تنهایی گردید. این اثر احتمالاً ناشی از مهار آنزیم تیروزین دکربوکسیلاز^{۴۳} باکتریایی در روده و در نتیجه کاهش تبدیل محیطی ال - دوپا بوده است [۲۰]. افزون بر این، گزارش شده است که درمان با پی پرین موجب افزایش سطوح دوپامین و تیروزین هیدروکسیلاز در استریاتوم، و کاهش تجمع α -سینوکلئین^{۴۴} و β -آمیلوئید^{۴۵} می‌شود [۵]. در مطالعه‌ای دیگر، تزریق پی پرین (۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) موجب افزایش معنی‌دار سطح دوپامین در هیپوتالاموس گردید، هرچند در سایر نواحی مغز اثر مشابهی مشاهده نشد؛ باین‌حال، سطح نوراپی‌نفرین کاهش یافت [۲۱]. علاوه بر شواهد تجربی، در یک بررسی شبیه‌سازی مولکولی نیز مشخص شد که پی پرین دارای تمایل اتصال بالا به گیرنده D₂ دوپامین بوده و در میان ترکیبات مقایسه شده، توان مهارکنندگی قابل توجهی برای این گیرنده از خود نشان می‌دهد [۲۲]. گذشته از نقش احتمالی پی پرین بر سیستم دوپامینرژیک، شواهد فارماکولوژیک و نور و شیمیایی نشان داده‌اند که پی پرین و متابولیت‌های اصلی آن (از جمله پیپریک اسید^{۴۶}، پیپرونال^{۴۷}،

⁴⁷ Piperonal

⁴⁸ Vanilic acid

⁴⁹ Piperonylic acid

⁵⁰ Monoamine oxidase

⁵¹ Hippocampus

⁵² Cortex

⁵³ Brain-Derived Neurotrophic Factor

⁵⁴ Acquisition

⁴¹ Substantia nigra

⁴² L-dopa

⁴³ Tyrosine hydroxylase

⁴⁴ Alpha-synuclein

⁴⁵ Amyloid beta

⁴⁶ Piperic acid

سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از پایان‌نامه آقای علی رضایی در مقطع دکتری حرفه‌ای دامپزشکی با شماره ثبت ۱۶۲۸۷۲۱۵۲ است.

ملاحظات مالی

این پژوهش با حمایت مالی محقق انجام شد.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ع.ر.: انجام مطالعه و جمع‌آوری داده‌ها؛ ق.ن.: طراحی مطالعه و نظارت بر اجرای پژوهش؛ س.ع.م.: تحلیل آماری، نگارش مقاله و مشاوره حین اجرای تحقیق.

اظهاری نامه هوش مصنوعی

در این مقاله از هوش مصنوعی ChatGPT نسخه ۵/۶ تنها جهت طراحی شکل ۱ استفاده شده است.

فهرست منابع

- [1] Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Health at a Glance 2025: Illicit drug use. Paris: *OECD Pub* 2025.
- [2] Shubho SS, Islam M, Siddiqui MK, Islam MM, Halimuzzaman M, The Impact of Drug Addiction on Family Relationships and Daily Living Practices. *Glob Acad J Pharm Drug Res* 8 (2026) 4-14.
- [3] Listos J, Łupina M, Talarek S, Mazur A, Orzelska-Górka J, Kotlińska J, The Mechanisms Involved in Morphine Addiction: An Overview. *Int J Mol Sci* 20 (2019) 4302.
- [4] Bukhari IA, Pivac N, Alhumayyd MS, Mahesar AL, Gilani AH, The analgesic and anticonvulsant effects of piperine in mice. *J Physiol Pharmacol* 64 (2013) 789-794.
- [5] Huang L, Zhong X, Zhou Z, Cail Y, Denget M, Piperine increases striatal levels of DA and TH and decreases α -syn and A β 42 deposition in PDD mice by regulating autophagy: downexpression Beclin-1 and LC3B and upexpression p62. *Appl Biol Chem* 65 (2022) 42.
- [6] Li S, Wang C, Li W, Koike K, Nikaido T, Wang MW. Antidepressant-like effects of piperine and its derivative, antiepilepsirine. *J Asian Nat Prod Res* 20079 (2007) 421-430.

در مطالعات آینده می‌تواند به شفاف‌سازی دقیق‌تر مسیرهای مولکولی و نور و شیمیایی دخیل در اثرات پی‌پرین کمک شایانی نماید.

نتیجه‌گیری

در مجموع، تجویز حاد پی‌پرین به‌تنهایی CPP یا CPA معناداری از نظر آماری ایجاد نکرد؛ اما پی‌پرین با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، بیان CPP القاشده توسط مورفین را در موش‌های سوری نر به طور معناداری افزایش داد. کاهش این اثر توسط SCH23390 و سولپیراید، شواهد فارماکولوژیک مقدماتی را در حمایت از احتمال دخالت پیام‌رسانی دوپامینرژیک (نقش گیرنده‌های D₁ و D₂) را فراهم می‌کند. بااین‌حال، این یافته‌ها وجود یک مکانیسم مستقیم وابسته به گیرنده را اثبات نمی‌کنند و مطالعات بیشتری، شامل ارزیابی فعالیت حرکتی، اندازه‌گیری‌های نور و شیمیایی، رویکردهای اختصاصی گیرنده‌ای و تحلیل‌های مولکولی، برای روشن‌سازی سازوکارهای زیربنایی تعامل میان پی‌پرین و پاداش مرتبط با اپیوئیدها ضروری است.

- [7] Maldonado R, Participation of noradrenergic pathways in the expression of opiate withdrawal: biochemical and pharmacological evidence. *Neurosci Biobehav Rev* 21(1997) 91-104.
- [8] Tzschentke TM, Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects and recent progress. *Prog Neurobiol* 81 (2007) 293-343.
- [9] Bardo MT, Bevins RA, Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology (Berl)* 153 (2000) 31-43.
- [10] Zarrindast MR, Bahreini T, Adl M, Effects of imipramine on the expression and acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 73 (2002) 941-949.
- [11] Mesbahzadeh B, Moradi-Kor N, Abbasi-Maleki S, Zinc enhances the expression of morphine-induced conditioned place preference through dopaminergic and serotonergic systems. *Biomol Concepts* 10 (2019) 51-61.
- [12] [Kim YJ, Kang Y, Park HY, Lee JR, Yu DY, Murata T, Gondo Y, Hwang JH, Kim YH, Lee CH, Rhee M, Han PL, Chung BH, Lee HJ, Kim KS, STEP signaling pathway mediates psychomotor stimulation and morphine withdrawal symptoms, but not for reward, analgesia and tolerance. *Exp Mol Med* 48 (2016) e212.

- [13] Haghparsat A, Esmacili MH, Taslimi Z, Kermani M, Yazdi-Ravandi S, Alizadeh AM, Intrahippocampal administration of D2 but not D1 dopamine receptor antagonist suppresses the expression of conditioned place preference induced by morphine in the ventral tegmental area. *Neurosci Lett* 541 (2013) 138-143.
- [14] Katebi N, Farahimanesh S, Fatahi Z, Zarrabian S, Haghparsat A, Involvement of D1- and D2-like dopamine receptors in the dentate gyrus in the acquisition, expression, and extinction of the morphine-induced conditioned place preference in rats. *Behav Brain Res* 353 (2018) 185-193.
- [15] Souri MS, Alavi MS, Salami AA, Roohbakhsh A. Effects of morphine on conditioned place preference and pain are independent of uptake-2. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 84 (2024) 26-34.
- [16] Tripathi KD, Opioid analgesics and antagonists. In: Tripathi M, eds, *Essentials of Medical Pharmacology*. 5th ed. New Delhi: **Jaypee Brothers Medical Publishers**; 2003: 419-434.
- [17] Hughes AL, Nutt D, Neurobiology of addiction and implications for treatment. *Br J Psychiatry* 182 (2003) 97-100.
- [18] Yang W, Chen YH, Liu H, Qu HD, Neuroprotective effects of piperine on the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease mouse model. *Int J Mol Med* 36 (2015) 1369-1376.
- [19] Liu J, Chen M, Wang X, Wang Y, Duan C, Gao G, Lu L, Wu X, Wang X, Yang H. Piperine induces autophagy by enhancing protein phosphatase 2A activity in a rotenone-induced Parkinson's disease model. *Oncotarget* 7(2016) 60823-60843.
- [20] Hu X, Yu L, Li Y, Li X, Zhao Y, Xiong L, Ai J, Chen Q, Wang X, Chen X, Ba Y, Wang Y, Wu X, Piperine improves levodopa availability in the 6-OHDA-lesioned rat model of Parkinson's disease by suppressing gut bacterial tyrosine decarboxylase. *CNS Neurosci Ther* 30 (2024) e14383.
- [21] Mori A, Kabuto H, Pei YQ, Effects of piperine on convulsions and on brain serotonin and catecholamine levels in E1 mice. *Neurochem Res* 10 (1985) 1269-1275.
- [22] Pradeepa BR, Vijayakumar TM, Dhivya LS, Manikandan K, *In-silico* comparison of cytochrome P450 inhibitory and dopaminergic activity of piperine, curcumin and capsaicin. *Nat Prod Res* 37 (2023) 2888-2893.
- [23] Azam S, Park JY, Kim IS, Choi DK, Piperine and Its Metabolite's Pharmacology in Neurodegenerative and Neurological Diseases. *Biomedicines* 10 (2022) 154.
- [24] Al-Baghdadi OB, Prater NI, Van der Schyf CJ, Geldenhuys WJ, Inhibition of monoamine oxidase by derivatives of piperine, an alkaloid from the pepper plant *Piper nigrum*, for possible use in Parkinson's disease. *Bioorg Med Chem Lett* 22 (2012) 7183-7188.
- [25] Domino EF, History of modern psychopharmacology: a personal view with an emphasis on antidepressants. *Psychosom Med* 61 (1999) 591-598.

Research paper

Evaluation of the effect of piperine on the expression of morphine-induced conditioned place preference in male mice: Possible role of dopamine receptors

Ali Rezaei¹, Ghader Najafi^{1*}, Saeid Abbasi Maleki^{2,3}*1. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran**2. Pharmaceutical Sciences Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran**3. Department of Pharmacology & Toxicology, School of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran*

Received: 16 August 2026

Accepted: 8 September 2026

Abstract

Background: Piperine, the main alkaloid of black pepper, increases brain dopamine release. Given the importance of dopaminergic pathways in opioid-induced reward behaviors, this study aimed to investigate the effect of piperine on the expression of morphine-induced conditioned place preference (CPP) and the role of dopamine D₁ and D₂ receptors.

Methods: Male NMRI mice were evaluated in a 6-day protocol consisting of pre-conditioning, conditioning, and post-conditioning phases. After determining the effective dose of morphine in inducing CPP, the effects of piperine (10, 20, and 40 mg/kg) alone and in combination with morphine were assessed. Locomotor activity and exploratory behavior of the animals were also recorded in the open field test (OFT). To evaluate the dopaminergic mechanism, morphine-conditioned mice received a D₁ receptor antagonist (SCH-23390; 0.05 mg/kg) or a D₂ receptor antagonist (sulpiride; 5 mg/kg) 60 minutes prior to the administration of piperine (40 mg/kg).

Results: Morphine at doses of 5 and 10 mg/kg significantly induced CPP ($p < 0.001$; an increase of 1049.6% and 1140.8%, respectively). Piperine alone did not induce CPP or aversion (CPA) and did not cause locomotor changes in the OFT ($p > 0.05$). However, piperine (40 mg/kg) significantly potentiated the expression of morphine CPP by 51.6% ($p < 0.001$). Pretreatment with SCH-23390 and sulpiride significantly inhibited the potentiating effect of piperine ($p < 0.001$; a decrease of 154.7% and 142.3%, respectively).

Conclusion: Piperine administration alone did not induce significant CPP or CPA. However, acute piperine administration may enhance morphine-induced CPP. This effect is likely mediated, at least in part, through the involvement of dopaminergic pathways.

Keywords: Conditioned Place Preference, Dopaminergic, Mice, Morphine, Piperine

Please cite this article as follows:

Rezaei A, Najafi G, Abbasi Maleki S, Evaluation of the effect of piperine on the expression of morphine-induced conditioned place preference in male mice: Possible role of dopamine receptors. *Iran J Physiol Pharmacol* 10 (2026) 92-107.

*Corresponding authors Gh.Najafi@iau.ac.ir (ORCID: 0000-0002-6723-6240)